

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

На правах рукопису

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

Дисертація
на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук

Науковий керівник
ГОДОВАН Владлена Володимирівна
д.мед.наук, професор

Одеса – 2015

ЗМІСТ

Перелік умовних позначень, символів, одиниць, скорочень і термінів ...	5
ВСТУП	6
РОЗДІЛ 1. СУЧАСНІ ПРОБЛЕМИ РАЦІОНАЛЬНОГО, ЕФЕКТИВНОГО І БЕЗПЕЧНОГО ЛІКУВАННЯ ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ ГЕПАТИТ С (огляд літератури)	12
1.1. Існуючі методи лікування хворих на хронічний гепатит С: їх переваги та недоліки	12
1.2. Аналіз відомих фармакогенетичних особливостей поліморфізму ферментів, які беруть участь у метаболізмі ксенобіотиків, у популяції здорових людей і хворих на хронічний гепатит С.....	20
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	39
2.1. Загальна характеристика досліджуваних груп.....	40
2.2. Молекулярно-генетичні методи дослідження	44
2.3. Оцінка якості життя хворих	48
2.4. Статистичні методи дослідження	49
РОЗДІЛ 3. АСОЦІАЦІЯ ПОЛІМОРФІЗМІВ ГЕНІВ <i>GSTs</i> ТА <i>CYP2E1</i> ІЗ РИЗИКОМ РОЗВИТКУ ТА ТЯЖКІСТЮ ПЕРЕБІГУ ХРОНІЧНОГО ГЕПАТИТУ С	50
3.1. Аналіз асоціації делеційних поліморфізмів генів <i>GSTT1</i> та <i>GSTM1</i> з ризиком розвитку ХГС	50
3.2. Аналіз асоціації <i>A313G</i> поліморфізму гена <i>GSTP1</i> із ризиком розвитку ХГС	53
3.3. Вплив поліморфізмів генів <i>GSTs</i> на тяжкість перебігу ХГС	56
3.3.1. Асоціація делеційних поліморфізмів генів <i>GSTT1</i> та <i>GSTM1</i> з тяжкістю перебігу ХГС.....	56

3.3.2. Асоціація поліморфізму <i>A313G</i> гена <i>GSTP1</i> із тяжкістю ХГС.....	67
3.4. Асоціація поліморфізму гена <i>CYP2E1</i> у 6-му інтроні з ризиком розвитку ХГС	72
3.5. Вплив поліморфізму гена <i>CYP2E1</i> у 6-му інтроні на тяжкість перебігу ХГС	74
РОЗДІЛ 4. ОЦІНКА ЕФЕКТИВНОСТІ ІНТЕРФЕРОНОТЕРАПІЇ ХВОРИХ НА ХГС ЗАЛЕЖНО ВІД ВИДУ ІНТЕРФЕРОНУ	81
4.1. Вірусологічна відповідь на пегінтерферонотерапію ХГС залежно від виду інтерферону.....	84
4.2. Біохімічна відповідь на пегінтерферонотерапію ХГС залежно від виду інтерферону	89
РОЗДІЛ 5. АНАЛІЗ ЕФЕКТИВНОСТІ ФАРМАКОТЕРАПІЇ ХВОРИХ НА ХГС ЗАЛЕЖНО ВІД ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНІВ ФЕРМЕНТІВ ДЕТОКСИКАЦІЇ КСЕНОБІОТИКІВ	94
5.1. Ефективність лікування ХГС за схемою пегінтерферон і рибавірин залежно від поліморфізму генів <i>GSTs</i>	94
5.1.1. Залежність ефективності пегінтерферонотерапії ХГС від делеційного поліморфізму генів <i>GSTT1</i> і <i>GSTM1</i> ...	94
5.1.2. Ефективність пегінтерферонотерапії ХГС залежно від <i>A313G</i> поліморфізму гена <i>GSTP1</i>	103
5.2. Ефективність фармакотерапії ХГС за схемою пегінтерферон + рибавірин залежно від поліморфізму гена <i>CYP2E1</i> у 6-му інтроні	110
5.3. Вплив поліморфізмів генів ферментів детоксикації ксенобіотиків на ефективність лікування ХГС за альтернативними схемами	114
5.3.1. Оцінка асоціації поліморфізму генів <i>GSTs</i> з ефективністю лікування ХГС за схемою аміксин + рибавірин .	115

5.3.2. Вплив поліморфізму гена <i>CYP2E1</i> у 6-му інтроні на ефективність лікування ХГС за схемою аміксин + рибавірин	121
5.3.3. Вплив поліморфізму генів <i>GSTs</i> на біохімічну відповідь при терапії ХГС легаленом	123
5.3.4. Вплив поліморфізму гена <i>CYP2E1</i> у 6-му інтроні на біохімічну відповідь при фармакотерапії ХГС легаленом	129
5.4. Оцінка якості життя хворих на ХГС залежно від генотипу хворих та схем фармакотерапії	131
РОЗДІЛ 6. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ	140
ВИСНОВКИ.....	157
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ	159
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	160

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ,
СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

BP – інтенсивність болю	ДНК – дезоксирибонуклеїнова кислота
CYP2E1 – цитохром 2E1	лота
GH – загальний стан здоров'я	ПЕГ – пегільований
GSH – глутатіон	ПЛР – полімеразна ланцюгова реакція
GST – глутатіон-S-трансфераза	ПОЛ – перекисне окиснення ліпідів
GSTM1 – глутатіон-S-трансфераза M1	PBB – рання вірусологічна відповідь
GSTP1 - глутатіон-S-трансфераза P1	РНК – рибонуклеїнова кислота
GSTT1 - глутатіон-S-трансфераза T1	СВВ – стійка вірусологічна відповідь
HBV – вірус гепатиту В	УВВ – уповільнена вірусологічна відповідь
HCV – вірус гепатиту С	ХГС – хронічний гепатит С
MH – психічне здоров'я	ЦНС – центральна нервова система
PEG-IFN – пегільований інтерферон	ШВВ – швидка вірусологічна відповідь
PF – фізичне функціонування	ЯЖ – якість життя
RBV – рибавірин	
RE – рольове функціонування	
RP – рольове функціонування, обумовлене фізичним станом	
SF – соціальне функціонування	
VT – життєва активність	
АлАТ – аланінамінотрансфераза	
АОС – антиоксидантна система	
АсАТ – аспартатамінотрансфераза	
АФК – активні форми кисню	
ВВ – відсутність вірусологічної відповіді	

ВСТУП

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 [1-3]. 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 % [4-6], проте її використання ускладнюється розвитком серйозних небажаних ефектів, наявністю протипоказань, високою вартістю препаратів [7-10]. 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 [11-12]. Іншим альтернативним методом лікування ХГС є використання індукторів інтерферону, наприклад, тилорону (аміксину) з аналогами нуклеозидів [13-15]. Його перевагою є тривале підтримання терапевтичної концентрації інтерферонів у сироватці крові. Ефективність альтернативних методів лікування, також як і стандартної схеми терапії, істотно варіює [14, 16].

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 [7, 11,

17]. З іншого боку, на тяжкість перебігу та ефективність лікування захворювання впливають індивідуальні особливості пацієнта (генетичні, статеві, вікові, супутня патологія тощо) [18-20].

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 [5, 19]. 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 [21-23]. У реакціях за участю основного ферменту I фази біотрансформації CYP2E1 утворюються активні форми кисню, які можуть викликати ПОЛ, пошкоджувати ДНК, стимулювати канцерогенез [24-26]. Важливу роль у захисті клітин печінки від оксидативного стресу, який є однією з основних патогенетичних ланок в розвитку ХГС, відіграють і ферменти II фази – глутатіон-S-трансферази (GSTs) [27, 28]. Роль поліморфізмів найбільш вивчених генів *GSTT1*, *GSTM1* і *GSTP1* встановлена при різних захворюваннях печінки [29, 30]. Проте ці дані варіюють у різних етнічних популяціях [23, 31, 32]. У літературі немає і відомостей про їх зв'язок з клінічною картиною ХГС та результативністю його лікування. Тому оптимізації фармакотерапії, підвищення 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. Дисертаційна робота 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 задачі дослідження. Метою даного дослідження є підвищення ефективності, безпечності лікування та якості життя хворих на хронічний гепатит С на підставі визначення асоціації поліморфізму генів *CYP2E1*, *GSTT1*, *GSTM1*, *GSTP1* і особливостей перебігу хвороби та її фармакотерапії.

Для досягнення зазначеної мети розв'язувалися такі задачі:

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 *CYP2E1* та *GSTs*.

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 поліморфізму генів ферментів детоксикації ксенобіотиків з ефективністю альтернативних методів лікування ХГС аміксином і 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, біохімічні, клініко-інструментальні, статистичні.

Наукова новизна одержаних результатів. У дослідженні вперше вста-

новлено 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* гену *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 гену *GSTP1* та поліморфізму *CYP2E1*6*. Показано, що виявлення в генотипі мутантного алелю *G* гена *GSTP1* (генотипи *AG* і *GG*) або мутантного алелю *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 обґрунтована 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 1 інформаційний лист МОЗ України, подано 1 нововведен-

ня у Реєстр галузевих нововведень 2014 р.

Результати дослідження впроваджено у навчальний процес кафедр клінічної фармакології та фармакотерапії Луганського державного медичного університету; експериментальної та клінічної фармакології з клінічною імунологією та алергологією ВНМЗ України «Української медичної стоматологічної академії»; фармакології, клінічної фармакології та фармакоєкономії 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 наукової літератури 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 (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 «ХІ 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 індексованих журналах, що входять до міжнародних наукометричних баз, 2 – у зарубіжних журналах), 1 інформаційний лист МОЗ України, 19 тез 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.

РОЗДІЛ 1
СУЧАСНІ ПРОБЛЕМИ РАЦІОНАЛЬНОГО, ЕФЕКТИВНОГО
І БЕЗПЕЧНОГО ЛІКУВАННЯ ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ ГЕПАТИТ С
(огляд літератури)

1.1. Існуючі методи лікування хворих на хронічний гепатит С:
їх переваги та недоліки

ХГС – це соціально значима інфекція. У Західній Європі та США приблизно 1-2 % всього населення (а у всьому світі – приблизно 170 млн осіб) хворіють на ХГС. Хронізація процесу і розвиток ХГС спостерігається у 80 % інфікованих вірусом. Протягом 20-30 років у 20-30 % хворих розвивається цироз печінки і у 1-5 % гепатокарцинома. В США ХГС – основна причина трансплантації печінки [33]. Тому мета лікування хворих на ХГС, в першу чергу, полягає в поліпшенні якості життя і виживання пацієнтів через запобігання прогресування в цироз, розвитку гепатоцелюлярної карциноми.

Стратегію лікування ХГС відносять до складних і до кінця не вирішених питань гепатології [10, 19, 33, 34]. Зважаючи на сучасні погляди щодо етіології та патогенезу захворювання, лікування повинно бути комплексним, перманентним і довготривалим [6]. Основним принципом фармакотерапії ХГС вважають ліквідацію етіологічного чинника, тобто елімінацію вірусу гепатиту С та корекція патологічних змін у системах органів, які виникли внаслідок захворювання [6, 35].

Сучасним стандартом лікування ХГС є комбінація пегільованого (ПЕГ) альфа-інтерферону з аналогом нуклеозидів рибавірином (PEG-IFN/RBV) [6, 35-37]. Пегінтерферон – це інтерферон, який кон`югований з поліетиленгліколем, завдяки чому навколо молекули пегінтерферону формується «водна хмара», яка захищає інтерферон від швидкого руйнування. Структура пегінтерферону обумовлює клініко-фармакологічні характеристики препарату. Розмір і ступінь розгалуженості ПЕГ з молекулярною масою 40 кДа визначають фар-

макокінетичні особливості препарату. Інтерферони зв'язуються зі специфічними рецепторами на поверхні клітин, стимульовані інтерфероном гени модулюють багато біологічних ефектів, включаючи пригнічення вірусної реплікації в інфікованих клітинах, проліферації клітин та імуномодуляцію. У хворих на ХГС пегінтерферон прискорює виведення віріону та покращує результат вірусологічного контролю у відповідь на лікування порівняно з терапією стандартним альфа-інтерфероном. Результатом такої модифікації є зниження коливань рівня інтерферону в крові, більш тривале збереження ефективної концентрації і, відповідно, більш виразна протівірусна дія. Крім того, за рахунок більш тривалого періоду напіввиведення пегінтерферон вводиться 1 раз на тиждень на відміну від стандартного інтерферону, який застосовують 3 рази на тиждень, що негативно позначається на якості життя пацієнтів і призводить до збільшення частоти побічних реакцій у місці введення [10, 35, 38-41].

Для лікування ХГС використовують два види інтерферонів: пегінтерферон альфа-2а (Peginterferon alfa-2a) та пегінтерферон альфа-2b (Peginterferon alfa-2b) [42, 43]. Пегінтерферон альфа-2а утворюється при кон'югації ПЕГ (біс-монометоксиполіетиленгліколю) з інтерфероном альфа-2а, він виробляється біосинтетичним методом за технологією рекомбінантної ДНК і є похідним продуктом клонованого гена людського лейкоцитарного інтерферону, введеного і експресованого в клітинах *E.coli* [38, 39, 44]. Пегінтерферон альфа-2b – це ковалентний кон'югат рекомбінантного інтерферону альфа-2b та монометоксиполіетиленгліколю, який одержують із клону *E. coli*, містить генно-інженерний плазмідний гібрид, що кодує інтерферон альфа-2b людських лейкоцитів [38, 39, 44].

Рибавірин (Ribavirin) – синтетичний аналог нуклеозидів із широким спектром протівірусної активності проти ДНК- та РНК-вірусів [45, 46]. Цей препарат блокує вірусну відповідь за допомогою гальмування покриву вірусної матричної РНК (mRNA) та блокування передачі генетичної інформації. Ця реакція присутня у відповіді більшості вірусів. Механізм дії також пов'язаний зі структурною схожістю рибавірину до природного нуклеозиду гуанозину. Піс-

ля фосфорилування в рибавіринтрифосфат, найактивнішу біологічну форму, молекула може впливати на вірусні ферменти, пов'язані з синтезом білків (РНК-полімераза та ін.) [45]. Механізм дії рибавірину у комбінації з інтерфероном альфа проти вірусу гепатиту С не відомий. Результати клінічних досліджень показали, що монотерапія рибавірином не впливає на елімінацію вірусу гепатиту (РНК HCV) або на покращення гістології печінки після 6-12 міс лікування та протягом наступних 6 міс спостереження [45]. Комбінована терапія рибавірином та інтерфероном альфа виявила ефективність та безпечність у лікуванні хворих на ХГС із синергічним терапевтичним ефектом [44-46].

Фактори, які впливають на ефективність даної фармакотерапії. Показником ефективності терапії ХГС за схемою пегінтерферон і рибавірин є стійка вірусологічна відповідь (СВВ) - відсутність детекції РНК вірусу через 24 тижня після закінчення лікування та нормалізація гістологічних змін у печінці [5, 6, 35]. Вважається, що 99 % пацієнтів, які досягли СВВ, повністю виліковні [5, 47-49]. СВВ при застосуванні цієї схеми лікування досягається тільки у 56-63 % хворих [5, 6, 40, 41]. Багато робіт присвячено дослідженню ефективності лікування ХГС з урахування виду інтерферону. А саме вважається, що комбінація ПЕГ-інтерферону альфа-2а з рибавірином є більш ефективною, тобто у більшого відсотка хворих спостерігається СВВ, ніж при використанні ПЕГ-інтерферону альфа-2b у комбінації з рибавірином [10, 45, 50, 51]. Проте, в літературі зустрічаються повідомлення про відсутність такої закономірності [7, 52].

Ефективність лікування за даною схемою значною мірою залежить від особливостей вірусу (генотипу вірусу [6, 53-57], вірусного навантаження [58], швидкості вірусної відповіді [18, 59, 60]) та особливостей пацієнта (вік [61, 62], стать [63], імунний статус [64, 65], група крові [66], шкідливі звички [64, 65] тощо).

HCV характеризується високою гетерогенністю. Відомо сім генотипів та велику кількість підтипів цього вірусу [6, 34]. Найбільш поширений у світі це генотип 1 [34]. У Європі найбільш розповсюджено підтип 1b, у США – підтип 1a. Генотипи 3а та 4 широко поширені у європейців, особливо у ін'єкційних

наркоманів [34]. Генотип 2 більш характерний для Середземноморських регіонів. Генотипи 5 та 6 – рідкісні у Європі [67]. Генотип 7 діагностовано у пацієнтів Канади та Бельгії, які, можливо, були інфіковані у Центральній Африці [68]. Ідентифікація генотипів і підтипів HCV має велике значення у визначенні тривалості протівірусної терапії та є дуже важливим предиктивним фактором перебігу хвороби та результатів лікування [6, 35, 53].

Пацієнти, які інфіковані вірусом з генотипом 1b, досягають СВВ у 40 % для мешканців Північної Америки та 50 % для європейців. Також у пацієнтів, інфікованих вірусом з генотипом 1b, спостерігається більш тяжкий перебіг захворювання, ніж у пацієнтів, інфікованих вірусом з генотипом 3a [53]. Тоді як частота СВВ значно вища у пацієнтів, які інфіковані вірусами з генотипами 2, 3, 5, 6 (до 80 %). Пацієнти, інфіковані вірусом з генотипом 4, показують подібні результати лікування до пацієнтів, інфікованих вірусом з генотипом 1b [6, 54-57].

Чимале прогностичне значення має вірусне навантаження до початку лікування. Так, у пацієнтів з високим вірусним навантаженням (>800 000 МО/мл) через 48 тижнів лікування СВВ досягають 46 % хворих, а пацієнти з низьким вірусним навантаженням (<800 000 МО/мл) до лікування, через 48 тижнів інтерферонотерапії досягають СВВ 61 % хворих [58].

Також, велике значення має вірусологічна відповідь при інтерферонотерапії. У пацієнтів, які досягли швидку вірусологічну відповідь (ШВВ) – відсутність РНК вірусу через 4 тижні лікування або ранню вірусологічну відповідь (РВВ) – відсутність РНК вірусу через 12 тижнів лікування, СВВ досягається значно частіше, ніж у пацієнтів, які досягли уповільнену вірусологічну відповідь (УВВ) – відсутність РНК вірусу через 24 тижня лікування та відсутність відповіді (ВВ) – безперервну вірусемію [47, 48, 69]. Кілька досліджень також вказують на високий рівень СВВ (76-89 % для інфікованих вірусом з генотипом 1, і 80-98 % для інфікованих вірусом з генотипами 2 і 3) у пацієнтів, які досягли ШВВ та РВВ, навіть при скороченні тривалості терапії [18, 59]. Деякі автори стверджують, що є доцільним навіть скоротити тривалість інтерферо-

нотерапії (від 24 до 16 тижнів) для пацієнтів, які отримали ШВВ або РВВ, та у яких було низьке вірусологічне навантаження до лікування [6, 60].

На результати лікування ХГС також впливають особливості пацієнта. Наприклад, прогностично несприятливі фактори перебігу даної патології є: чоловіча стать [63], похилий вік [61, 62], надмірна вага [69], резистентність до інсуліну, діабет, стеатогепатоз, вживання алкоголю та наркотиків [64, 65], паління [41]. Не перша група крові корелює з тяжкістю фіброзу печінки [66]. Тоді як деякі фактори навколишнього середовища, навпаки, сприяють більш швидкому одужанню та уповільненню розвитку фіброзу печінки, наприклад, споживання кави пов'язують з більш низькою запальною активністю, менш виразним фіброзом печінки та зниженням ризику розвитку гепатоцелюлярної карциноми [70, 71].

Також є повідомлення щодо різної відповіді на лікування за схемою ПЕГ-інтерферон альфа з рибавірином у представників різних етнічних груп. Так, у корейців спостерігаються кращі результати лікування порівняно з європейцями [72]. Тоді як афроамериканці більш резистентні до інтерферонотерапії, ніж європейці [73]. Не виключна роль генетичних особливостей імунної системи, ферментативних систем хворих [19, 74].

Небажані ефекти інтерферонотерапії. Лікування ПЕГ-інтерферону альфа з рибавірином часто супроводжується розвитком побічних реакцій, які поділяють на ранні (грипоподібні симптоми, зниження апетиту, тромбоцитопенія тощо) та пізні (зниження маси тіла, порушення функції ЦНС, депресивні стани, лейкопенія, аутоімунні реакції, гіпо- і гіпертиреозидизм та ін.) [75-78]. Тому існує багато протипоказань до застосування інтерферонотерапії: клінічно значима супутня патологія (пухлини, нестабільна стенокардія, тяжке обструктивне захворювання легень), психічні захворювання, депресивні стани в анамнезі, клінічно некомпенсоване захворювання печінки, аутоімунні захворювання, вагітність, неможливість регулярного медичного контролю та ін. [77, 78]. За даними літератури, приблизно у 17 % хворих на ХГС американців є хоча б одне протипоказання до проведення інтерферонотерапії [78, 79].

Таким чином, у даній схемі лікування ХГС є як переваги, так ряд серйозних недоліків. До переваг інтерферонотерапії можна віднести такі, як можливість досягнення стійкої вірусологічної відповіді, певна тривалість лікування, відсутність резистентності вірусу тощо; до недоліків – помірنا противірусна активність, підшкірний шлях введення, можливість розвитку і непередбаченість серйозних небажаних ефектів, наявність достатньої кількості протипоказань, висока вартість препаратів та ін. Останнє є немаловажливим фактором. Для запобігання рецидиву при призначенні як інтерферонотерапії, так і аналогів нуклеозидів обов'язково необхідно враховувати матеріальні можливості пацієнта на весь період лікування. До недоліків аналогів нуклеозидів відносять невизначену тривалість лікування, ризик резистентності, низьку частоту сероконверсії. Проте є і переваги: виразна противірусна активність, відносно добра переносимість, пероральний прийом.

У випадках неможливості застосування або неефективності стандартної схеми лікування застосовують *альтернативні методи*, до яких відносять препарати індукторів інтерферону у комбінації з аналогами нуклеозидів, а також гепатопротектори (разом з інтерферонотерапією або замість неї) [79-83].

Для лікування ХГС використовують індуктори інтерферону природного і синтетичного походження [13, 79, 80]. Вони стимулюють синтез організмом власних інтерферонів. При цьому їх утворення перебуває під контролем інтерлейкінів і не досягає рівня, здатного шкідливо впливати на організм. Аміксин - низькомолекулярний синтетичний індуктор інтерферону ароматичного ряду, що відносять до класу флуоренонів. Механізм дії препарату включає 3 напрямки: індукцію інтерферону, імуномодуляцію і противірусну дію. Він стимулює утворення в організмі інтерферонів I (α , β) і II (γ) типів. Основними клітинами, що продукують інтерферон у відповідь на введення аміксину, є клітини епітелію кишечника, гепатоцити, Т-лімфоцити, нейтрофіли і гранулоцити. Аміксин стимулює синтез ендогенного інтерферону з максимальною продукцією через 4-24 год, що забезпечує швидкий лікувальний і профілактичний ефект. Найважливішою особливістю аміксину є його здатність стимулювати вироблення пі-

знього інтерферону і підтримувати терапевтичні концентрації сироваткового інтерферону в крові протягом тривалого часу, що перешкоджає розвитку вірусної інфекції [13, 16, 80]. Порівняльне дослідження ефективності використання альфа-інтерферону і аміксину для лікування хронічних гепатитів В та С свідчило про більшу ефективність альфа-інтерферону. Проте реєструвалась відсутність ДНК вірусу гепатиту В безпосередньо після завершення курсу терапії майже з однаковою частотою при використанні обох схем лікування. Також аміксин істотно зменшував диспептичні порушення у хворих на хронічні гепатити В і С, сприяв нормалізації мікрофлори кишечника [15]. Інші клінічні дослідження аміксину також показали високу ефективність даного препарату [16]. В результаті проведеної терапії аміксином у хворих на вірусні гепатити спостерігалась позитивна динаміка клінічних та біохімічних показників порівняно з хворими, скорочувалась тривалість жовтушного періоду та інтоксикації, швидше відновлювалися розміри печінки. Спостерігалась позитивна динаміка трансаміназ, більш виражене зниження загального білірубіну в плазмі крові [16]. Застосування аміксину приводило до різкого пригнічення вірусної реплікації, що, в свою чергу, зменшувало ймовірність переходу захворювання в хронічну форму [15, 16]. Крім аміксину, повідомляється про застосування таких індукторів інтерферону як неовір для лікування ХГС [80].

До гепатопротекторних препаратів відносять групу лікарських засобів з різними механізмами дії, спрямованими на відновлення функціональної активності печінки, потенціювання репаративно-регенеративних процесів, підвищення стійкості до патогенних факторів [81, 84]. Одним з гепатопротекторів, який застосовується при лікуванні ХГС є силімарин - екстракт з насіння розторопші плямистої (*Silybum marianum*) [84]. Здатність силімарину зв'язувати вільні радикали забезпечує його антиоксидантну активність. Таким чином, переривається чи запобігається процес ПОЛ. В ушкоджених гепатоцитах силімарин стимулює синтез білка та нормалізує метаболізм фосфоліпідів, внаслідок чого він стабілізує клітинні мембрани та обмежує або запобігає втраті розчинних компонентів (зокрема трансаміназ) клітин печінки. Силімарин гальмує

проникнення у клітину деяких гепатотоксичних речовин (отрути блідої поганки). Він посилює синтез білків за рахунок специфічної стимуляції РНК-полімерази А. Це приводить до підвищеного утворення рибосомних РНК, і отже, до стимуляції синтезу структурних і функціональних білків. У результаті чого покращується відновна здатність і прискорюється регенерація клітин печінки. Потрапляючи до організму, силімарин активує процеси детоксикації в печінці, підвищує активність низки ферментів, які беруть участь у біотрансформації ксенобіотиків [84, 85].

Основний компонент силімарину – силібінін (суміш двох діастереоізомерів силібіну А і В), який має активність проти HCV. Цей лікарський засіб впливає на вірус гепатиту С на двох різних рівнях: інгібує реплікацію HCV в культурі клітин і здійснює протизапальну, імуномодельюючу та антиоксидантну дію [11, 83, 84, 86].

Слід зауважити, що дані стосовно впливу цього препарату на рівень вірусного навантаження у крові, біохімічну відповідь (активність аланінамінотрансфераз (АлАТ) та аспартатамінотрансфераз (АсАТ) у сироватці крові) суперечливі. Наприклад, дослідження, що проведено у Єгипті свідчить про позитивний вплив силімарину на якість життя хворих, тоді як впливу на біохімічні показники крові (АлАТ та АсАТ) не було виявлено [86]. Інші роботи вказують на позитивну динаміку активності ферментів цитолізу у сироватці крові при використанні цього препарату [87, 88]. Є повідомлення про регресію фіброзу печінки при використанні екстракту розторопші плямистої, а також про інгібування гена корового білка вірусу з генотипом 3а [83, 84]. Силімарин запобігає проникненню вірусу в клітини хазяїна при ХГС [85]. Проте в деяких дослідженнях взагалі не знайдено позитивного впливу розторопші на терапію ХГС та гепатитів іншої етіології [89]. Однією з ймовірних причин, чому деякі клінічні дослідження, що стосуються прийому силімарину, не увінчалися успіхом це низька біодоступність компонентів препарату [90]. Оскільки силібінін швидко метаболізується після перорального прийому, проведено клінічні дослідження з водорозчинною формою силібіну для внутрішньовенної ін'єкції

(Legalon® SIL) [86]. У цьому випадку, монотерапія силібініном показала істотну противірусну дію у пацієнтів з ХГС, які не відповідали на стандартну пегінтерферонотерапію [90]. Описано випадки СВВ після лікування силібініном для внутрішньовенних ін'єкцій у пацієнтів з поєднанням ХГС та ВІЛ, які не реагували на стандартну терапію гепатиту [91].

За даними літератури, 33 % хворих на ХГС лікуються за допомогою екстракту розторопші плямистої [92]. На ринку України є багато лікарських форм, що містять силімарин, але серед них тільки препарат «Легалон» («Madaus», Німеччина) містить найбільшу кількість силібініну (до 80 %) з найбільшою гепатопротективною активністю [15].

У альтернативних методів є також переваги (достатньо низька вартість, добра переносимість, передбачені небажані ефекти, пероральний шлях застосування та ін.) і недоліки (недоведена багатоцентровими клінічними дослідженнями противірусна активність, тривалий прийом тощо).

Таким чином, не дивлячись на досягнення у фармакотерапії ХГС, є об'єктивні фактори, які спрямовані на розробку індивідуального підходу до медикаментозного лікування таких хворих. Це можливо тільки за допомогою аналізу сукупності біохімічних та фармакогенетичних методів дослідження, які забезпечують персоналізацію медицини.

1.2. Аналіз відомих фармакогенетичних особливостей поліморфізму ферментів, які беруть участь у метаболізмі ксенобіотиків, у популяції здорових людей і хворих на хронічний гепатит С

У 90-ті роки минулого сторіччя настав еволюційно новий етап у підходах до фармакотерапії – доказової медицини. Його принциповою відмінністю від попередніх є науково і клінічно доведені ефективність і безпека, і, найголовніше, довгострокове прогнозування впливу фармакотерапії на якість життя пацієнта [93]. Практика доказової медицини тісно переплітається з клінічною фармакологією і передбачає при призначенні раціональної фармакотерапії

конкретному хворому поєднання індивідуального клінічного досвіду та оптимальних доказів, отриманих шляхом систематизованих досліджень. У цьому аспекті все більшого значення набуває такий розділ клінічної фармакології як клінічна фармакогенетика, яка вивчає генетичні особливості пацієнта, що впливають на формування індивідуальної фармакологічної відповіді [94]. Так, уже встановленим є факт того, що генетичні особливості пацієнтів можуть визначати до 50 % всіх небажаних реакцій, аж до неефективності ліків [94, 95]. Таким чином, розуміння фармакогенетичної детермінованості ефективності та безпеки лікарських засобів дозволяє персоналізовано підійти до вибору препаратів, режиму їх дозування або взагалі змінити тактику лікування пацієнтів [95]. Крім того, застосування фармакогенетичних тестів при призначенні фармакотерапії дозволяє значно знизити витрати на лікування.

В патогенезі ХГС провідну роль відіграє оксидативний стрес [96-98]. Це процес накопичування в клітині токсичних активних форм кисню (АФК) і активних форм нітрогену. Він є наслідком дисбалансу між прооксидантними і антиоксидантними системами організму [99, 100]. Більшість АФК утворюються в клітині постійно при нормальному метаболізмі, але на низькому рівні [101-103]. Активні форми кисню відіграють важливу роль в сигнальних шляхах клітини, пов'язаних із регуляцією активності цитокінів, факторів росту, гормонів, транспорту іонів, імуномодуляції і апоптозу [104, 105]. Зокрема, вони відіграють фундаментальну роль у нормальному функціонуванні імунної системи і проліферації Т-клітин та імунологічного захисту [106, 107].

При оксидативному стресі АФК здатні пошкоджувати макромолекули, включаючи білки, ліпіди, ядерну і мітохондріальну ДНК. Це часто призводить до продукції ще більшої кількості АФК, продуктів ПОЛ. Кінцевим результатом цього каскаду процесів може бути дисфункція клітин і/або загибель клітин. Оксидативний стрес – універсальний патогенетичний механізм при багатьох захворюваннях людини, у тому числі при різних формах гепатитів і цирозі печінки [108].

За даними S. Pal et al. (2010), у клітинах печінки людини, які інфіковані HCV, рівень АФК підвищується в 30-60 разів порівняно із неінфікованими клітинами [109]. В гепатоцитах інфікованих HCV пошкоджується ДНК і утворюються оксиди нітрогенних основ – 8-оксигуанін (8-о_{ху}-G), 5-гідроксицитозин (5 - hydroxycytosine (5-ОНС), 8-гідрокси-2'-деоксигуанозин (8-ОНdG) тощо [110]. У плазмі крові хворих на ХГС і тканині печінки спостерігається підвищення рівня продуктів ПОЛ – 8-ізопростану [111], малонового діальдегіду (МДА) [112, 113]. Рівень оксидів нітрогенних основ і продуктів ПОЛ корелює із активністю трансаміназ сироватки крові хворих, ступенем гістологічної активності, феритином сироватки крові, кількістю заліза в тканині печінки [110]. Пацієнти з меншим рівнем цих сполук мають кращі результати терапії за схемою пегінтерфероном-альфа + рибавірин (PEG-IFN/RBV) [110]. Після лікування хворих за даною схемою рівень МДА і антиоксидантів відновлюється. Інтерферон і рибавірин не мають антиоксидантної активності, але знижують вірусне навантаження і вірус-індукований оксидативний стрес [113].

Одночасно з підвищенням АФК у хворих на ХГС спостерігається активізація антиоксидантної системи (АОС). Так підвищується рівень таких складових АОС як тіоредоксин, супероксиддисмутаза, глутатіонпероксидаза [114]. Хворі, які інфіковані вірусом з генотипом 1b, мають суттєво більшу активність супероксиддисмутази і глутатіонпероксидази. Активність ферментів корелює із рівнем АлАТ, сироваткового заліза і ступенем фіброзу печінки [115].

Підвищення активності ферментів АОС – це захисні реакції організму. Але при тривалому процесі у хворих на ХГС може спостерігатися виснаження антиоксидантного захисту і зниження рівня відповідних ферментів. Наприклад, у хворих на ХГС знижується активність глутатіонпероксидази в еритроцитах і рівня селену [116]. Найбільші зміни спостерігають при генотипі 1b вірусу і високій активності трансаміназ. Є позитивна кореляція між зниженням цих антиоксидантів і тривалістю захворювання, а також індексом гістологічної активності і ступенем фіброзу печінки [116].

Проявами оксидативного стресу при ХГС є також виявлення у плазмі крові речовин, які пошкоджують хромосоми – так званих кластогенних факторів. До них відносять продукти ПОЛ, цитокіни та інші оксиданти. Кластогенні фактори сприяють розвитку фіброзу печінки і розвитку гепатокарциноми у хворих на ХГС [117].

Антиоксидантна терапія нормалізує кластогенні ефекти й активність амінотрансфераз, але не впливає на рівень вірусного навантаження. Порівняння результатів 3-х місячної терапії тільки інтерферонами або антиоксидантами однаково впливало на рівень амінотрансфераз, але нормалізацію кластогенного ефекту встановили тільки при терапії антиоксидантами [118].

Оксидативний стрес при ХГС може виникати внаслідок хронічного запалення, накопичення заліза, пошкодження печінки і дії білків самого вірусу [97, 119-121]. Білки вірусу викликають в інфікованих клітинах оксидативний стрес за декількома незалежними механізмами. Коровий білок HCV (структурний білок С – основний білок вірусного капсиду) і протеїн NS5A (регуляторний фосфоліпопротеїн, який входить до складу реплікаційного комплексу HCV), викликають в інфікованих клітинах підвищення Ca^{2+} -залежної продукції активних форм кисню в мітохондріях і активних форм нітрогену [122-125]. Другий шлях – в клітинах, які мають реплікон HCV, відбувається індукція NADPH-оксидази 4 (NOX-4) – білка, який локалізовано на ендоплазматичному ретикулуму і ядерній мембрані. Білок утворює супероксид-аніон при перенесенні електрона з NADPH на кисень [126, 127]. Третій шлях активації оксидативного стресу вірусом гепатиту С – так званий, стрес ендоплазматичного ретикулуму. Білки вірусу синтезуються на ендоплазматичному ретикулумі та індукують оксидоредуктази цієї структури, які продукують АФК [119, 122, 128, 129]. Акумуляція АФК в інфікованих вірусом гепатиту С клітинах викликає активацію фактора Nf-кВ, експресію білка Cox-2, фактора транскрипції STAT-3, активність яких пов'язана з запаленням, проліферацією клітин, клітинним ростом, диференціацією клітин, апоптозом, ангиогенезом і канцерогенезом [130-133].

Наслідком оксидативного стресу при ХГС є прогресування захворювання, розвиток фіброзу печінки [122, 134], формування гепатокарциноми [135-137], розвиток стійкості клітин до інсуліну [138], α -інтерферону [139], порушення метаболізму заліза в гепатоцитах [140, 141].

Із розвитком оксидативного стресу при ХГС пов'язують відсутність ефекту від терапії інтерфероном/рибавірином [103, 113, 142]. Таким чином, зменшення інтенсивності оксидативного стресу в гепатоцитах може позитивно впливати на результати лікування хворих на ХГС.

Важлива роль у захисті клітин від АФК, які накопичуються при оксидативному стресі, належить АОС організму. Відновлений глутатіон (GSH) є важливим елементом ендogenous антиоксидантного захисту, що запобігає накопиченню вільних радикалів у клітинах шляхом трансформації GSH в димерний окиснений глутатіон під дією ферменту глутатіонпероксидази [143]. Пізніше окислений глутатіон перетворюється у відновлений глутатіон за допомогою ферменту глутатіонредуктази.

Встановлено, що при ХГС прискорюється обіг глутатіону [144]. У хворих на ХГС суттєво знижується рівень відновленого глутатіону в тканині печінки, крові і лімфатичній системі, особливо при генотипі 1b вірусу. Одночасно підвищується рівень окисненого глутатіону і глутатіондисульфїду, що свідчить про підвищений рівень реакцій за участю глутатіону [134].

Таким чином, в метаболізмі АФК важливу роль відіграють ферменти I та II фази метаболізму ксенобіотиків. При ХГС внаслідок оксидативного стресу активуються фактори транскрипції Nrf1 і Nrf2. Вони, в свою чергу, активують групу ARE-залежних генів (від англ. AREs – antioxidant response elements) [145-148]. До ARE-залежних генів відносять ферменти II фази метаболізму ксенобіотиків і у тому числі глутатіон-S-трансферази (GST). В експериментах на мишах показано, що фактор транскрипції Nrf2 активує експресію GSTA1, GSTA2, GSTM1, GSTM2 та інших ізоформ цих ферментів [149-151].

Процес біотрансформації ксенобіотиків має три послідовні фази – I, II та III [152]. Фаза I здійснюється ферментами родини цитохромів P450. Вони ме-

таболізують ксенобіотики з утворенням короткоживучих проміжних метаболітів, які часто мають токсичні властивості. Фаза II - нейтралізація метаболітів I фази. Ферменти II фази присутні у всіх клітинах і здійснюють або завершують процес детоксикації. До них відносять GST, N-ацетилтрансферази, глюкуронозилтрансферази, мікросомальна епоксидгідролаза та ін., які перетворюють токсичні проміжні продукти метаболізму I фази в полярні водорозчинні нетоксичні сполуки, що виводяться з організму. Фаза III - виведення з організму продуктів детоксикації, яке забезпечується Р-глікопротеїном [152].

Ферменти I та II фази відомі як ферменти біотрансформації ксенобіотиків. Вони також залучені у метаболізм токсичних ендогенних сполук, які утворюються при оксидативному стресі [152].

Описано ізоформи всіх ферментів, які беруть участь у біотрансформації ксенобіотиків. Ізоформи відрізняються ферментативною активністю (підвищеною, зниженою або втраченою), що пов'язано з поліморфізмами відповідних генів. Генні поліморфізми включають: а) точкові мутації, що обумовлюють амінокислотні заміни у відповідних ферментах і внаслідок цього змінюють їх каталітичну активність, ферментативну стабільність і/або субстратну специфічність; б) дуплікації генів, що визначають підвищений рівень ферментів в організмі; в) повні або часткові делеції, що обумовлює втрату генного продукту; г) мутації в некодуючих ділянках гена, які порушують сплайсінг і змінюють будову ферментів. Поліморфізми в регуляторних ділянках генів можуть посилювати або знижувати експресію генів і впливати на кількість відповідних ферментів [153].

Ізоформи ферментів, які виникають внаслідок генних поліморфізмів, забезпечують нормальне функціонування системи біотрансформації ксенобіотиків в природному середовищі існування людини, але можуть стати патологічними в інших, різко мінливих умовах (соматичні хвороби, інфекції, травма тощо), а також при контакті людей з продуктами виробничої діяльності. Це може пояснювати індивідуальні особливості у тяжкості перебігу захворювань людини, розвитку ускладнень і ефективності лікування.

CYP2E1 (етанол-індукований P-450) – фермент I фази метаболізму ксенобіотиків. Він залучений у метаболізмі багатьох лікарських засобів, гормонів, токсинів і ксенобіотиків [154]. Ген людини *CYP2E1* розташований на 10 хромосомі (10q26.3) і складається з 9 екзонів і 8 інтронів. Його довжина 11413 т.п.н. [152]. *CYP2E1* переважно синтезується у печінці [153]. В інших органах і тканинах, зокрема, нирках, підшлунковій залозі, головному мозку, легенях, слизовій оболонці носа і кишечника рівень експресії гена значно нижчий [24, 154]. На частку ферменту *CYP2E1* у печінці припадає 7 % від всієї фракції печінкових цитохром оксидаз [153]. Він має молекулярну масу 56,9 кДа і складається з 493 амінокислотних залишків. Фермент локалізовано в мембранах ендоплазматичного ретикулуму і належить до мікросомальної монооксигеназної системи метаболізму. Монооксигеназами називають ферменти, які приєднують один атом кисню до субстрату, а другий окислюється до води [155].

CYP2E1 бере участь у метаболізмі більш 80 низькомолекулярних гідрофобних токсичних сполук. Внаслідок окислювальних модифікацій ксенобіотики стають більш електрофільними і токсичними. Згодом вони метаболізуються ферментами II фази метаболізму ксенобіотиків [101, 156]. *CYP2E1* сприяє активації багатьох проканцерогенів і кількох лікарських препаратів до високо реактивних метаболітів [24, 157]. У печінці цитохром *CYP2E1* активує N-нітрозаміни, що містяться в тютюновому димі і харчових продуктах [158], а також кілька промислових [24] і ендогенних канцерогенів [159]. У реакціях за участю *CYP2E1* завжди утворюються АФК (супероксид, гідроксил радикал, гідропероксид), які можуть викликати ПОЛ, пошкоджувати ДНК, стимулювати канцерогенез [101, 153]. Електрофільні сполуки, які утворюються в реакціях I фази метаболізму ксенобіотиків, також здатні приєднуватися до структур клітини і пошкоджувати їх, а також здатні продукувати АФК. Підвищена експресія гена *CYP2E1* в печінці мишей і культурі клітин гепатоми викликає в клітинах оксидативний стрес без дії токсичних речовин [160, 161].

Індукований CYP2E1 оксидативний стрес – основний патогенетичний механізм токсичного ефекту етанолу і розвитку жирової дистрофії печінки алкогольної етіології [162, 163], а також неалкогольного стеатогепатиту [25].

Помірна жирова дистрофія печінки типова для ХГС, особливо викликаного вірусом 3 генотипу. Таким чином, CYP2E1 може мати значення в патогенезі вірусного гепатиту С [164].

Ген CYP2E1 відносять до індукованих, тобто його активність підвищується під дією різних ендогенних факторів (ожиріння, голодування, дисфункції печінки) і факторів навколишнього середовища [165-167]. Синтез CYP2E1 посилюється різними хімічними сполуками, зокрема, ацетоном, етанолом, піразолом, ізоніазидом [168]. Інші сполуки (ізотіоціанат, хлорметіазол і дисульфідрам) пригнічують активність CYP2E1 [169].

У рівні експресії гена CYP2E1, кількості мРНК і білка визначена індивідуальна мінливість [170], яка обумовлена поліморфізмами у гені цитохрому CYP2E1. В даний час описано більш 10 різних поліморфних сайтів в 5'-регуляторній ділянці гена і інтронах [171]. Поліморфізми, які підвищують активність *CYP2E*, можуть впливати на перебіг багатьох захворювань печінки. Один із найбільш вивчених одонуклеотидних поліморфізмів в 5'-регуляторній ділянці описано S. Hayashi та співавт. (1991) [172]. Це заміна С на Т в позиції -1019. При цьому зникають сайти рестрикції для двох рестриктаз - Rsa I і Rst1. Поліморфізм позначають *CYP2E1*5B*. Найчастіше цей поліморфізм визначають за допомогою рестриктази Rsa1. Алель дикого типу (с1) має сайт рестрикції для RsaI. В мутантному алелі сайт рестрикції відсутній. Його називають варіантом або рідкісним типом і позначають с2. Частота рідкісного алеля с2 становить 24-30 % в азіатських популяціях [173-175], 2-3 % у європейців [174-176], 0,3-7 % у афроамериканців [174-178], 15 % у американців мексиканського походження [177] і 18 % у населення Тайваню [179]. У гомозигот с2/с2 спостерігається 10-кратне збільшення транскрипції гена CYP2E1 [172, 180, 181] і відповідно більша кількість ферменту. У літературі є також дані про підвищену каталітичну активність (в 2 рази) ферменту, закодованому

алелем c2 [173, 176]. Але в інших роботах продемонстровано високу транскрипційну активність алеля c2 і низьку каталітичну активність відповідного ферменту [182, 183]. Можливо, суперечливі дані обумовлено наявністю інших поліморфізмів гена *CYP2E1*.

Функціональне значення поліморфізму *CYP2E1*5B* може бути пов'язано із його локалізацією у сайті, де приєднується печінковий фактор транскрипції HNF-1 [172, 178, 180].

Інший поліморфізм визначено у 6-му інтроні гена (*CYP2E1*6*). Це заміна Т на А у позиції 7632, що призводить до зникнення сайту рестрикції для рестриктази *DraI* [184]. Алель дикого типу позначають літерою *D*. Він має сайт рестрикції для відповідної рестриктази. Мутантний алель позначають *C*, сайт рестрикції відсутній. У популяції можливі 3 генотипи – *DD*, *DC*, *CC* [185, 186]. Мутантний алель асоційовано із підвищеною транскрипцією гена *CYP2E1* [154, 187]. Частота алеля *C* в популяціях афро-американців, європейців, у населення Тайваню і Японії була відповідно 8, 11, 24 і 31 % [170, 176, 183, 188, 189]. Таким чином, у індивідуумів, які мають в генотипі мутантні алелі c2 і *C*, спостерігається підвищена активність ферменту *CYP2E1* порівняно з індивідуумами, які є гомозиготами за алелями дикого типу. Підвищена активність ферменту може привести до більш швидкого метаболізму лікарських засобів і тим самим зменшенню їх фармакотерапевтичних ефектів. Водночас збільшується продукція токсичних метаболітів і канцерогенів, підвищується продукція АФК, які можуть пошкоджувати ДНК і структури гепатоцитів та інших клітин. Навпаки, зниження активності ферменту може потенційно призвести до зниження швидкості метаболізму терапевтичних засобів, до збільшення біодоступності і, можливо, токсичності [190].

Оскільки ген *CYP2E1* експресується переважно у печінці, то поліморфізми цього гена можуть мати значення у розвитку захворювань печінки різної етіології. Встановлено, що генотип c1/c1 асоційовано з підвищеним ризиком гепатотоксичності ізоніазиду при протитуберкульозній терапії порівняно з індивідуумами, які мають генотип c2/c2 у Тайвані [191, 192], Китаї і Кореї [193].

Результати метааналізу 12 досліджень, які включають 1552 хворих на гепатокарціному і 1763 здорових індивідуумів, продемонстрували, що алель *c2* (генотипи *c2/c2+c2/c1*) асоційовано з меншим ризиком розвитку гепатокарціноми в Східній Азії, особливо в Китаї. В Японії і Кореї асоціація була відсутня [194]. Інші автори не виявили таку асоціацію, але зазначили, що у людей з генотипом *c2/c2*, які зловживають алкоголем, підвищений ризик розвитку гепатокарціноми порівняно з тими, хто не вживає алкоголь і має генотип *c1/c1* [195].

CYP2E1 залучений у метаболізм етанолу. Більше того, етанол індукує синтез ферменту, тому поліморфізми гена асоційовано із ризиком розвитку алкогольної хвороби печінки. Таку асоціацію встановлено для генотипу *c2/c2* в азіатських і європейських популяціях. Для поліморфізму *CYP2E1* *Dra I* асоціація була відсутня [196]. Алель *c2* асоційовано також з більшим ризиком розвитку цирозу печінки алкогольної етіології, більш тяжким перебігом захворювання і вищою смертністю серед населення західної Мексики, Польщі та Індії [197-200]. Натомість інші автори не виявили асоціацію між алелем *c2* і ризиком розвитку цирозу печінки алкогольної етіології в азіатських і європейських популяціях [26]. Інші автори отримали протилежні результати. В обстеженій популяції Кореї частота алеля *c2* була суттєво вищою в контрольній групі, ніж у хворих на алкогольний цироз печінки і алкогольний панкреатит [201].

Фермент *CYP2E1* залучений у патогенез жирової дистрофії печінки і неалкогольного стеатогепатиту. Так, встановлено, що при цих захворюваннях підвищується експресія гена *CYP2E1*, що корелює з параметрами оксидативного стресу і підвищеним рівнем перекисного окиснення ліпідів [202]. Аналогічні результати отримано на мишиній моделі неалкогольного стеатогепатиту. Це вказує на важливу роль підвищеної активності *CYP2E1* в патогенезі неалкогольного статогепатиту [203].

У жінок з ожирінням і жировою дистрофією печінки, або з неалкогольним стеатогепатитом, спостерігається позитивна кореляція між *c2* алелем (поліморфізм *RsaI/PstI* гена *CYP2E1*) і ураженням печінки [204].

Встановлено асоціацію мутантного алелю *c2* і генотипу *c1/c2* (*CYP2E1*5B*) з підвищеним ризиком розвитку гепатиту, особливо алкогольної і криптогенної етіології в північній Індії. У хворих на гепатити алкогольної і криптогенної етіології і у хворих на вірусний гепатит А визначено також суттєво вищу частоту мутантного алелю *C* (*CYP2E1*6*) [205].

За даними інших авторів, алель *c2* асоційовано з підвищеним ризиком розвитку гепатиту В, а також гепатокарциноми, пов'язаної з гепатитом В. Алель *c2* також зв'язаний з більш високим індексом гістологічної активності при гепатиті В і значно вищим ризиком розвитку фіброзу печінки [206].

Дані літератури свідчать про можливий вплив активності *CYP2E1* на перебіг ХГС. Так, аналіз експресії генів I фази метаболізму ксенобіотиків в тканинах печінки пацієнтів з гепатокарциномою, пов'язаною з гепатитами С і В, продемонстрував підвищену експресію 4-х генів I фази метаболізму ксенобіотиків - *CYP2E1*, *AKR1C4*, *EPHX1*, і *FMO3* тільки у HCV-позитивних пацієнтів на відміну від HBV-позитивних. Це може свідчити про їх роль в активації канцерогенів при розвитку гепатокарциноми у вірус С-інфікованих на відміну від інфікованих вірусом В [207]. Аналогічні результати стосовно підвищеної експресії *CYP2E1* в клітинах гепатокарциноми, пов'язаної з ХГС, отримали й інші автори. Виявлена підвищена експресія гена *GSTP1* в клітинах гепатокарциноми порівняно з нераковими клітинами. Рівень інших GSTs не змінюється [208].

Проте в літературі відсутні дані стосовно частоти поліморфізмів гена *CYP2E1* у хворих на ХГС.

Приведені дані свідчать, що генетичні поліморфізми гена *CYP2E1*, які збільшують його експресію, асоційовано із підвищеним ризиком розвитку захворювань печінки різної етіології. Частоти алелів *c2* (поліморфізм *CYP2E1*5B*) і *C* (*CYP2E1*6*) істотно різняться в різних етнічних групах. Вони більш поширені в азіатських країнах, тому більшість робіт стосовно ролі поліморфізмів гена *CYP2E1* у патогенезі захворювань печінки опубліковано дослідниками із цих країн. Але і в європейських популяціях вони асоційовані із підвищеним ризиком певних патологій. У літературі відсутні дані стосовно частоти

ти поліморфізмів гена CYP2E1 в Одеському регіоні. Відсутні також дані про можливий вплив цих поліморфізмів на ризик розвитку ХГС, ефективність лікування та розвиток ускладнень [208].

Глутатіон-S-трансферази (GSTs) – це родина ферментів, які відіграють провідну роль у II фазі метаболізму ксенобіотиків шляхом приєднання до гідрофобних і електрофільних сполук залишку глутатіону [209]. GSTs беруть участь у детоксикації хімічних канцерогенів, токсичних речовин, цитостатиків, пестицидів, протипухлинних лікарських засобів та інших ксенобіотиків. Кон'югати ксенобіотиків з глутатіоном менш реактивні і більш гідрофільні і тому менш токсичні. Вони легко виводяться з організму ферментами III фази метаболізму ксенобіотиків. Крім того, GSTs здатні нековалентно зв'язувати різні гідрофобні сполуки і сильні електрофіли, які потім поступово інактивуються і виводяться із організму людини. На відміну від багатьох інших ферментів, які відрізняються специфічністю, ферменти II фази метаболізму ксенобіотиків здатні метаболізувати широке коло токсичних речовин і канцерогенів. Таким чином, GSTs захищають ДНК, мітохондрії та інші структури клітин від можливих пошкоджень [21].

Глутатіон-S-трансферази відіграють також важливу роль у захисті клітини від оксидативного стресу. Вони метаболізують ендogenousні токсичні сполуки (α,β -ненасичені альдегіди, хінони, епоксиди, гідроперикиси), які утворюються в клітині як вторинні метаболіти при оксидативному стресі [28, 210, 211]. Слід підкреслити, що зазвичай реакції з глутатіоном приводять до детоксикації, але іноді утворюються метаболіти з більшою токсичністю [21, 212].

Ферменти GSTs беруть також участь в метаболізмі багатьох ендogenousних сполук клітини, які регулюють проліферацію клітини, апоптоз та інші процеси. Прикладом таких ендogenousних сполук є 15-дезоксид- Δ -простагландин J₂ (15d-PGJ₂). Ця сполука діє шляхом приєднання до внутрішньоклітинних рецепторів або до факторів транскрипції, які важливі у відповіді клітини на стрес, у диференціації та проліферації клітини [213, 214]. Наприклад, 15d-PGJ₂ активує ре-

цептор PPAR γ . У печінці активація цього рецептора приводить до зменшення росту гепатоцелюлярної карциноми шляхом індукції апоптозу [215, 216].

GSTs (GSTA1, GSTM1 і GSTP1) каталізують кон'югацію PGJ₂ з глутатионом [27]. Цей кон'югат елімінується за допомогою MRP (Multidrug Resistance Protein). Встановлено, що 15d-PGJ₂ може індукувати синтез GSTP1 шляхом приєднання різних білків, включаючи c-jun до 5'-фланкуючого регіону гена *GSTP1*. З іншого боку, 15d-PGJ₂ здатний модифікувати GSTP1 і знижувати його активність [217]. Інші види GSTs (GSTM1, GSTA1) також здатні приєднуватися до 15d-PGJ₂ та інгібувати активацію рецепторів PPAR γ [218]. Здатність різних GSTs впливати на синтез або елімінацію 15d-PGJ₂ робить GSTs центральними регуляторами сигнальних шляхів клітини, пов'язаних із цією речовиною.

GSTP1 залучена також в регуляцію сигнальних шляхів клітини, пов'язаних із JNK [219]. JNKs - це родина протеїнкіназ, які активуються в клітині під дією ультрафіолетових, рентгенівських променів, температурному або осмотичному шоку або під впливом цитокінів запалення [220, 221]. Активована JNK фосфорилує фактори транскрипції c-Jun, ATF-2, p53, and ELK-1. Це приводить до синтезу білків, які мають пряме відношення до відповіді клітини на стресори завдяки активації клітинного циклу, репарації ДНК, апоптозу.

Дослідження, які провели V.Adler et al. (1999), на клітинах мишей показали, що в нормальних клітинах мишей, на які не діють стресори, GSTP1 інгібує JNK шляхом утворення комплексу GSTP-JNK [219]. Ступінь інгібування корелює із кількістю GSTP. Комплекс GSTP-JNK утворюють мономерні форми GSTP. Вплив різноманітних стресорів на клітину (наприклад, ультрафіолетові промені, H₂O₂) викликає утворення димерів або мультимерів GSTP. Це призводить до розпаду комплексів GSTP-JNK і до активації JNK. Активація p53, як один із наслідків цього, може привести до активації процесів репарації або апоптозу. Антиоксиданти (н-ацетілцистеїн, глутатіон) здатні інгібувати утворення димерів і мультимерів GSTP і таким чином підтримують низьку активність JNK. Менш активними інгібіторами JNK є також GSTs класу мю і класу альфа [219, 222, 223].

У ссавців розрізняють 7 класів цитозольних GSTs: альфа (GSTA), мію (GSTM), пі (GSTP), тета (GSTT), омега (GSTO), сигма (GSTS), зета (GSTZ) [224]. Перші три класи специфічні для ссавців, інші зустрічаються в різних організмах. Усі класи GSTs кодуються різними генами або родинами генів [224]. Найбільш вивченими є три класи цитозольних GSTs - *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1*.

Аналіз асоціації поліморфізмів генів метаболізму ксенобіотиків GSTM1 і GSTT1 із ризиком розвитку і тяжкістю перебігу захворювань печінки. Глутатіон-S-трансферази класу мію у людини кодують 5 генів від M1 до M5. Гени розташовано кластером в хромосомі 1p13. Експресія генів різна залежно від тканини. Ген *GSTM1* експресується у більшості тканин і, перш за все, у печінки, нирках і надниркових залозах. Ген *GSTM2* експресується в скелетних м'язах, *GSTM3* – в скелетних м'язах, легенях і сім'яниках, *GSTM4* – в лімфоцитах, *GSTM5* – у головному мозку. Таким чином, основний фермент печінки – це *GSTM1*. Ген *GSTM1* локалізовано на хромосомі 1p 13.3 і містить 10 екзонів [225]. Тета клас GST закодовано геном *GSTT1*, який локалізовано на довгому плечі 22 хромосоми (22q11.23), і містить 6 екзонів [226]. Ген експресується в печінці, травній системі, клітинах крові, нирках і легенях [227].

Усі цитозольні GST є поліморфними. Поліморфізми можуть знижувати або підвищувати активність ферменту. Наприклад, в генах *GSTM1* і *GSTT1* основні поліморфізми – це повні або часткові делеції відповідних генів (нуль алелі). Гомозиготи за нуль-алелем (нуль генотипи або *GSTT1-null*, *GSTM1-null*) не мають активності відповідних ферментів. Алель, який кодує фермент з нормальною каталітичною активністю (дикий тип), позначають *GSTT1+* та *GSTM1+* [228]. Частоти нуль генотипів варіюють у різних популяціях. Так, середня частота генотипу *GSTM1-null* у європейців (контрольні групи) складає у середньому 53 % (від 42 до 60 %), у афроамериканців 27 % (від 16 до 36 %) і у азіатів 53 % (від 42 до 54 %). Середня частота генотипу *GSTT1-null* дорівнює 20 % (від 13 до 26 %) у європейців і 47 % (від 35 до 53 %) у азіатів. Не визначено різниці у частоті генотипів залежно від віку і статі [229].

Делеції генів призводять до повної відсутності ферментативної активності *GSTT1* та *GSTM1*. У людей з нуль генотипами знижується захист клітин від ксенобіотиків та ендогенних сполук, що метаболізуються цими ферментами. У індивідуумів з генотипом *GSTM1*+ відповідний фермент синтезується. Серед них є гомозиготи за алелем *GSTM1*+ (+/+) та гетерозиготи (+/-). У гомозигот спостерігається більша активність ферменту ніж гетерозигот. Це може мати значення в патогенезі певних хвороб людини. Частота гомозигот в європейських популяціях складає 6,9 % [230].

Знижена ферментативна активність *GSTM1* та *GSTT1* може мати значення в патогенезі інфекційних хвороб. Наприклад, серед хворих на легеневий туберкульоз із генотипом *GSTM1*-null деструктивні процеси в легенях спостерігаються достовірно частіше порівняно зі хворими, які мають генотип *GSTM1*+ [231]. При інших патологіях, навпаки, встановлена протективна роль *GSTM1*-null генотипу. Наприклад, при хворобі рухових нейронів встановлена суттєво більша частота *GSTM1*+ генотипу ніж в контрольній групі [231].

Найбільша кількість глутатіон-S-трансфераз синтезується в печінці. Білок GSTs становить від 3 до 5 % усіх цитозольних білків гепатоцитів [21]. Встановлено, що поліморфізми цих генів можуть впливати на ризик розвитку, перебіг хвороб печінки, ефективність їх лікування. Але характер такої асоціації варіює у різних популяціях. Наприклад, за даними індійських і японських вчених генотип *GSTM1*-null асоційовано із підвищеним ризиком розвитку гепатотоксичності протитуберкульозної терапії. Для *GSTT1*-null генотипу така асоціація відсутня [232-234]. В Іспанії, навпаки, встановили асоціацію генотипу *GSTT1*-null із підвищеним ризиком гепатотоксичного ефекту протитуберкульозної терапії. Для *GSTM1*-null генотипу таку асоціацію не виявили [235].

Ряд робіт присвячено дослідженню ролі делеційних поліморфізмів генів *GSTT1* та *GSTM1* у розвитку гепатоцелюлярної карциноми. Встановлена суттєва асоціація ризику розвитку гепатокарциноми генотипами *GSTM1*-null та *GSTT1*-null в азіатських країнах [236]. Ризик у більшому ступені підвищено у індивідуумів при комбінації генотипів *GSTM1*-null/*GSTT1*-null [23, 33]. Водно-

час в Японії встановили асоціацію ризику розвитку гепатокарциноми з поліморфізмами генів *CYP2E1* і альдегіддегідрогенази, але не виявили асоціацію з GSTs [237]. В європейських і африканських країнах така асоціація також відсутня [238, 239].

Фінські дослідники встановили, що генотип *GSTM1-null* асоційовано із підвищеним ризиком розвитку фіброзу печінки при вживанні алкоголю [240]. Водночас англійські дослідники встановили, що генотип *GSTT1-null* асоційовано із підвищеним ризиком ураження печінки при вживанні алкоголю в Ліверпулі, але в Бірмінгемі і північному Стаффордширі така асоціація була відсутня [241]. Генотип *GSTM1-null* суттєво асоційовано із підвищеним ризиком розвитку неалкогольної жирової хвороби печінки [242].

Багато робіт присвячено дослідженню ролі делеційних поліморфізмів генів *GSTT1* та *GSTM1* у ризику розвитку хронічного гепатиту В і цирозу печінки різної етіології. Філіппінські автори вивчали асоціацію поліморфізмів *GSTT1* та *GSTM1* із ризиком розвитку хронічних хвороб печінки різної етіології, у тому числі асоційованих з вірусами гепатитів А, В і С (хронічний активний гепатит, цироз печінки, гепатокарцинома). Генотип *GSTM1-null* в 17,9 разів частіше зустрічався у хворих, ніж в контрольній групі [32]. Іранські дослідники також встановили, що частота *GSTM1-null* генотипу суттєво вища у пацієнтів з хронічним гепатитом В, ніж у практично здорових носіїв вірусу [243]. Ризик розвитку цирозу печінки у хворих на даний гепатиті також суттєво вищий у індивідуумів з генотипом *GSTM1-null* [243]. Для *GSTT1-null* генотипу таку асоціацію не виявлено.

Протилежні результати отримали російські вчені [244]. Показано, що генотип *GSTM1-null* є протективним фактором у розвитку цирозу печінки алкогольної і змішаної (віруси гепатиту С і В, алкоголь) етіології. Частота “нульового” генотипу гена *GSTM1* в об’єднаній групі хворих на цироз печінки (без поділу за етіологічним фактором), а також у пацієнтів з алкогольним цирозом і при захворюванні змішаної етіології (ХГС, хронічний гепатит В і алкоголь) суттєво нижча, ніж в контрольній групі. Крім того, делеція гена *GSTM1* асоці-

йована з більшою виживаністю хворих на цироз печінки. Так, виживаність хворих протягом 4-х років в 2 рази вища у індивідуумів з нуль генотипом *GSTM1*, ніж у хворих з *GSTM1+* генотипом [245]. Інші автори не визначили суттєвої різниці у частоті генотипів *GSTM1-null* і *GSTT1-null* у хворих на хронічний гепатит В і в контрольній групі [246, 247]. Тільки одна робота іспанських авторів присвячена аналізу асоціації делеційних поліморфізмів генів *GSTT1* і *GSTM1* із ризиком розвитку ХГС. Вони встановили асоціацію генотипів *GSTM1-null* та *GSTT1-null* із ризиком розвитку ХГС. Ризик був більшим у хворих з генотипом *GSTT1-null*, ніж у пацієнтів з генотипом *GSTM1-null* і максимальним при комбінації двох нуль генотипів. Автори не виявили асоціацію нуль генотипів із активністю процесу та розвитком фіброзу печінки у хворих на ХГС за даними гістологічних досліджень, а також із ефективністю лікування хворих пегінтерфероном+рибавірином [248].

Характеристика гена GSTP1 і генних поліморфізмів. Ген *GSTP1* кодує клас цитозольних ферментів π . Він локалізований в хромосомі 11q13.2. Ген складається з 7 екзонів і 6 інтронів і має довжину 2,8 kb [249-251]. У гені *GSTP1* визначено декілька однонуклеотидних поліморфізмів. Одним з найбільш значущих є заміна (транзиція) 313-го нуклеотиду А на G у 105-му кодоні. Такий поліморфізм викликає заміну 105-ї амінокислоти ферменту з Ile на Val (Ile105Val). Існує три різних генотипи гена *GSTP1* з цього поліморфізму: *AA* (Ile/Ile) – гомозигота за нормальним (диким) алелем, *AG* (Ile/Val) – гетерозигота, *GG* (Val/Val) – гомозигота за поліморфним алелем [252]. Частота генотипу *AA* серед здорового населення коливається в межах від 42 до 69 %, гетерозигот *AG* майже 35 % та гомозигот *GG* біля 10 % [253-257]. Подальші дослідження показали, що заміна Ile на Val у 105 кодоні змінює гідрофобний активний центр ферменту, де приєднується субстрат. Однак виявилось, що каталітична активність ферменту *GSTP1* суттєво залежить від типу субстрату [258]. Ізофермент (105 Val) має суттєво меншу ферментативну активність (приблизно на 30 %) по відношенню до електрофільного ксенобіотика 1-хлоро-2,4-

динітробензину [259]. Мінімальну активність ферменту мають гомозиготи *GG*. У гетерозигот *AG* активність ферменту проміжна [260].

При зниженій активності ферменту збільшується рівень активних канцерогенів в тканинах і підвищується ризик пошкодження ДНК і розвитку пухлин. Наприклад, у хворих на рак легенів, які мають генотип *GG*, визначено значно більший рівень DNA-adducts специфічних пошкоджень ДНК в лейкоцитах, ніж у пацієнтів з генотипом *AA* [261, 262]. Внаслідок цього спостерігається асоціація між генотипами *GG* і *AG* з підвищеним ризиком розвитку раку різної локалізації. Таку асоціацію виявлено для гепатокарциноми у популяції Тайваню молодше 57 років [229]. Встановлено, що генотипи *AG* і *GG* гена *GSTP1* асоційовано із ризиком розвитку ХГВ і цирозу печінки у інфікованих вірусом гепатиту В [246, 263]. Визначено також кореляцію між генотипами *AG* і *GG* та ступенем розвитку фіброзу печінки у пацієнтів на ХГВ за даними гістологічних досліджень [264]. Інші автори не знайшли суттєвої різниці у частоті різних генотипів за геном *GSTP1* у хворих на цироз печінки вірусної (В, С, В і С) і алкогольної етіології і в контрольній групі. Але вони встановили, що шанси розвитку летального наслідку протягом 4-х років у хворих із генотипами *AG* і *GG* в 2,5 рази більші, ніж у хворих з генотипом *AA*. Таким чином, *A/G* поліморфізм гена *GSTP1* може впливати на перебіг цього захворювання [265]. Виявлено асоціацію алелю *G* із розвитком алкогольної хвороби печінки [266] і неалкогольної жирової хвороби печінки [267].

Результати декількох метааналізів не виявили асоціації між *A/G* поліморфізмом і ризиком розвитку гепатоцелюлярної карциноми в різних популяціях [30, 236]. Але інші автори встановили наявність асоціації між ризиком розвитку гепатоцелюлярної карциноми і генотипами *AG* і *GG* у хворих молодше 57 років [268]. У хворих на гепатоцелюлярну карциному знижена експресія гена *GSTP1* в мононуклеарних клітинах периферичної крові корелює із підвищеним рівнем таких маркерів оксидативного стресу як малонового діальдегіду, ксантиноксидази, відновленого глутатіону в плазмі крові [269].

Таким чином, поліморфізм генів, що кодують I і II фази біотрансформації, суттєво впливає як на розвиток захворювання, так і на фармакокінетику, фармакодинаміку препаратів і має суттєві клінічні наслідки. Існуючі розробки і досягнення в галузі фармакогенетичних досліджень поліморфізму ферментів, які беруть участь у метаболізмі ксенобіотиків, є підставою для розробки нового персоналізованого підходу до тактики раціональної, ефективної та безпечної фармакотерапії хворих на ХГС. Це лягло в основу даної дисертації.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

З метою аналізу асоціації ризику розвитку ХГС з поліморфізмами генів ферментів детоксикації ксенобіотиків, а також впливу цих поліморфізмів на тяжкість перебігу, ефективність лікування захворювання за різними схемами для подальшої оптимізації фармакотерапії та покращення якості життя хворих проведено молекулярно-генетичне дослідження 77 хворих на ХГС, які звернулись в Одеську міську клінічну інфекційну лікарню в період з 2012-2013 рр., та 64 практично здорових донорів. Дослідження проведено згідно вимог комісії з питань біоетики ОНМедУ (протокол № 68Б А від 24.10.14 р.).

Для досягнення мети та вирішення поставлених завдань дослідження виконано у кілька етапів. Першим етапом проаналізовано асоціацію поліморфізмів генів детоксикації ксенобіотиків з ризиком розвитку і тяжкість перебігу ХГС. Для цього за допомогою молекулярно-генетичних методів дослідження визначено у порівняльному аспекті частоту поліморфізмів за генами *CYP2E1*, *GSTT1*, *GSTM1* та *GSTP1* у групі хворих на ХГС та практично здорових донорів (контрольна група). Проведено ретроспективний аналіз амбулаторних карт щодо тяжкості захворювання, яку оцінювали до початку лікування за даними біохімічного дослідження сироватки крові (активність АлАТ, АсАТ, вміст загального білірубіну), вірусним навантаженням і стадією розвитку фіброзу печінки.

Другим етапом проаналізовано ефективність лікування ХГС за різними схемами залежно від поліморфізму генів ферментів детоксикації ксенобіотиків. Для цього згідно даним, що отримано при аналізі амбулаторних карт, пацієнтів поділено на 3 групи за різними схемами фармакотерапії. Проведено оцінку вірусологічної відповіді через 4, 12 та 24 тижні терапії (при наявності даних у амбулаторних картах) та біохімічної відповіді на проведену терапію через 12 та 24 тижні лікування у пацієнтів з різними генотипами за генами *CYP2E1*, *GSTT1*, *GSTM1* та *GSTP1*.

2.1. Загальна характеристика досліджуваних груп

Група хворих на ХГС включала 77 осіб, з них 55 (71,4 %) чоловіків і 22 (28,6 %) жінки віком від 22 до 63 років (середній вік – $38,9 \pm 14,5$ років), мешканці м. Одеси та Одеської області.

Контрольну групу склали 64 практично здорових донора – мешканці Одеського регіону. Серед донорів, що обстежено, 20 (31,3 %) жінок та 44 (68,8%) чоловіка віком від 22 до 41 років (середнім віком $30,1 \pm 9,2$ років). Зразки крові донорів і дані їх біохімічного дослідження сироватки крові отримано в Одеській обласній станції переливання крові.

Дані про особливості перебігу та тяжкості ХГС (клінічний діагноз, результати загальноклінічних, біохімічних, імунологічних, молекулярно-генетичних та інструментальних методів), ефективність призначеної фармако-терапії були отримані ретроспективно при аналізі амбулаторних карт хворих. Верифікація діагнозу проводилась на основі вивчення епідеміологічного анамнезу, фізикального обстеження хворих, комплексу загальноклінічних, біохімічних, імунологічних, молекулярно-генетичних та клініко-інструментальних методів досліджень. Діагноз ХГС був підтверджений виявленням HCV-RNA в сироватці крові хворих.

Критерії включення в дослідження – пацієнти-мешканці м. Одеса та Одеської області, наявність хронічної HCV-інфекції; вік не молодше 18 років і не старше 65 років.

Критеріями виключення з дослідження були мешканці інших регіонів, вагітність і грудне вигодовування, наявність супутніх соматичних захворювань в стадії декомпенсації, гепатити іншої етіології (токсичні гепатити, вірусні гепатити А, В, D або їх комбінації), психічні розлади, раніше проведена противірусна терапія.

Пацієнти проходили лікування за різними схемами фармако-терапії. Схеми та тривалість лікування були обрані лікуючим лікарем згідно тяжкості за-

хворювання, індивідуальних особливостей пацієнтів (наявності протипоказань до певної схеми лікування, соціальних обставин, тощо).

Відповідно до різних схем фармакотерапії, які були застосовані для лікування ХГС, хворих було поділено на 3 групи:

I група – 33 пацієнти, які проходили лікування за схемою пегінтерферон + рибавірин. Серед обстежених 23 хворих (69,7 %) отримали пегінтерферон- α -2a (підшкірно у ділянку передньої черевної стінки і стегон по 180 мкг на тиждень, і 10 (30,3 %) пацієнтів – пегінтерферон - α -2b (підшкірно у ділянку передньої черевної стінки або стегон по 1,5 мкг/кг на тиждень). Рибавірин призначали перорально по 1000 мг на добу);

II група – 18 хворих на ХГС, які лікувалися за схемою аміксин (перорально по 1000 мг на добу) у комбінації з рибавірином (перорально по 1000 мг на добу);

III група – 26 пацієнтів, яким було призначено лікування легалоном (перорально по 140 мг x 3 рази на добу).

Демографічна характеристика хворих цих груп наведена у табл. 2.1. Серед пацієнтів I групи 28 (84,8 %) чоловіків і 5 (15,2 %) жінок віком від 22 до 48 років, середнім віком $36,9 \pm 8,8$ років. У II групу хворих увійшли 10 (55,6%)

Таблиця 2.1

Демографічна характеристика хворих на ХГС, n (%)

Характеристика хворих	I група (пегінтерферон + рибавірин, n=33)	II група (аміксин + рибавірин, n=18)	III група (легалон, n=26)	Всього (n=77)
Вік, роки (середній вік)	22-48 ($36,9 \pm 8,8$)	24-49 ($37,8 \pm 9,8$)	28-63 ($44,6 \pm 15,4$)	22-63 ($38,0 \pm 11,9$)
Чоловіки, n (%)	28 (84,8 %)	10 (55,6 %)	17 (65,4 %)	55 (71,4 %)
Жінки, n (%)	5 (15,2 %)	8 (44,4 %)	9 (34,6 %)	22 (28,6 %)

чоловіків та 8 (44,4 %) жінок віком від 24 до 49 років, середнім віком $37,8 \pm 9,8$ років. До III групи пацієнтів було залучено 17 (65,4 %) чоловіків та 9 жінок (34,6 %) віком 28-63 років, середнім віком $44,6 \pm 15,4$ років (див. табл. 2.1).

Залежно від генотипу вірусу С пацієнти 3-х груп, які залучені до дослідження, розподілились таким чином (табл. 2.2). Інфікованих вірусами з генотипом 1b було 49 (63,6 %) осіб, генотипом 2 – 3 (3,9 %) та 3a – 25 (32,5 %) хворих. Спостерігалась також тенденція до збільшення частоти генотипу 1b вірусу та зменшення частоти генотипу 3 серед жінок, ніж чоловіків.

Таблиця 2.2

Частота різних генотипів вірусу серед хворих на ХГС, n (%)

Генотип вірусу	Кількість пацієнтів, n (%)			
	I група (пегінтерферон + рибавірин, n=33)	II група (аміксин + рибавірин, n=18)	III група (легалон, n=26)	Всього (n=77)
1b	21 (63,6 %)	15 (83,3 %)	13 (50,0 %)	49 (63,6 %)
2	1 (3,0 %)	-	2 (7,7 %)	3 (3,9 %)
3a	11 (33,3 %)	3 (16,7 %)	11 (42,3 %)	25 (32,5 %)

У I групі хворих, які проходили фармакотерапію ХГС за схемою пегінтерферон + рибавірин, аналіз проведено за вірусологічною відповіддю з урахуванням генотипу хворих. Вірусне навантаження виявлено шляхом кількісного визначення РНК вірусу гепатиту С у сироватці крові методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) в режимі реального часу. Вихідне вірусне навантаження $< 800\ 000$ МО/мл вважалось низьким та вірусне навантаження $> 800\ 000$ МО/мл – високим. Цей показник визначено до лікування, через 4, 12 і 24 тижні після початку фармакотерапії. Для оцінки ступеня вірусної відповіді використано такі показники:

— швидку вірусологічну відповідь (ШВВ) - відсутність РНК вірусу через 4 тижні лікування;

- ранню вірусологічну відповідь (РВВ) - відсутність РНК вірусу через 12 тижнів лікування;
- уповільнену вірусологічну відповідь (УВВ) - відсутність РНК вірусу через 24 тижні лікування;
- відсутність вірусологічної відповіді (ВВ) - безперервна вірусемія.

У I-III групах хворих аналіз тяжкості ХГС, ефективності лікування проведено до початку і через 12 і 24 тижні після фармакотерапії за біохімічною відповіддю сироватки крові – активністю АлАТ, як більш специфічного маркера цитолізу гепатоцитів, а також АсАТ та вмісту загального білірубіну. Біохімічну відповідь визначали загальноприйнятими методами [270].

Чимале значення при оцінці тяжкості перебігу ХГС має гістологічна характеристика змін печінки [6, 34]. Сьогодні для оцінки стадії фіброзу печінки використовують «Фібротест», прогностичне значення якого аналогічно біопсії печінки [6]. Визначення стадії фіброзу печінки дозволяє прийняти рішення про тактику ведення хворого, оцінити ефективність проведеного лікування. Найбільш поширеними і загальноприйнятими є напівкількісні способи оцінки вираженості індексу фіброзу за шкалою Metavir. Згідно з цією шкалою, виділяють 4 стадії фіброзу (F₁, F₂, F₃, F₄). Причому F₄ відповідає цирозу печінки.

Результати біохімічного дослідження сироватки крові та стадії розвитку фіброзу печінки за даними стандартного тесту «FibroMax» серед пацієнтів 3-х груп до початку лікування наведено у табл. 2.3. Так, середні рівні активності АлАТ, АсАТ та вмісту загального білірубіну сироватки крові становили відповідно $1,47 \pm 1,32$, $0,74 \pm 0,65$ ммоль/л·год, $18,22 \pm 7,88$ мкмоль/л. Середній рівень активності АлАТ сироватці крові контрольної групи склав $0,39 \pm 0,14$ ммоль/л·год.

За шкалою «Metavir» серед обстежених пацієнтів у 31 (40,3 %) хворого фіброз був відсутнім (F₀ стадія розвитку фіброзу печінки), у 38 (49,3%) – відмічався фіброз печінки від F₁ стадії до F₃ та у 8 (10,4 %) – був цироз печінки (F₄) (див. табл. 2.3).

Таблиця 2.3

Середні рівні біохімічних показників сироватки крові та стадії розвитку фіброзу печінки за даними тесту FibroMax серед хворих на ХГС, (M±m)

Показники	Групи хворих			
	Пегінтерферон+рибавірин I група (n=33)	Аміксин+рибавірин II група (n=18)	Легалон III група (n=26)	Всього (n=77)
Біохімічні показники сироватки крові				
АлАТ, ммоль/л·год	1,63 ± 1,2	1,64 ± 1,57	1,14 ± 0,96	1,47±1,32
АсАТ, ммоль/л·год	0,80 ±0,60	0,78 ±0,70	0,62 ±0,50	0,74±0,65
Загальний білірубін, мкмоль/л	20,43 ±11,40	17,29 ±5,00	16,60 ±3,50	18,22±7,88
Стадії фіброзу печінки за даними тесту FibroMax				
F ₀	13 (39,4 %)	3 (16,7 %)	15 (57,7 %)	31 (40,3 %)
F ₁₋₃	13 (39,4 %)	15 (83,3 %)	10 (38,5 %)	38 (49,3 %)
F ₄	7 (21,2 %)	-	1 (3,8 %)	8 (10,4 %)

2.2. Молекулярно-генетичні методи дослідження

Визначення делеційних поліморфізмів генів *GSTT1* та *GSTM1*, *A313G* поліморфізму гена *GSTP1* та поліморфізму *CYP2E1* у 6-му нітроні (*CYP2E1*6*) визначено за наступними методиками. У всіх хворих на ХГС та осіб контрольної групи геномну ДНК виділяли з венозної крові за допомогою реагентів набору «ДНК-сорб-Б» («АмпліСенс», РФ) у такій послідовності:

1. Лізуючий розчин та розчин для відмивки 1 прогріти при T 65 °C до повного розчину кристалів.
2. У відібрані та пронумеровані пробірки внести по 300 мкл лізуючого розчину.
3. Додати до пробірок з лізуючим розчином по 100 мкл венозної крові.

4. Змішати на вортексі, прогріти при $t\ 65\ ^\circ\text{C}$ протягом 5 хв, центрифугувати 30 с при 5 тис об/хв.
5. Додати до пробірок 25 мкл сорбенту універсального, змішати, поставити у штатив на 2 хв, знову перемішати та залишити у штативі ще на 5 хв.
6. Центрифугувати пробірки при 5 тис об/хв 30 с. Відібрати надосадову рідину за допомогою електровідсмоктувача.
7. Додати по 300 мкл розчину для відмивки 1, змішати на вортексі. Центрифугувати при 5 тис об/хв 30 с. Відібрати надосадову рідину за допомогою електровідсмоктувача.
8. Додати по 500 мкл розчину для обмивки 2, змішати на вортексі. Центрифугувати при 10 тис об/хв – 1 хв.
9. Повторити пункт 8.
10. Перемістити пробірки в термостат при $t\ 65\ ^\circ\text{C}$ на 5 хв.
11. Додати по 50 мкл ТЕ буфера. Перемішати на вортексі. Перемістити в термостат при $t\ 65\ ^\circ\text{C}$ на 5 хв.
12. Центрифугувати при 12 тис об/хв 30 с. Надосадову рідину використовували для подальших досліджень.

Поліморфні ділянки *GSTT1* та *GSTM1* ампліфікували за допомогою мультиплексної ПЛР на ампліфікаторі «Терцик» («ДНК-технологія», РФ) з використанням локус специфічних олігонуклеотидних праймерів («Литех», РФ) згідно з протоколом для одночасного аналізу делеційного поліморфізму *GSTT1* та *GSTM1* за M. Arand et al. (1996) [271]. Як контрольний використаний фрагмент гена альбуміну. Для проведення мультиплексної ПЛР реакції були використані праймери до гена *GSTT1* (прямий 5' TTC-CTT-ACT-GGT-CCT-CAC-ATC-TC-3' та зворотний 5' TCA-CCG-GAT-CAT-GGC-CAG-CA-3'), гена *GSTM1* (прямий 5' GAA-CTC-CCT-GAA-AAG-CTA-AAGC-3' та зворотний 5' GTT-GGG-CTC-AAA-TAT-ACG-GTGG-3'), гена альбуміну (прямий 5' GCC-CTC-TGC-TAA-CAA-GTC-CT-3' та зворотний 5' GCC-CTA-AAA-AGA-AAA-TCG-CCA-ATC-3'), праймери виготовлені фірмою «Литех» (РФ).

Суміш для ПЛР містила на кожний зразок, що досліджувався:

1. ПЛР-суміш №2-blue фірми «Амплиценс» (РФ) – 10 мкл.
2. прямий та зворотній праймери до кожного гену – по 30 пкмоль.
3. суміш деоксинуклеозид трифосфатів («Амплиценс», РФ) – 2,5 мкл.
4. ДНК – 10 мкл.

ПЛР проводилась за наступними температурними режимами: 2 хв – 95⁰С; 30 циклів – 1хв – 94⁰С, 1 хв – 64⁰С та 1 хв при 72⁰С (ампліфікатор «Терцик», РФ).

Аналіз продуктів реакції проводили шляхом електрофорезу в 1 % агарозному гелі з додаванням 1 % етидіум броміду з подальшою візуалізацією в ультрафіолетовому світлі.

Розмір ампліфікованого фрагменту склав 480 п.н. для *GSTT1* (*GSTT1+*), відсутність фрагменту позначалось *GSTT1null*; 215 п.н. для *GSTM1* (*GSTM1+*), відсутність фрагменту позначалось *GSTM1null*; 350 п.н. для гена альбуміну (у якості контролю). Слід зауважити, що генотипи *GSTT1+* та *GSTM1+* включають як гомозигот, так і гетерозигот.

Поліморфізм *A313G* гена *GSTP1* визначено за допомогою ПЛР, яку було проведено на ампліфікаторі «Терцик» (РФ) за методикою Т. Ishii et al. 1999 [272]. Для реакції застосовано суміш олігонуклеотидних праймерів фірми «Литех» (РФ) наступних послідовностей: прямий 5'-GTA-GTT-TGC-CCA-AGG-TCA-AG-3' та зворотний 5'-AGC-CAC-CTG-AGG-GGT-AAG-3'.

Суміш для ПЛР на кожний зразок містила:

1. ПЛР-суміш №2-blue фірми «Амплиценс» (РФ) – 10 мкл.
2. прямий та зворотній праймери – по 0,36 мкл кожного.
3. суміш деоксинуклеозид три фосфатів («Амплиценс», РФ) – 2,5 мкл.
4. ДНК – 10 мкл.

ПЛР проводилась за такими температурними режимами: 12 хв – 95⁰С; 15 циклів – 95⁰С – 30 с, 58⁰С – 30 с, 72⁰С – 1 хв; 25 циклів – 95⁰С – 30 с, 55⁰С – 30 с, 72⁰С – 1 хв; 5 хв – 72⁰С.

Наступним етапом проведено рестрикцію з використаннями рестриктази *Alw26I* («Fermentas», РФ). Суміш для рестрикції готувалась наступним шляхом на кожний зразок, що досліджувався:

1. Вода для ПЛР – 18 мкл.
2. Buffer Tango («Fermentas», РФ) – 2 мкл.
3. *Alw26I* («Fermentas», РФ) – 1 мкл.
4. Продукт ампліфікації – 10 мкл.

Пробірки з отриманою сумішшю поміщали у термостат при 36 °С на 2 год.

Аналіз продуктів реакції проводили шляхом електрофорезу в 1 % агарозному гелі з додаванням 1 % етидіум броміду з подальшою візуалізацією в ультрафіолетовому світлі.

Фрагменти розміром 329 та 104 п.н. відповідали гомозиготі за диким алелем (генотип позначено *AA*), фрагменти 222 та 104 п.н – гомозиготи за мутантним алелем (*GG*) та фрагменти 329, 222 та 104 п.н. – гетерозиготи (*AG*).

Поліморфізм гена *CYP2E1* у 6-му нітроні (*CYP2E1 *6*) визначено за методикою, описаною S. Kato et al. (1992) [273]. ПЛР проведено на ампліфікаторі «Терцик» (РФ) за допомогою олігонуклеотидних праймерів («Литех», РФ) наступних послідовностей: прямий 5'-ССА-GTC-GAG-ТСТ-АСА-ТТG-ТСА-3' та зворотній 5'-ТТС-АТТ-СТG-ТСТ-ТСТ-ААС-ТGG-3'.

Для проведення ПЛР використовували наступну суміш:

1. ПЛР-суміш №2-blue фірми «Амлисенс» (РФ) – 10 мкл.
2. праймери – по 0,36 мкл кожного (прямого та зворотного).
3. суміш деоксинуклеозид три фосфатів («АмлиСенс», РФ) – 2,5 мкл.
4. ДНК – 10 мкл.

Температурні режими для ПЛР: 35 циклів – 94 °С – 30 с., 64 °С – 30 с, 72°С – 2 хв.

Проведено рестрикцію продукту ампліфікації, що отримано. Суміш для рестрикції містила для кожного зразка:

1. Вода для ПЛР – 18 мкл.
2. Buffer Tango («Fermentas», РФ) – 2 мкл.

3. Рестриктаза *RsaI* («Fermentas», РФ) – 0,5 мкл.

4. Продукт ампліфікації – 10 мкл.

Пробірки з отриманою сумішшю переміщали у термостат на 4 год при 36 °С.

Аналіз продуктів реакції проводили шляхом електрофорезу в 1 % агарозному гелі з додаванням 1 % етидіум броміду з подальшою візуалізацією в ультрафіолетовому світлі.

Фрагмент розміром 360 п.н відповідав гомозиготі за диким алелем (генотип позначався *DD*), фрагмент 410 – гомозиготі за мутантним алелем (*CC*) та фрагменти 410 та 360 п.н. – гетерозиготі (*CD*).

2.3. Оцінка якості життя хворих на ХГС

Вивчення якості життя (ЯЖ), що належить до здоров'я (health related quality of life, HRQL), розвивається як окрема медична наука, яка має свої методи дослідження, критерії оцінки, сферу застосування та ін. [93]. Вона базується на визначенні ЯЖ ВООЗ як індивідуального співвідношення свого положення у житті спільноти у контексті культури і системи цінностей суспільства з метою планами даного індивідуума, його можливостями і ступенем загальної невлаштованості.

Основним інструментом визначення якості життя є стандартизовані опитувальники. Відомо понад 50 наукових груп та інститутів, які займаються розробкою методів дослідження ЯЖ. Загалом зареєстровано понад 1000 загальних та спеціальних опитувальників [274]. Одним з найбільш популярних при проведенні медичних, соціально-економічних досліджень є загальний опитувальник SF-36 (Medical Outcomes Study Short Form 36) [274], який був розроблений у Центрі вивчення медичних результатів (США) у 1992 р. J. E. Ware і C. D. Sherbourne [275]. Адаптація SF 36 на українську мову за процедурою міжнародного центру з вивчення якості життя IQOLA (The International Quality of Life Assessment, Бостон, США) була проведена у 1998-2001 роках [276]. Результати наводяться у вигляді оцінок у балах за шкалами. Показники кожної шкали ва-

ріюють від 0 до 100, де 100 представляє повне здоров'я. Опитувач включає 36 питань, що відображають 8 шкал:

1. Фізичне функціонування (PF) – відображає ступінь, у якій фізичний стан обмежує виконання фізичних навантажень (самообслуговування, ходьба, підймання сходами тощо).
2. Рольове функціонування, обумовлене фізичним станом (RP) – вплив фізичного стану на повсякденну рольову діяльність (обов'язки).
3. Інтенсивність болю (BP) та його вплив на здатність займатися повсякденною діяльністю (хатня робота)
4. Загальний стан здоров'я (GH) – оцінка хворим його стану здоров'я у теперішній час.
5. Життєва активність (VT) – передбачає відчуття себе повним сил та енергії або знесиленим.
6. Соціальне функціонування (SF) визначається ступенем, у якому фізичний та емоційний стан обмежує соціальну активність (спілкування).
7. Рольове функціонування (RE), обумовлено емоційним станом, пропонує оцінку ступеня, у якому емоційний стан заважає здійсненню роботи або іншої повсякденної діяльності.
8. Психічне здоров'я (MH) – характеризує настрій, наявність депресії, тривоги, загальний показник позитивних емоцій.

2.4. Статистичні методи дослідження

Статистичний аналіз даних здійснено із застосуванням персонального комп'ютера за допомогою програмного пакету Microsoft Excel та «Statistica v.5.0». У процесі статистичної обробки обчислювалось середнє значення $M \pm m$. Аналіз асоційованості одних показників з іншими оцінено за відношенням шансів (OR – odds ratio). Критичний рівень достовірності нульової статистичної гіпотези (p) приймався таким, що дорівнював 0,05 [277].

РОЗДІЛ 3

АСОЦІАЦІЯ ПОЛІМОРФІЗМІВ ГЕНІВ *GSTs* ТА *CYP2E1* ІЗ РИЗИКОМ РОЗВИТКУ ТА ТЯЖКІСТЮ ПЕРЕБІГУ ХРОНІЧНОГО ГЕПАТИТУ С

Можливість прогнозування схильності до розвитку захворювання, тяжкості перебігу та розвитку ускладнень може мати велике значення у підборі індивідуальної і більш адекватної фармакотерапії ХГС та покращенні якості життя хворих. Як наведено у розд. 1, у доступній літературі не знайдено даних стосовно впливу генетичних поліморфізмів генів ферментів детоксикації ксенобіотиків на ризик розвитку і тяжкість перебігу ХГС. Тому метою даного розділу дисертаційної роботи було визначення можливої асоціації делеційних поліморфізмів генів *GSTT1* та *GSTM1*, поліморфізму *A313G* гена *GSTP1* та поліморфізму *CYP2E1*6* гена *CYP2E1* з ризиком розвитку та тяжкістю перебігу ХГС серед мешканців Одеського регіону.

3.1. Аналіз асоціації делеційних поліморфізмів генів *GSTT1* та *GSTM1* з ризиком розвитку хронічного гепатиту С

Частоти генотипів за генами *GSTT1* та *GSTM1* у хворих на ХГС та у контрольній групі наведено у табл. 3.1. Частоти генотипів *GSTT1* та *GSTM1* в контрольній групі відповідали популяційним частотам встановленим для європейських популяцій [229]. Частоти генотипів гена *GSTT1* не відрізнялись у хворих на ХГС та у контрольній групі. Так, у хворих на ХГС генотип *GSTT1+* визначено у 58 осіб (75,3 %), генотип *GSTT1null* – у 19 хворих (24,7 %). У контрольній групі генотип *GSTT1+* мали 52 особи (81,2 %) та генотип *GSTT1null* – 12 (18,8 %). Різниця у частоті генотипів *GSTT1* статистично недостовірна ($p = 0,398$). Привертає увагу достовірно більша частота генотипу *GSTM1+* у хворих на ХГС, ніж у контрольній групі (67,5 проти 50,0 %, $p=0,035$; $OR=2,08$; 95 % $CI = 1,05-4,12$). Відповідно генотип *GSTM1null* мали 25 (32,5 %) хворих на ХГС та 32 особи (50,0 %) контрольної групи ($p=0,035$).

Частоти генотипів за генами *GSTT1* та *GSTM1* у хворих на ХГС та в контрольній групі, n (%)

Генотипи	Хворі на ХГС (n=77)	Контрольна група (практично здорові) (n=64)	p
<i>GSTT1</i> +	58 (75,3 %)	52 (81,2 %)	0,398
<i>GSTT1null</i>	19 (24,7 %)	12 (18,8 %)	
<i>GSTM1</i> +	52 (67,5 %)	32 (50,0 %)	0,035
<i>GSTM1null</i>	25 (32,5 %)	32 (50,0 %)	
<i>GSTT1null/ GSTM1null</i>	7 (9,1 %)	6 (9,4 %)	0,954
<i>GSTT1+ / GSTM1+</i>	39 (50,6 %)	26 (40,6 %)	0,234
<i>GSTT1null/ GSTM1+</i>	12 (15,6 %)	7 (10,9 %)	0,421
<i>GSTT1+ / GSTM1null</i>	19 (24,7 %)	25 (39,1 %)	0,066

Комбінації різних генотипів «+» та «null» за генами *GSTT1* та *GSTM1* суттєво не відрізнялись у хворих на ХГС та в контрольній групі. Проте зберігалась тенденція до збільшення комбінацій з генотипом *GSTM1*+ у хворих на ХГС, ніж у контрольній групі. Так, комбінація генотипів *GSTT1+ / GSTM1+* дещо частіше зустрічалась у хворих на ХГС, ніж у контрольній групі (50,6 проти 40,6 %, $p > 0,05$). Серед хворих на ХГС також частіше зустрічалась комбінація *GSTT1null / GSTM1+* порівняно з контролем (відповідно 15,6 та 10,9 %, $p > 0,05$). Водночас комбінація генотипів *GSTT1+ / GSTM1null* частіше зустрічалась в контрольній групі, ніж у хворих на ХГС (39,1 проти 24,7 %, $p = 0,066$).

Розподіл делеційних поліморфізмів генів *GSTT1* та *GSTM1* у хворих на ХГС та у контрольній групі залежно від статі осіб, що досліджувалися, наведено у табл. 3.2. Не виявлено суттєвої різниці ($p > 0,05$) серед чоловіків та жінок у частоті різних генотипів за генами *GSTT1* та *GSTM1* як в контрольній групі, так у хворих на ХГС. Спостерігалась тенденція до збільшення частоти генотипу *GSTM1*+ у чоловіків хворих на ХГС порівняно з чоловіками контрольної

групи (70,9 проти 54,5 %, $p=0,093$). Також більша частина жінок, хворих на ХГС, мала генотип *GSTM1+*, ніж жінки контрольної групи (59,1 і 40,0 % відповідно, $p=0,217$). Зберігалась тенденція до збільшення частоти комбінацій генотипів *GSTT1null/GSTM1+* та *GSTT1null/GSTM1+* у чоловіків та жінок, хворих на ХГС, порівняно з контрольною групою. Натомість комбінація генотипів *GSTT1+/GSTM1null* дещо частіше зустрічалась в контрольній групі, ніж у хворих на ХГС.

Таблиця 3.2

Частоти делеційних поліморфізмів *GSTM1* і *GSTT1* у чоловіків та жінок хворих на ХГС та в контрольній групі, n (%)

Генотипи	Хворі на ХГС (n=77)		Контрольна група (n=64)	
	Чоловіки (n=55)	Жінки (n=22)	Чоловіки (n=44)	Жінки (n=20)
<i>GSTT1+</i>	42 (76,4 %)	15 (68,2 %)	34 (77,3 %)	18 (90,0%)
	p=0,460		p=0,227	
<i>GSTT1null</i>	13 (23,6 %)	7 (31,8 %)	10 (22,7 %)	2 (10,0 %)
	p=0,460		p=0,227	
<i>GSTM1+</i>	39 (70,9 %)	13 (59,1 %)	24 (54,5 %)	8 (40,0 %)
	p=0,317		p=0,281	
<i>GSTM1null</i>	16 (29,1 %)	9 (40,9 %)	20 (45,4 %)	12 (60,0 %)
	p=0,317		p=0,281	
<i>GSTT1null/GSTM1null</i>	4 (7,3 %)	3 (13,6 %)	5 (11,4 %)	1 (5,0 %)
	p=0,380		p=0,418	
<i>GSTT1+/GSTM1+</i>	29 (52,7 %)	9 (40,9 %)	19 (43,2 %)	7 (35,0 %)
	p=0,349		p=0,537	
<i>GSTT1null/GSTM1+</i>	9 (16,4 %)	4 (18,2 %)	7 (15,9 %)	1 (5,0 %)
	p=0,847		p=0,221	
<i>GSTT1+/GSTM1null</i>	13 (23,6 %)	6 (27,3 %)	13 (29,5 %)	10 (50,0 %)
	p=0,738		p=0,114	

При аналізі результатів, отриманих при даному дослідженні, можна зробити такі висновки:

1. У здорових мешканців Одеського регіону частоти делеційних поліморфізмів генів *GSTT1* та *GSTM1* не відрізняються від популяційних частот, що встановлені для європейських популяцій.
2. Немає суттєвої різниці у частоті делеційних поліморфізмів генів *GSTT1* та *GSTM1* у чоловіків та жінок, хворих на ХГС.
3. Не визначено суттєвої різниці у частоті різних генотипів *GSTT1* у хворих на ХГС та здорових осіб.
4. Спостерігається асоціація між генотипом *GSTM1+* і більшим ризиком розвитку ХГС.

Генотип *GSTM1+* характеризується «нормальною» активністю відповідного ферменту. Отримано достовірну асоціацію між генотипом *GSTM1+* та ризиком розвитку ХГС. Це можна пояснити наступним чином. У патогенезі ХГС основною ланкою є оксидативний стрес, який характеризується продукцією великої кількості АФК [126]. З одного боку, АФК ушкоджують структури гепатоцитів, з іншого, відіграють важливу роль у нормальному функціонуванні імунної системи, проліферації Т-лімфоцитів та імунологічної відповіді [119]. Глутатіон-S-трансферази метаболізують АФК і таким чином захищають клітини від оксидативного стресу [211]. Мабуть, це призводить до більш слабкої імунної відповіді на інфекційний процес, сприяючи хронізації інфекції у пацієнтів з генотипом *GSTM1+*. Не виключається також наявність в Одеському регіоні зовнішніх специфічних гепатотоксичних речовин, які метаболізуються за участю ферменту *GSTM1* з утворенням речовин із більшою токсичністю.

3.2. Аналіз асоціації *A313G* поліморфізму гена *GSTP1* із ризиком розвитку ХГС

Частоти різних генотипів гена *GSTP1* у хворих на ХГС і в контрольній групі наведено у табл. 3.3. Частоти генотипів за геном *GSTP1* в контрольній

групі відповідали популяційним частотам встановленим для європейських популяцій [213]. Розраховано частоту алелів *A* та *G* в контрольній групі. Генотип *AA* мали 31 особа і, відповідно, їм належало 62 алеля *A*. Гетерозиготи *AG* (28 осіб) мали 28 алелів *A* та 28 алелів *G*. У гомозигот *GG* (5 осіб) – 10 алелів *G*. Взагалі в контрольній групі $62+28=90$ алелів *A* і $28+10=38$ алелів *G*. Сума алелів *A* та *G* дорівнює 128. Таким чином, частота алеля *A* дорівнює 0,70, алеля *G* – 0,30. Аналогічно розраховано частоту алелів у хворих на ХГС. Частота алеля *A* – 0,68 та *G* – 0,32. Частоти алелів у контрольній групі і у хворих на ХГС не відрізнялися ($p>0,05$).

Таблиця 3.3

Частота генотипів за поліморфізмом *A313G* гена *GSTP1*
у хворих на ХГС та у контрольній групі, n (%)

Генотип	Хворі на ХГС (n=77)	Контрольна група (n=64)	p
<i>AA</i>	34 (44,2 %)	31 (48,5 %)	0,612
<i>AG</i>	36 (46,7 %)	28 (43,7 %)	0,721
<i>GG</i>	7 (9,1 %)	5 (7,8 %)	0,787
<i>AG+GG</i>	43 (55,8 %)	35 (54,6 %)	0,891

Перевірено відповідність розподілу генотипів в контрольній групі закону Харді-Вайнберга [278]. Згідно з цим законом, частоти генотипів розраховуються за формулою $p^2 + 2pq + q^2 = 1$. У формулі p – частота дикого алелю, q – частота мутантного алеля. В популяції $p+q=1$. Якщо в контрольній групі $q=0,30$, то $p=1-0,30=0,70$. Згідно з формулою Харді-Вайнберга, частота генотипу *AA* повинна бути $p^2=0,70^2=0,49$ (49 %); частота гетерозигот $AG=2pq=2 \times 0,70 \times 0,30=0,42$ (42 %); частота гомозигот $GG=q^2=0,30^2=0,09$ (9 %). Не було достовірної різниці між теоретичною частотою генотипів в контрольній групі і фактичними даними, які отримано при обстеженні даної групи людей. Таким чином, контрольна група знаходилась у стані генетичної рівноваги.

Не було істотних відмінностей у частоті генотипів гена *GSTP1* у хворих на ХГС і в контрольній групі (див. табл 3.3).

У контрольній групі генотип *AA* мали 31 (48,5 %) особа, генотип *AG* – 28 (43,7 %) та генотип *GG* – 5 (7,8 %) осіб. У сумі генотипи *AG+GG* зустрічались у 35 (54,6 %) осіб контрольної групи.

У хворих на ХГС генотип *AA* мали 34 (44,2 %) особи, *AG* - 36 (46,7 %) та *GG* - 7 (9,1 %) хворих. У сумі генотипи *AG* і *GG* зустрічались у 43 (55,8 %) хворих на ХГС.

Частоти генотипів гена *GSTP1* у хворих на ХГС та у контрольній групі залежно від статі осіб, що досліджувалися, наведено у табл. 3.4. Не було суттєвої різниці ($p>0,05$) у частоті генотипів за геном *GSTP1* у чоловіків і жінок в контрольній групі й у хворих на ХГС.

Таблиця 3.4

Розподіл частот генотипів за геном *GSTP1* у чоловіків та жінок хворих на ХГС і в контрольній групі, n (%)

Генотипи	Хворі на ХГС		Контрольна група	
	Чоловіки (n=55)	Жінки (n=22)	Чоловіки (n=44)	Жінки (n=20)
<i>AA</i>	22 (40,0 %)	12 (54,5 %)	20 (45,4 %)	11 (55,0 %)
	p=0,246		p=0,479	
<i>AG</i>	28 (50,9 %)	8 (36,4 %)	21 (47,7 %)	7 (35,0 %)
	p=0,248		p=0,341	
<i>GG</i>	5 (9,1 %)	2 (9,1 %)	3 (6,8 %)	2 (10,0 %)
	p=1,000		p=0,660	
<i>AG</i> або <i>GG</i>	33 (60,0 %)	10 (45,5 %)	24 (54,5 %)	9 (45,0 %)
	p=0,246		p=0,479	

Підсумовуючи отримані дані, можна зробити наступні висновки. Частоти алелів *A* і *G* гена *GSTP1*, а також частоти генотипів у контрольній групі не відрізняються у чоловіків і жінок та відповідають популяційним частотам ге-

нів та генотипів, встановленим для європейських популяцій. Не виявлено асоціації *A313G* поліморфізму гена *GSTP1* з ризиком розвитку ХГС.

3.3. Вплив поліморфізмів генів *GSTs* на тяжкість перебігу ХГС

Як наведено у розд. 1, інфікованість пацієнтів на ХГС вірусом з генотипом 1b, високе вірусне навантаження і високий рівень активності АлАТ крові, ступеня фіброзу – це прогностично несприятливі фактори тяжкості перебігу даної патології, розвитку ускладнень, неефективності лікування [6, 19, 35]. Враховуючи це, наступним етапом роботи стала оцінка асоціації поліморфізму генів ферментів детоксикації ксенобіотиків з тяжкістю перебігу ХГС залежно від цих предикторних факторів.

3.3.1. Асоціація делеційних поліморфізмів генів *GSTT1* та *GSTM1* з тяжкістю перебігу ХГС

Оскільки генотип вірусу, яким інфікована людина, має велике значення у перебігу хвороби, тактики лікування та прогнозуванні ефективності лікування, спочатку було проведено порівняння розподілу поліморфізмів генів *GSTT1* та *GSTM1* у групах хворих на ХГС, які відрізнялися за генотипом вірусу. Пацієнтів поділено на 2 групи (табл. 3.5). Перша група – хворі, які інфіковані вірусом з 1b генотипом, друга – пацієнти, інфіковані вірусами з генотипами 2, 3a.

Частоти генотипів генів *GSTT1* та *GSTM1* серед пацієнтів 2-х груп суттєво не відрізнялись. А саме, серед пацієнтів, інфікованих вірусом з генотипом 1b, генотип *GSTT1+* зустрівся у 39 (79,6 %) хворих, генотип *GSTT1null* – серед 10 (20,4 %). У пацієнтів, які інфіковані вірусами з генотипами 2, 3a, розподіл генотипів *GSTT1+* та *GSTT1null* значно не відрізнявся від попередньої групи і відмічався відповідно у 19 (67,8 %) і 9 (32,2 %) хворих. При статистичному аналізі пацієнтів обох груп $p > 0,05$.

Частота поліморфізмів генів *GSTT1*, *GSTM1* у хворих на ХГС залежно від генотипу вірусу, n (%)

Генотипи	Хворі, інфіковані вірусом з генотипом 1b (n=49)	Хворі, інфіковані вірусом з генотипами 2 або 3a (n=28)	p
<i>GSTT1</i> +	39 (79,6 %)	19 (67,8 %)	0,251
<i>GSTT1null</i>	10 (20,4 %)	9 (32,2 %)	
<i>GSTM1</i> +	32 (65,3 %)	19 (67,8 %)	0,820
<i>GSTM1null</i>	17 (34,7 %)	9 (32,2 %)	
<i>GSTT1null/GSTM1null</i>	4 (8,2 %)	3 (10,7 %)	0,708
<i>GSTT1</i> + <i>GSTM1</i> +	26 (53,1 %)	13 (46,4 %)	0,575
<i>GSTT1null/GSTM1</i> +	6 (12,2 %)	6 (21,4 %)	0,285
<i>GSTT1</i> +/ <i>GSTM1null</i>	13 (26,5 %)	6 (21,4 %)	0,617

Подібна картина спостерігалась при аналізі делеційного поліморфізму гену *GSTM1* серед пацієнтів, інфікованих вірусом з генотипом 1b або вірусами з генотипами 2, 3a. Так, серед хворих з вірусом 1b генотипи *GSTM1*+ і *GSTM1null* зустрічались у 32 (65,3 %) і 17 (34,7 %) пацієнтів відповідно. У осіб, інфікованих вірусами з генотипами 2 або 3a, генотипи *GSTM1*+ і *GSTM1null* спостерігались відповідно у 19 (67,8 %) і 9 (32,2 %) хворих. При статистичному аналізі частоти генотипів у пацієнтів обох груп $p > 0,05$.

При аналізі комбінацій різних генотипів (*GSTT1null/GSTM1null*, *GSTT1*+/*GSTM1*+, *GSTT1null/GSTM1*+, *GSTT1*+/*GSTM1null*) також не виявлялось суттєвих відмінностей у обох групах пацієнтів (див. табл. 3.5).

Наступним етапом був аналіз рівню вірусного навантаження у осіб з різними поліморфізмами генів *GSTT1* і *GSTM1*. Вірусне навантаження до початку лікування визначено у 46 хворих на ХГС. Серед них у 20 (43,5 %) осіб було встановлено високе вірусне навантаження ($> 800\,000$ МО/мл), у 26 (56,5%) – низьке ($< 800\,000$ МО/мл).

Частоти делеційних поліморфізмів генів *GSTT1* і *GSTM1* у хворих з низьким та високим вірусним навантаженням до початку лікування наведено у табл 3.6. Серед хворих з низьким вірусним навантаженням генотип *GSTT1+* мали 18 (69,2 %) осіб, *GSTT1null* – 8 (30,8 %). Генотип *GSTM1+* мали 16 (61,5%) хворих, *GSTM1null* - 10 (38,5 %). У пацієнтів з високим вірусним навантаженням до лікування генотип *GSTT1+* мали 16 (80,0 %) осіб, *GSTT1null* – 4 (20,0 %); генотип *GSTM1+* визначили у 17 (85,0 %) та *GSTM1null* – у 3 (15,0 %) хворих.

Таблиця 3.6

Частота делеційних поліморфізмів генів *GSTT1* та *GSTM1*
у хворих з низьким та високим вірусним навантаженням, n (%)

Генотипи	Низьке вірусне навантаження (n=26)	Високе вірусне навантаження (n=20)	p
<i>GSTT1+</i>	18 (69,2 %)	16 (80,0 %)	0,410
<i>GSTT1null</i>	8 (30,8 %)	4 (20,0 %)	
<i>GSTM1+</i>	16 (61,5 %)	17 (85,0 %)	0,080
<i>GSTM1null</i>	10 (38,5 %)	3 (15,0 %)	
<i>GSTT1null/GSTM1null</i>	4 (15,4 %)	1 (5,0 %)	0,262
<i>GSTT1+/GSTM1+</i>	12 (46,1 %)	14 (70,0 %)	0,106
<i>GSTT1null/GSTM1+</i>	4 (15,4 %)	3 (15,0 %)	0,971
<i>GSTT1+/GSTM1null</i>	6 (23,1 %)	2 (10,0 %)	0,246

Частоти різних генотипів достовірно не відрізнялися в групах хворих з високим і низьким вірусним навантаженням. Однак серед пацієнтів з генотипом *GSTM1+* спостерігалась тенденція (p=0,080) до збільшення частоти хворих з високим вірусним навантаженням. Ці дані збігаються із асоціацією генотипу *GSTM1+* з ризиком розвитку ХГС. Хворі з високим вірусним наванта-

женням частіше також мали комбінацію генотипів *GSTT1*+/*GSTM1*+ (70,0 %), ніж хворі з низьким вірусним навантаженням (46,1 %).

Визначено частоту делеційних поліморфізмів генів *GSTT1* та вірусне навантаження у хворих, які інфіковані вірусом з генотипом 1b (27 осіб). Серед них 16 (59,2 %) осіб мали низьке вірусне навантаження до лікування і 11 (4,8%) – високе. У пацієнтів з низьким вірусним навантаженням генотип *GSTT1*+ мали 12 осіб (75,0 %), *GSTT1null* – 4 (25,0 %); генотип *GSTM1*+ виявлено у 11 (68,7 %) і *GSTM1null* – у 5 (31,3 %).

У пацієнтів з високим вірусним навантаженням до лікування генотип *GSTT1*+ мали 9 (81,8 %) хворих, генотип *GSTM1null* – 2 (18,2 %); генотип *GSTM1*+ – 9 (81,8 %) і *GSTM1null* – 2 (18,2 %) пацієнти. В усіх випадках при порівнянні хворих обох груп з однаковими генотипами $p > 0,05$.

У хворих цієї групи з генотипом *GSTM1*+ теж спостерігалась тенденція до збільшення частоти хворих з високим вірусним навантаженням.

Таким чином, не було достовірної різниці у розподілі різних поліморфізмів генів *GSTT1* та *GSTM1* у групах хворих на ХГС з високим та низьким вірусним навантаженням до лікування.

Важливим фактором при оцінці тяжкості перебігу ХГС є рівень активності трансаміназ і вмісту загального білірубіну сироватки крові. У більшості публікацій активність ферментів цитолізу крові розглядаються як високодостовірні маркери ушкодження і некрозу гепатоцитів [47]. За рахунок переважного розташування АлАТ в цитозолі гепатоцитів його підвищення вважають більш специфічним для захворювань печінки [47].

Проаналізовано середній рівень активності АлАТ сироватки крові серед хворих, інфікованих вірусами з різними генотипами. Так, у хворих, інфікованих вірусом з генотипом 1b (49 пацієнтів), середній рівень активності АлАТ сироватки крові склав $1,58 \pm 1,34$ ммоль/л-год. У пацієнтів, які інфіковані вірусами з генотипами 2 та 3a (28 хворих), середній рівень активності цього ферменту у сироватці крові становив $1,65 \pm 1,38$ ммоль/л-год, при порівнянні цих

показників $p=0,851$. Отже, немає суттєвої різниці в активності АлАТ сироватки крові у хворих, які інфіковані вірусами з різними генотипами.

Наступним етапом проаналізовано активність ферментів цитолізу та вмісту загального білірубіну сироватки крові у хворих на ХГС залежно від делеційних поліморфізмів генів *GSTT1* і *GSTM1* (табл. 3.7). Була відсутня різниця у рівні вмісту досліджуваних біохімічних показників у сироватці крові хворих з генотипами *GSTT1+* і *GSTT1null*. Так, у пацієнтів з генотипом *GSTT1+* середній рівень активності АлАТ становив $1,43 \pm 1,23$, АсАТ - $0,8 \pm 0,60$ ммоль/л-год, вмісту загального білірубіну у сироватці крові - $16,41 \pm 11,40$ мкмоль/л. У сироватці крові хворих з генотипом *GSTT1null* середній рівень активності АлАТ склав $1,57 \pm 1,36$, АсАТ - $0,70 \pm 0,69$ ммоль/л-год, вмісту загального білірубіну - $15,29 \pm 5,00$ мкмоль/л ($p > 0,05$).

Таблиця 3.7

Середній рівень активності АлАТ, АсАТ та вмісту загального білірубіну у сироватці крові хворих на ХГС з різними генотипами генів *GSTT1* та *GSTM1* до початку лікування, ($M \pm m$)

Показники	Генотипи хворих за генами <i>GSTT1</i> та <i>GSTM1</i>			
	<i>GSTT1+</i> (n=58)	<i>GSTT1null</i> (n=19)	<i>GSTM1+</i> (n=52)	<i>GSTM1null</i> (n=25)
АлАТ (ммоль/л-год)	$1,43 \pm 1,23$	$1,57 \pm 1,36$	$1,32 \pm 1,02$	$1,98 \pm 1,54$
	$p=0,698$		$p=0,033$	
АсАТ (ммоль/л-год)	$0,82 \pm 0,60$	$0,70 \pm 0,69$	$0,62 \pm 0,50$	$1,08 \pm 0,90$
	$p=0,714$		$p=0,041$	
Загальний білірубін (мкмоль/л)	$16,41 \pm 11,40$	$15,29 \pm 5,00$	$13,60 \pm 3,50$	$23,60 \pm 14,30$
	$p=0,638$		$p=0,013$	

Привертають на себе увагу суттєво більш високі рівні досліджуваних показників у пацієнтів з генотипом *GSTM1null*, ніж з генотипом *GSTM1+*. Хворі з генотипом *GSTM1null* мали суттєво більш високий рівень активності

АлАТ сироватки крові, ніж хворі з генотипом *GSTM1+* ($1,98 \pm 1,54$ проти $1,32 \pm 1,02$ ммоль/л-год, $p=0,033$). Пацієнти з генотипом *GSTM1null* мали достовірно більш високий середній рівень активності АсАТ порівняно з хворими з генотипом *GSTM1+* (відповідно $1,08 \pm 0,90$ і $0,62 \pm 0,50$ ммоль/л-год, $p=0,041$) та вмісту загального білірубіну сироватки крові ($23,60 \pm 14,30$ мкмоль/л у хворих з генотипом *GSTM1null* і $13,60 \pm 3,50$ у пацієнтів з генотипом *GSTM1+*, $p=0,013$).

Проаналізовано середні рівні біохімічних показників серед хворих, інфікованих вірусом з генотипом 1b (табл. 3.8). У пацієнтів цієї групи, які мають генотип *GSTM1null*, спостерігалися більш високі рівні біохімічних показників (активності АлАТ, АсАТ та вмісту загального білірубіну сироватки крові). А саме, середній рівень активності АлАТ сироватки крові хворих з генотипом *GSTM1null* був значно вищим, ніж у осіб з генотипом *GSTM1+* (відповідно $2,1 \pm 0,90$ і $1,3 \pm 0,50$ ммоль/л-год, $p=0,037$). Пацієнти з генотипом *GSTM1null*, які інфіковані вірусом з 1b генотипом, мали достовірно більш високий середній рівень активності АсАТ порівняно з хворими з генотипом *GSTM1+* ($1,32 \pm 0,87$ проти $0,71 \pm 0,45$ ммоль/л-год, $p=0,048$) та більш високий рівень вмісту загального білірубіну сироватки крові ($19,74 \pm 13,28$ мкмоль/л у хворих з генотипом *GSTM1null* і $12,70 \pm 7,21$ мкмоль/л у пацієнтів з генотипом *GSTM1+*, $p=0,041$).

Не виявлено істотних відмінностей в активності АлАТ, АсАТ та вмісту загального білірубіну сироватки крові залежно від генотипу *GSTT1* у пацієнтів цієї групи (див. табл. 3.8). Так, у хворих, інфікованих вірусом з генотипом 1b, які мали генотип *GSTT1+*, середній рівень активності АлАТ сироватки крові складав $1,60 \pm 1,10$ ммоль/л-год. У осіб з генотипом *GSTT1null* цей показник суттєво не відрізнявся і становив $1,57 \pm 1,20$ ммоль/л-год ($p=0,453$). Середній рівень активності АсАТ сироватки крові хворих з генотипом *GSTT1+* склав $0,83 \pm 0,73$ ммоль/л-год, у пацієнтів з генотипом *GSTT1null* цей показник становив $0,87 \pm 1,1$ ммоль/л-год ($p=0,965$).

Середній рівень вмісту загального білірубіну сироватки крові також значно не відрізнялись у хворих з різними поліморфізмами гена *GSTT1* і склав для

осіб з генотипом *GSTT1+* $14,87 \pm 8,57$ мкмоль/л і для пацієнтів з генотипом *GSTT1null* – $15,97 \pm 6,50$ мкмоль/л ($p=0,819$).

Таблиця 3.8

Середній рівень активності АлАТ, АсАТ та вмісту загального білірубіну у сироватці крові хворих на ХГС з генотипом 1b з різними генотипами генів *GSTT1* та *GSTM1* до початку лікування, ($M \pm m$)

Показники	Генотипи хворих за генами <i>GSTT1</i> та <i>GSTM1</i>			
	<i>GSTT1+</i> (n=39)	<i>GSTT1null</i> (n=10)	<i>GSTM1+</i> (n=32)	<i>GSTM1null</i> (n=17)
АлАТ (ммоль/л·год)	$1,60 \pm 1,10$	$1,57 \pm 1,20$	$1,3 \pm 0,50$	$2,1 \pm 0,90$
	$p=0,453$		$p=0,037$	
АсАТ (ммоль/л·год)	$0,83 \pm 0,73$	$0,87 \pm 1,1$	$0,71 \pm 0,45$	$1,32 \pm 0,87$
	$p=0,965$		$p=0,048$	
Загальний білірубін (мкмоль/л)	$14,87 \pm 8,57$	$15,97 \pm 6,50$	$12,70 \pm 7,21$	$19,74 \pm 13,28$
	$p=0,819$		$p=0,041$	

Таким чином, делеційний поліморфізм гена *GSTT1* не впливав на середні рівні активності ферментів цитолізу та вмісту загального білірубіну сироватки крові ні в змішаній групі пацієнтів (інфікованих вірусами з генотипами 1b, 2 і 3a), ні і у хворих, інфікованих вірусом з генотипом 1b.

Генотип *GSTM1null* асоціюється з більш високими рівнями активності АлАТ, АсАТ та вмісту загального білірубіну сироватки крові у хворих на ХГС не залежно від генотипу вірусу, яким інфіковані пацієнти. Це свідчить, що у хворих, які мають генотип *GSTM1null*, гепатоцити більш інтенсивно піддаються ушкодженню, ніж у пацієнтів з генотипом *GSTM1+*. Генотип *GSTM1null* характеризується відсутністю активності відповідного ферменту. Можливо, це зменшує здатність АОС захищати клітини печінки від дії АФК, що утворюються під впливом білків вірусу. У зв'язку з цим, у хворих з генотипом *GSTM1null* більш інтенсивно відбувається цитоліз гепатоцитів, що виражається-

ся у підвищенні середнього рівня активності АлАТ та інших біохімічних показників сироватки крові.

При оцінці тяжкості перебігу ХГС і визначенні найбільш ефективного режиму фармакотерапії велике значення має оцінка стадії розвитку фіброзу печінки. Цей показник аналізовано за даними стандартного тесту «FibroMax». Стадії розвитку фіброзу досліджено у змішаній групі хворих, які інфіковані вірусами з генотипами 1b, 2 і 3a. Фіброз різного ступеня (F1-F4 за шкалою Metavir) мали 46 (59,7 %) хворих. З них 8 (10,4 %) осіб мали цироз печінки (F4). У 31 (40,3 %) хворого фіброз печінки був відсутній (F0 за шкалою Metavir). Серед хворих з цирозом печінки (F4) один (12,5 %) пацієнт був інфікований вірусом з генотипом 2, троє (37,5 %) – інфіковані вірусом з генотипом 1b та 4 (50,0 %) – інфіковані вірусом з генотипом 3a.

Як уже вказувалось, у хворих, які інфіковані вірусом з генотипом 1b, частіше розвивається фіброз печінки, ніж у хворих, інфікованих вірусами з 2 та 3a генотипами [6]. Тому було проведено порівняння частоти розвитку фіброзу печінки серед обстежених хворих залежно від генотипу вірусу. Серед хворих, інфікованих вірусом з 1b генотипом (49 пацієнтів, 63,6 %), фіброз різної стадії (F1-F4) мали 33 хворих (67,3 %). Відповідно 16 (32,7 %) пацієнтів мали F0 стадію розвитку фіброзу. Серед хворих, інфікованих вірусами з 2 та 3a генотипами (28 осіб, 36,4 %), фіброз печінки різної стадії мали 13 (46,4 %) осіб, та F0 стадія розвитку фіброзу відмічалась у 15 (53,6 %) пацієнтів. У хворих, які інфіковані вірусом з генотипом 1b, спостерігалась тенденція до збільшення числа осіб, у яких розвився фіброз печінки різної стадії, ніж у хворих, інфікованих вірусами з генотипами 2 та 3a (67,3 проти 46,4 %, $p=0,072$). Це збігається з даними літератури [6, 60].

Проаналізовано частоту делеційних поліморфізмів генів *GSTT1* і *GSTM1* у хворих з F0 стадією фіброзу печінки та у осіб, у яких визначався фіброз печінки різної стадії (F1-F4). Порівняння даних результатів наведено у табл. 3.9.

Частоти генотипів генів *GSTT1* та *GSTM1* у хворих на ХГС залежно від стадії розвитку фіброзу печінки за даними тесту «FibroMax», n (%)

Генотипи	F0 (n=31)	F1-F4 (n=46)	p
<i>GSTT1</i> +	24 (77,4 %)	34 (73,9 %)	0,726
<i>GSTT1null</i>	7 (22,6 %)	12 (26,1 %)	
<i>GSTM1</i> +	22 (70,9 %)	29 (63,1 %)	0,471
<i>GSTM1null</i>	9 (29,1 %)	17 (36,9 %)	
<i>GSTT1null/GSTM1null</i>	3 (9,7 %)	4 (8,7 %)	0,883
<i>GSTT1</i> +/+ <i>GSTM1</i> +	18 (58,1 %)	21 (45,6 %)	0,285
<i>GSTT1null/GSTM1</i> +	4 (12,3 %)	8 (17,4 %)	0,594
<i>GSTT1</i> +/+ <i>GSTM1null</i>	6 (19,3 %)	13 (28,3 %)	0,374

Не було істотних відмінностей у частоті генотипів генів *GSTT1* і *GSTM1* та їх комбінацій (в усіх випадках $p > 0,05$) в двох групах хворих.

Серед обстежених хворих на ХГС, цироз печінки (F4) мали 8 осіб. Серед них генотипи за генами *GSTT1* та *GSTM1* розподілились наступним чином: генотип *GSTT1* + мали 6 (75,0 %) осіб, *GSTT1null* – 2 (25,0 %) хворих; *GSTM1* + – 5 (62,5 %) та *GSTM1null* – 3 (37,5 %) пацієнтів. Комбінацію генотипів *GSTT1*+/+*GSTM1* + мали 3 (37,5 %) осіб, *GSTT1null/GSTM1* + визначалась у 2 (25,0 %) пацієнтів, *GSTT1*+/+*GSTM1null* – у 3 (37,5 %) хворих. Комбінацію генотипів *GSTT1null/GSTM1null* не виявлено серед пацієнтів цієї групи.

Серед хворих даної групи у 33 (67,3 %) розвився фіброз різної стадії, у 16 (32,7 %) відмічалась F0 стадія розвитку фіброзу. Частоти генотипів у пацієнтів з відсутністю фіброзу (F0) та у осіб з фіброзом печінки різної стадії (F1-F4) наведено у табл. 3.10. Не було суттєвих відмінностей у частоті генотипів за геном *GSTT1* у хворих з F0 стадією фіброзу та осіб з фіброзом печінки різної стадії (F1-F4). Так, серед хворих без фіброзу генотип *GSTT1* + мали 14 (87,5 %) осіб, у хворих з фіброзом різних стадій (F1-F4) – 25 (75,7 %) пацієнтів, $p = 0,339$.

Відповідно генотип *GSTT1null* в групі з F₀ стадією фіброзу зафіксовано у 2 (12,5 %) осіб, у 8 (24,3 %) пацієнтів розвився фіброз печінки різної стадії, $p=0,339$.

Таблиця 3.10

Стадії розвитку фіброзу печінки (за даними тесту «FibroMax») у хворих на ХГС, інфікованих вірусом з генотипом 1b, залежно від делеційних поліморфізмів генів *GSTT1* та *GSTM1*, n (%)

Генотипи	F ₀ (n=16)	F ₁ -F ₄ (n=33)	p
<i>GSTT1+</i>	14 (87,5 %)	25 (75,7 %)	0,339
<i>GSTT1null</i>	2 (12,5 %)	8 (24,3 %)	
<i>GSTM1+</i>	14 (43,8 %)	18 (56,2 %)	0,023
<i>GSTM1null</i>	2 (11,8 %)	15 (88,2 %)	
<i>GSTT1null/GSTM1null</i>	-	4 (12,1 %)	-
<i>GSTT1+/GSTM1+</i>	12 (75,0 %)	14 (42,7 %)	0,032
<i>GSTT1null/GSTM1+</i>	2 (12,5 %)	4 (12,1 %)	0,970
<i>GSTT1+/GSTM1null</i>	2 (12,5 %)	11 (33,3 %)	0,182

Привертає на себе увагу, що у хворих з генотипом *GSTM1null* значно частіше розвивався фіброз печінки різної стадії (F₁-F₄), ніж у хворих з генотипом *GSTM1+* (88,2 і 56,2 % відповідно, $p=0,023$; OR 5,83; 95 % CI = 1,14-29,84). Також у значно меншій частині хворих, які мали комбінацію генотипів *GSTT1+/GSTM1+*, виявився фіброз печінки. У 14 (42,4 %) з 33 хворих з такою комбінацією генотипів розвився фіброз різної стадії (F₁-F₄), а у 12 (75,0 %) з 16 пацієнтів не відмічався фіброз печінки (F₀), $p=0,032$. Комбінація генотипів *GSTT1null/GSTM1null* не зустрічалась серед пацієнтів з F₀ стадією розвитку фіброзу печінки.

У хворих, які інфіковані вірусами з генотипами 2 та 3a (28 осіб), не спостерігалось такої асоціації. Серед цієї групи хворих у 13 (46,4 %) осіб розвився

фіброз різної стадії (F1-F4), у 15 (53,6 %) визначалася F0 стадія. Частоти поліморфізмів генів *GSTT1* та *GSTM1* майже не відрізнялись у пацієнтів 2-х груп, а саме, серед 15 хворих, у яких була F0 стадія фіброзу, генотип *GSTT1*+ мали 11 (73,3 %) осіб, *GSTT1null* – 4 (26,7 %) пацієнтів; генотип *GSTM1*+ мали 8 (53,3%) осіб та *GSTM1null* – 7 (46,7 %) хворих. Серед осіб, у яких відмічались F1-F4 стадії розвитку фіброзу, поліморфізми генів *GSTT1* та *GSTM1* розподілились наступним чином: генотип *GSTT1*+ мали 9 (69,2 %) хворих, *GSTT1null* – 4 (30,8 %) пацієнтів; генотип *GSTM1*+ мали 11 (84,6 %) осіб та *GSTM1null* – 2 (15,4 %). У пацієнтів, інфікованих вірусами з генотипами 2 і 3а, не виявили достовірних відмінностей у частоті хворих з різними стадіями фіброзу залежно від поліморфізму генів *GSTT1* і *GSTM1* ($p>0,05$).

Підсумовуючи отримані дані можна зробити наступні висновки:

1. Відсутня статистично достовірна різниця у розподілі поліморфізмів генів *GSTT1* та *GSTM1* у пацієнтів, інфікованих вірусами з різними 1b та 2, 3а.
2. Відсутня достовірна асоціація делеційних поліморфізмів генів *GSTT1* та *GSTM1* з рівнем вірусного навантаження у хворих до початку лікування.
3. Делеційний поліморфізм гена *GSTT1* достовірно не впливає на середні рівні активності АлАТ, АсАТ, вмісту загального білірубіну сироватки крові та стадії розвитку фіброзу печінки у хворих на ХГС до початку лікування.
4. Генотип *GSTM1null* асоційовано з більш високим рівнем активності АлАТ, АсАТ та вмісту загального білірубіну сироватки крові у хворих на ХГС до лікування.
5. Генотип *GSTM1null* за геном *GSTM1* асоційовано з ризиком розвитку фіброзу печінки різної стадії (F1-F4) у хворих на ХГС, які інфіковані вірусом з генотипом 1b.
6. Відсутня асоціація делеційного поліморфізму гена *GSTM1* з ризиком розвитку фіброзу печінки у хворих, інфікованих вірусами з генотипами 2 та 3а.

3.3.2. Асоціація поліморфізму *A313G* гену *GSTP1* із тяжкістю ХГС

Порівняно розподіл різних генотипів за геном *GSTP1* у групах хворих на ХГС, які відрізнялися за генотипом вірусу. Пацієнтів поділено на 2 групи: перша група – хворі, які інфіковані вірусом з 1b генотипом, друга – пацієнти, інфіковані вірусами з генотипами 2, 3а (табл. 3.11). Не спостерігалось достовірно значимої різниці в частоті генотипів гена *GSTP1* у даних групах хворих. А саме, серед 49 пацієнтів, інфікованих вірусом з генотипом 1b, генотип *AA* зустрівся у 20 (40,8 %), генотип *AG* – у 26 (53,1 %) та генотип *GG* – у 3 (6,1 %), *AG+GG* – 29 (59,2 %).

Таблиця 3.11

Частота поліморфізму *A313G* гена *GSTP1* у хворих на ХГС залежно від генотипу вірусу

№ п/п	Генотипи вірусу	Генотип хворих, n (%)			
		<i>AA</i>	<i>AG</i>	<i>GG</i>	<i>AG+GG</i>
1.	1b (n=49)	20 (40,8 %)	26 (53,1 %)	3 (6,1 %)	29 (59,2 %)
2.	2 або 3а (n=28)	14 (50,0 %)	10 (35,7 %)	4 (14,3 %)	14 (50,0 %)
p (1-2)		0,435	0,142	0,231	0,435

Серед 28 хворих, інфікованих вірусом з генотипами 2 або 3а, генотипи *AA*, *AG*, *GG* зустрілись відповідно у 14 (50,0 %), 10 (35,7 %), 4 (14,3 %) пацієнтів, *AG+GG* – у 14 (50,0 %). При порівнянні кількості пацієнтів різних груп з однаковими генотипами різниця статистично недостовірна ($p > 0,05$). Таким чином, відсутня різниця у розподілі поліморфізму *A313G* гена *GSTP1* у пацієнтів, інфікованих вірусами з різними 1b та 2,3а.

Наступним етапом проаналізовано рівень вірусного навантаження серед пацієнтів, які відрізнялись за поліморфізмом гена *GSTP1*. Частоти генотипів за геном *GSTP1* у хворих з низьким і високим вірусним навантаженням наведено у табл. 3.12.

Частота генотипів гена *GSTP1* у хворих з низьким і високим вірусним навантаженням

№ п/п	Вірусне навантаження	Генотип хворих, n (%)			
		AA	AG	GG	AG+GG
1.	Низьке (n=26)	11 (42,3 %)	15 (57,7 %)	-	15 (57,7 %)
2.	Високе (n=20)	8 (40,0 %)	10 (50,0 %)	2 (10,0 %)	12 (60,0 %)
p (1-2)		0,875	0,604	-	0,875

Серед пацієнтів з низьким вірусним навантаженням генотип *AA* мали 11 (42,3 %) осіб, *AG* – 15 (57,7 %). Генотип *GG* не визначено у жодного хворого з низьким вірусним навантаженням. У пацієнтів з високим вірусним навантаженням генотип *AA* гена *GSTP1* мали 8 (40,0 %) осіб, генотип *AG* – 10 (50,0 %) та генотип *GG* мали 2 (10,0 %) хворих. Комбінація генотипів *AG+GG* в даній групі хворих визначена у 12 (60,0 %) осіб. Таким чином, не було суттєвої різниці у частоті *A313G* поліморфізмів гена *GSTP1* у групах хворих з низьким та високим вірусними навантаженнями.

У групі хворих, які інфіковані вірусом з генотипом 1b і мали низьке і високе вірусне навантаження, також не було суттєвої різниці у частоті генотипів за геном *GSTP1*. А саме в групі хворих з низьким вірусним навантаженням генотип *AA* мали 6 (37,5 %) осіб, генотипи *AG+GG* – 10 (62,5 %) хворих. Серед пацієнтів з високим вірусним навантаженням генотип *AA* мали 5 (45,4 %) осіб, генотипи *AG+GG* – 6 (54,6 %) хворих. При порівнянні пацієнтів з низьким і високим вірусними навантаженнями, які мають однакові генотипи за геном *GSTP1*, не виявлено статистично достовірних відмінностей ($p > 0,05$).

Також проаналізовано середні рівні активності АлАТ, АсАТ та вмісту загального білірубину у сироватці крові хворих залежно від генотипу за геном *GSTP1* (табл. 3.13).

Таблиця 3.13

Середні рівні активності АлАТ, АсАТ та вмісту загального білірубіну у сироватці крові хворих на ХГС з різними поліморфізмами гена *GSTP1* до початку лікування ($M \pm m$)

Показники	AA (n=34)	AG+GG (n=43)
АлАТ (ммоль/л·год)	1,35±1,19	1,59±1,31
	p=0,444	
АсАТ (ммоль/л·год)	0,78±0,58	0,82 ±0,70
	p=0,729	
Загальний білірубін (мкмоль/л)	15,24 ±12,32	14,92 ±8,12
	p=0,711	

У пацієнтів, які мали генотип *AA* за геном *GSTP1*, середній рівень активності АлАТ сироватки крові склав 1,35±1,19 ммоль/л·год, з генотипом *AG* – 1,63±1,28, з генотипом *GG* – 1,35±1,09. У групі пацієнтів з генотипами *AG+GG* середній рівень активності АлАТ становив 1,59±1,31 ммоль/л·год. При порівнянні середнього рівня активності цього ферменту у хворих з генотипом *AA* та генотипами *AG+GG* не виявлено істотних відмінностей ($p=0,444$). Також не відрізнялися середні рівні активності АсАТ та вмісту загального білірубіну сироватки крові у хворих з генотипом *AA* та генотипами *AG* або *GG* за геном *GSTP1*. Так, у хворих з генотипом *AA* середній рівень активності АсАТ становив 0,78±0,58 ммоль/л·год, у пацієнтів з генотипами *AG* і *GG* – 0,82±0,70, $p=0,729$. Середні рівні вмісту загального білірубіну у сироватці крові хворих з генотипом *AA* і генотипами *AG* і *GG* становили відповідно 15,24±12,32 і 14,92±8,12 мкмоль/л, $p=0,711$.

Проаналізовано вплив *A313G* поліморфізму гена *GSTP1* на середні рівні біохімічних показників у хворих, інфікованих вірусом з генотипом 1b. Було отримано схожі результати. А саме, у пацієнтів цієї групи, які мали генотип *AA*, середній рівень активності АлАТ сироватки крові становив 1,59±1,10

ммоль/л-год, у хворих з генотипами *AG/GG* – $1,51 \pm 1,20$, $p=0,834$. Середній рівень активності АсАТ у сироватці крові хворих з генотипом *AA* склав $0,81 \pm 0,48$ ммоль/л-год, у пацієнтів з генотипами *AG* і *GG* – $0,79 \pm 0,68$, $p=0,894$. Середній рівень вмісту загального білірубіну сироватки крові у пацієнтів з генотипами *AA* та *AG* або *GG* становив відповідно $16,23 \pm 13,33$ і $15,51 \pm 10,08$ мкмоль/л, $p=0,612$.

Проаналізовано також біохімічні показники у хворих, які інфіковані вірусами з генотипом 2 та 3а, залежно від поліморфізму гена *GSTP1*. У хворих цієї групи, середні рівні біохімічних показників сироватки крові не відрізнялись від пацієнтів з різними генотипами за геном *GSTP1*. Середній рівень активності АлАТ сироватки крові хворих з генотипом *AA* становив $1,34 \pm 1,02$ ммоль/л-год, у пацієнтів з генотипами *AG+GG* цей показник суттєво не відрізнявся і становив $1,59 \pm 1,34$ ммоль/л-год, $p=0,450$. Відсутні також істотні відмінності у середніх рівнях активності АсАТ та вмісту загального білірубіну сироватки крові у хворих з генотипами *AA* та *AG+GG* ($p>0,05$).

Таким чином, *A313G* поліморфізм гена *GSTP1* не впливає на середні рівні активності ферментів цитолізу та вмісту загального білірубіну сироватки крові хворих на ХГС, незалежно від генотипу вірусу, яким інфікована людина.

Наступним етапом проаналізовано стадії розвитку фіброзу печінки серед пацієнтів з різними поліморфізмами гена *GSTP1*. А саме, досліджено частоту *A313G* поліморфізму гена *GSTP1* у хворих на ХГС з F₀ стадією розвитку фіброзу печінки та у хворих з фіброзом печінки різної стадії (F₁-F₄). Порівняння отриманих результатів наведено у табл. 3.14.

Серед хворих з різною стадією розвитку фіброзу печінки генотип *AA* гена *GSTP1* мали 17 (36,9 %) хворих, генотип *AG* – 23 (50,0 %) та генотип *GG* – 6 (13,1 %) осіб. Комбінація генотипів *AG+GG* зустрічалась у 29 (63,1 %) пацієнтів даної групи. Серед хворих з F₀ стадією фіброзу печінки генотип *AA*, *AG* та *GG* мали відповідно 16 (51,6 %), 13 (41,9 %) та 2 (6,5 %) осіб. Комбінація генотипів *AG+GG* зустрічалась у 15 (48,4 %) пацієнтів цієї групи.

Стадії розвитку фіброзу печінки за даними тесту «FibroMax» у хворих
на ХГС залежно від *A313G* поліморфізму гена *GSTP1*

№ п/п	Стадії фіброзу	Генотип хворих, n (%)			
		AA	AG	GG	AG+GG
1.	F ₀ (n=31)	16 (51,6 %)	13 (41,9 %)	2 (6,5 %)	15 (48,4 %)
2.	F ₁ -F ₄ (n=46)	17 (36,9 %)	23 (50,0 %)	6 (13,1 %)	29 (63,1 %)
p (1-2)		0,202	0,487	0,358	0,202

При порівнянні частот генотипів у хворих з фіброзом різної стадії та F₀ стадією фіброзу не виявили суттєвих відмінностей (в усіх випадках $p > 0,05$).

У хворих, інфікованих вірусом з генотипом 1b, також не виявлено впливу поліморфізму *A313G* гена *GSTP1* на розвиток фіброзу печінки. У пацієнтів цієї групи з фіброзом різної стадії генотип AA гена *GSTP1* мали 13 (39,4 %) осіб, генотип AG – 18 (54,5 %) та генотип GG – 2 (6,1 %) хворих. Комбінація генотипів AG+GG зустрічалась у 20 (60,6 %) хворих. У пацієнтів з F₀ стадією розвитку фіброзу розподіл *A313G* поліморфізмів гена *GSTP1* суттєво не відрізнявся ($p > 0,05$). Так, генотипи AA, AG та GG мали відповідно 7 (43,7 %), 7 (43,7 %) та 2 (12,5 %) осіб. Комбінація генотипів AG+GG зустрічалась у 9 (56,3%) хворих.

Досліджено також частоту поліморфних варіантів *GSTP1* у хворих, інфікованих вірусом з генотипами 2 та 3a, з різною стадією розвитку фіброзу печінки. У пацієнтів з фіброзом різної стадії (F₁-F₄) генотип AA мали 5 (38,5 %) осіб, генотип AG – 5 (28,5 %) та GG – 3 (23,0 %) хворих. Комбінація генотипів AG+GG зустрічалась у 8 (61,5 %) хворих. У пацієнтів з F₀ стадією розвитку фіброзу генотипи AA та AG мали відповідно 9 (60,0 %) і 6 (40,0 %) хворих. Поліморфізм GG не зустрічався у хворих цієї групи. Частоти генотипів у хворих з фіброзом F₁-F₄ та у пацієнтів з F₀ стадією розвитку фіброзу печінки суттєво не відрізнялися ($p > 0,05$).

Таким чином, відсутня асоціація *A313G* поліморфізм гена *GSTP1* з ризиком фіброзу печінки у хворих на ХГС серед пацієнтів, інфікованих вірусами з генотипами 1b, 2 та 3a.

Сумуючи отримані дані, можна зробити наступні висновки. Відсутня різниця у частоті поліморфізму *A313G* гена *GSTP1* у пацієнтів, інфікованих вірусами з різними генотипами (1b та 2, 3a), а також відсутня асоціація поліморфізму *A313G* гену *GSTP1* з рівнями вірусного навантаження, біохімічних показників крові та стадією розвитку фіброзу печінки у хворих на ХГС.

3.4. Асоціація поліморфізму гена *CYP2E1* у 6-му інтроні з ризиком розвитку ХГС

Наступним етапом було вивчення впливу поліморфізму гена *CYP2E1* у 6-му інтроні (*CYP2E1*6*) на ризик розвитку ХГС, який оцінювали при порівнянні частоти відповідних генотипів у хворих та у контрольній групі практично здорових донорів. За даними молекулярно-генетичного дослідження, частоти генотипів за поліморфізмом *CYP2E1*6* у хворих на ХГС та в контрольній групі наведено у табл. 3.15.

Таблиця 3.15

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

№ п/п	Групи, що обстежено	Генотип хворих, n (%)		
		<i>DD</i>	<i>CD</i>	<i>CC</i>
1.	Хворі на ХГС (n=77)	59 (76,6 %)	18 (23,4 %)	-
2.	Контрольна група (n=64)	50 (78,1 %)	14 (21,9 %)	-
p (1-2)		0,832		-

Частоти поліморфізмів *CYP2E1*6* у хворих на ХГС розподілилися наступним чином: генотип *DD* мали 59 (76,6 %) пацієнтів, генотип *CD* - 18 (23,4%), генотип *CC* не мав жоден з пацієнтів.

У контрольній групі генотипи *DD* та *CD* мали відповідно 50 (78,1 %) та 14 (21,9 %) осіб. Гомозигот *CC* серед обстежених також не виявлено. Частоти генотипів серед хворих на ХГС та в контрольній групі суттєво не відрізнялися ($p=0,832$). Розраховано частоту алелів *D* та *C* в групах хворих на ХГС та в контрольній групі. Частота алеля *C* у хворих на ХГС склала 0,12, алеля *D* – 0,88; в контрольній групі – відповідно 0,11 і 0,89. Частоти алелів також суттєво не відрізнялися в двох групах ($p=0,843$).

Частоти генотипів *DD* і *CD* в контрольній групі відповідали закону генетичної рівноваги Харді-Вайнберга [278]. Згідно з формулою Харді-Вайнберга ($p^2 + 2pq + q^2 = 1$, де p – частота алеля *C*, q – частота алеля *D*), частоти генотипів у рівноважній популяції повинні бути наступними: *CC* – 1,2 %, *CD* - 19,6 %, *DD* – 79,2 %. Частоти генотипів, які отримано в контрольній групі та у хворих на ХГС (див. табл. 3.15), суттєво не відрізнялись від теоретичних розрахунків ($p>0,05$) для кожного генотипу. Частота мутантного алеля *C* не відрізнялась від частот, які були встановлені для європейських популяцій іншими авторами [278]. Таким чином, відсутня асоціація ризику розвитку ХГС з поліморфізмом *CYP2E1*6*.

Не виявлено істотних відмінностей у частоті поліморфізму *CYP2E1*6* серед чоловіків та жінок хворих на ХГС та у контрольній групі (табл. 3.16). Як видно з наведеної таблиці, серед хворих на ХГС чоловіків (55 осіб) генотипи *DD* та *CD* мали відповідно 41 (74,5 %) та 14 (25,5 %) пацієнтів. Серед хворих жінок (22 особи) генотипи *DD* та *CD* визначались відповідно у 18 (81,8 %) та у 4 (18,2 %) осіб ($p=0,496$).

Серед чоловіків контрольної групи (44 чоловіка) генотипи *DD* та *CD* виявлено відповідно у 34 (77,3 %) та у 10 (22,7 %). Серед жінок контрольної групи (20 осіб) генотип *DD* мали 16 (80,0 %) та генотип *CD* - 4 (20,0 %) особи. Не

відмічалось істотних відмінностей у розподілі генотипів за поліморфізмом *CYP2E1*6* серед здорових донорів чоловіків та жінок ($p=0,807$).

Таблиця 3.16

Частоти генотипів за поліморфізмом *CYP2E1*6* у чоловіків та жінок, хворих на ХГС і в контрольній групі

Генотип	Хворі на ХГС, n (%)		Контрольна група, n (%)	
	Чоловіки (n=55)	Жінки (n=22)	Чоловіки (n=44)	Жінки (n=20)
<i>DD</i>	41 (74,5 %)	18 (81,8 %)	34 (77,3 %)	16 (80,0 %)
	p=0,496		p=0,807	
<i>CD</i>	14 (25,5 %)	4 (18,2 %)	10 (22,7 %)	4 (20,0 %)
	p=0,496		p=0,807	

Таким чином, не було статистично істотних відмінностей у розподілі генотипів *DD* та *CD* за поліморфізмом *CYP2E1*6* між чоловіками та жінками як в контрольній групі, так і серед хворих на ХГС.

Підсумовуючи отримані дані, можна дійти наступне. Вперше встановлено частоту поліморфізму *CYP2E1*6* у здорових мешканців Одеського регіону. Частоти генів *C* і *D* та відповідних генотипів не відрізнялись від частот, отриманих іншими авторами в європейських популяціях. Виявлено відсутність асоціації поліморфізму *CYP2E1*6* з ризиком розвитку ХГС.

3.5. Вплив поліморфізму гена *CYP2E1* у 6-му інтроні на тяжкість перебігу ХГС

Аналізуючи частоту поліморфних варіантів гена *CYP2E1* у хворих, які інфіковані вірусом з генотипом 1b та вірусами з генотипами 2 або 3a, не виявлено достовірної різниці між групами (табл. 3.17).

Частота поліморфізму *CYP2E1**6 у хворих на ХГС
залежно від генотипу вірусу

№ п/п	Генотип вірусу	Генотип хворих, n (%)	
		<i>DD</i>	<i>CD</i>
1.	1b (n=49)	38 (77,6 %)	11 (22,4 %)
2.	2 або 3a (n=28)	21 (75,0 %)	7 (25,0 %)
p (1-2)		0,799	

Так, серед пацієнтів, інфікованих вірусом з генотипом 1b, генотип *DD* мали 38 (77,6 %) хворих та генотип *CD* – 11 (22,4 %) осіб. Серед хворих, інфікованих вірусами з генотипами 2 або 3a, генотипи *DD* та *CD* мали відповідно 21 (75,0 %) і 7 (25,0 %) пацієнтів. Різниця у частоті відповідних генотипів між пацієнтами, які інфіковані вірусами з генотипом 1b, 2 або 3a, статистично не достовірна (p=0,799).

Результати аналізу рівня вірусного навантаження у осіб з різними генотипами за поліморфізмом *CYP2E1**6 наведено у табл. 3.18. Серед 46 пацієнтів, що обстежені щодо вірусного навантаження до лікування, генотип *DD* мали 36 (78,3 %) осіб, генотип *CD* - 10 (21,7 %) хворих.

Таблиця 3.18

Частота поліморфізму *CYP2E1**6 у хворих на ХГС з низьким
та високим вірусним навантаженням

№ п/п	Вірусне навантаження	Генотип хворих, n (%)	
		<i>DD</i>	<i>CD</i>
1.	Низьке (n=26)	21 (80,7 %)	5 (19,3 %)
2.	Високе (n=20)	15 (75,0 %)	5 (25,0 %)
p (1-2)		0,638	

Серед 26 пацієнтів з високим вірусним навантаженням до лікування генотип *DD* мали 21 (80,7 %) хворих та генотип *CD* - 5 (19,3 %). Серед 20 пацієнтів з низьким вірусним навантаженням генотип *DD* мали 15 (75,0 %) та генотип *CD* - 5 (25,0 %). Частоти поліморфізмів за геном *CYP2E1* значно не відрізнялись у пацієнтів з високим та низьким вірусним навантаженням ($p=0,683$). Отже, не виявлено асоціації рівня вірусного навантаження з поліморфізмом *CYP2E1*6*.

Проаналізовано вплив поліморфізму *CYP2E1*6* на біохімічні показники сироватки крові у хворих на ХГС (табл. 3.19).

Таблиця 3.19

Середні рівні активності АлАТ, АсАТ та вмісту загального білірубіну у сироватці крові хворих на ХГС з різними генотипами гена *CYP2E1* до початку лікування ($M \pm m$)

Показники	<i>DD</i> (n=59)	<i>CD</i> (n=18)
АлАТ (ммоль/л-год)	1,59±1,24	1,22±1,20
	$p=0,262$	
АсАТ (ммоль/л-год)	0,94±0,98	0,68±0,51
	$p=0,324$	
Загальний білірубін (мкмоль/л)	19,35±9,8	16,24±14,31
	$p=0,453$	

У хворих з генотипом *DD* спостерігалась тенденція до збільшення середнього рівня біохімічних показників, ніж у хворих з генотипом *CD*. Так, у хворих з генотипом *DD* середні рівні активності АлАТ, АсАТ та вмісту загального білірубіну сироватки крові склали відповідно 1,59±1,24, 0,94±0,98 ммоль/л-год та 19,35±9,8 мкмоль/л, а у пацієнтів з генотипом *CD* відповідно - 1,22±1,20, 0,68±0,51 ммоль/л-год і 16,24±14,31 мкмоль/л. Але різниця була статистично

недостовірна ($p>0,05$). Можливо, це може бути обумовлено значною варіабельністю біохімічних показників у різних осіб.

Наступним етапом проаналізовано серед хворих з різними генотипами відсоток пацієнтів, які мали активність АлАТ сироватки крові у межах практично здорових осіб (рис. 3.1). Серед 59 хворих з генотипом *DD* така активність АлАТ сироватки крові відмічалася у 16 (27,1 %) пацієнтів. Серед 18 хворих з генотипом *CD* рівень АлАТ сироватки крові у межах здорових осіб мали 10 пацієнтів, що склало 55,6 %. Отже, серед хворих з генотипом *DD* до лікування достовірно значно менша частина осіб мали показники АлАТ сироватки крові у межах значень здорових донорів, ніж серед пацієнтів з генотипом *CD* (на 28,5 %, $p=0,026$).

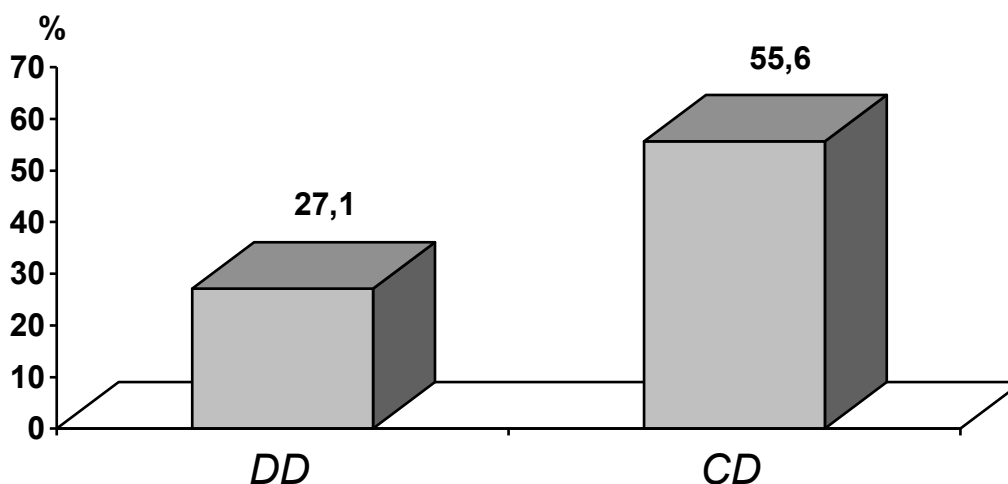


Рис. 3.1. Частота хворих на ХГС з рівнем АлАТ сироватки крові в межах здорових донорів залежно від генотипу хворих (достовірність між групами $p=0,026$)

Результати аналізу асоціації поліморфізму *CYP2E1*6* з розвитком фіброзу печінки наведено на рис. 3.2. Серед 18 хворих з генотипом *CD* фіброз різної стадії (F_1 - F_3) мали 6 (33,3 %) пацієнтів. У 12 (66,7 %) пацієнтів фіброз був відсутній (F_0). Серед хворих цієї групи цироз печінки (F_4) не був зафіксований.

Серед 59 хворих з генотипом *DD* у 32 (54,2 %) пацієнтів відзначався фіброз печінки від F_1 до F_3 стадії, у 8 (13,6 %) – цироз печінки (F_4). Разом фіброз

різної стадії (F₁-F₄) мали 40 пацієнтів (67,8 %). У 19 (32,2 %) осіб даної групи фіброз не був діагностований. Таким чином, достовірно більша частина хворих на ХГС з генотипом *DD* мали фіброз різної стадії (F₁-F₄), ніж з генотипом *CD* (67,8 проти 33,3 %, $p=0,009$, OR 4,24, 95 % CI 1,37-12,93).

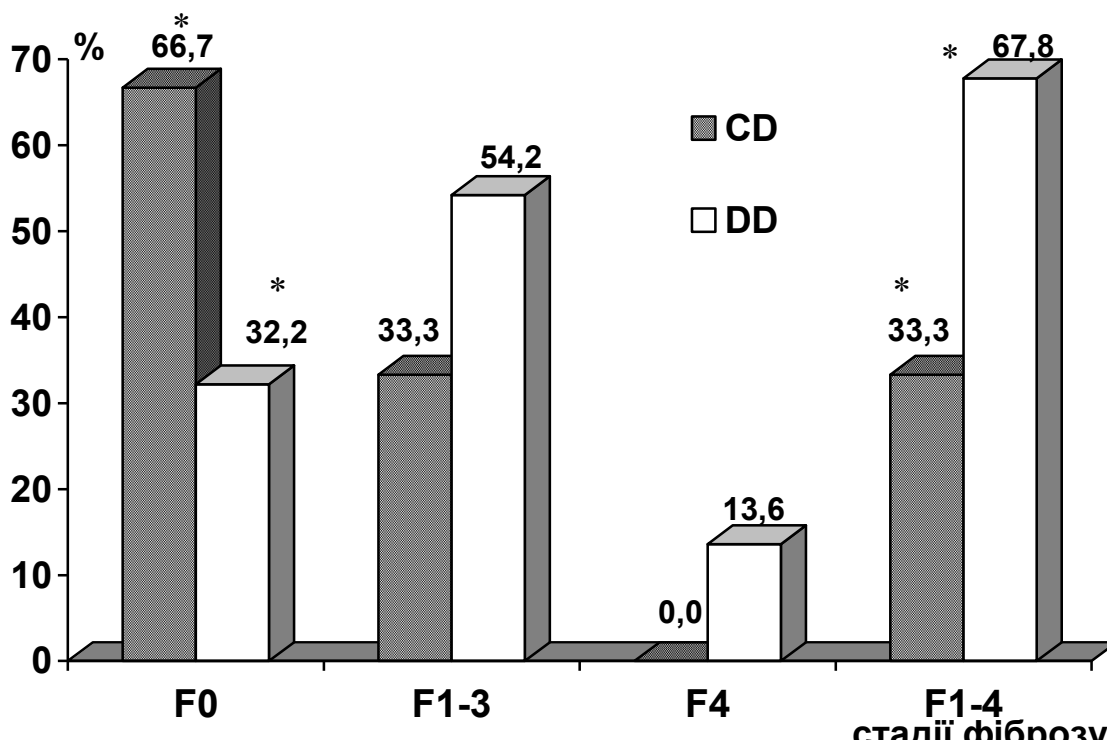


Рис. 3.2. Частота різних стадій розвитку фіброзу печінки у хворих на ХГС з генотипами *CD* та *DD*

* - достовірність між групами без фіброзу (F₀) та з фіброзними змінами (F₁₋₄), $p<0,05$

Таким чином, хворі з генотипом *DD* мали більш тяжкий перебіг ХГС, що проявлялося меншим відсотком хворих з активністю АлАТ сироватки крові у межах практично здорових осіб до початку лікування і більшим відсотком хворих із фіброзом печінки.

Підсумовуючи отримані дані, можна зробити наступні висновки:

1. Серед хворих на ХГС з генотипом *DD* за поліморфізмом *CYP2E1*6* достовірно більша частина пацієнтів мали підвищену активність АлАТ сироватки крові, ніж з генотипом *CD* (на 28,5 %). При цьому достовірних відміннос-

тей в рівнях активності АсАТ і вмісту загального білірубіну сироватки крові у даних групах не було зареєстровано.

2. У пацієнтів хворих на ХГС з генотипом *DD* на 34,5 % частіше фіксувалися фіброзно-деструктивні зміни у тканині печінки, ніж з генотипом *CD*.

3. За результатами проведеного дослідження можна констатувати, що генотип *DD* гена *CYP2E1* (поліморфізм *CYP2E1*6*) асоційовано з більш тяжким перебігом хронічного гепатиту С.

Результати досліджень даного розділу опубліковано:

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.

2. 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.

3. Остапчук К. В. Асоціація поліморфізму *CYP2E1*6* гену *CYP2E1* з ризиком розвитку та тяжкістю перебігу хронічного гепатиту С / В. В. Годован, К. В. Остапчук // Запоржский медицинский журнал. – 2014. – № 84. – С. 67–70.

4. Остапчук К. В. Роль генетичних поліморфізмів генів детоксикації ксенобіотиків у розвитку вірусного гепатиту С / К. В. Остапчук // Розвиток наукових досліджень 2011 : 7-ма між нар. науково-практ. конф., 28-30 листопада 2011 р., Полтава : матеріали. – Полтава, 2011. – С. 43–46.

5. 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 між нар. наук.-практ. конф., 17-19 травня 2012 р., Одеса : матер. – Одеса, 2012. – С. 39.

6. 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.

7. Остапчук Е. В. Ассоциация делеционных полиморфизмов генов *GSTT1* и *GSTM1* с тяжестью течения хронического гепатита С у больных с 1в 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.

8. 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 між нар. наук.-практ. конф., 29-31 травня 2013 р., Полтава : тези доп. – Полтава, 2013. – С. 83–85.

9. 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.).

10. 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.

РОЗДІЛ 4
АНАЛІЗ ЕФЕКТИВНОСТІ ІНТЕРФЕРОНОТЕРАПІЇ ХВОРИХ
НА ХГС ЗАЛЕЖНО ВІД ВИДУ ІНТЕРФЕРОНУ

Сьогодні багато уваги приділяється вивченню ефективності лікування ХГС залежно від виду інтерферону. Як наведено у розд. 1, більшість авторів встановили найбільш ефективною комбінацію пегінтерферону альфа-2а з рибавірином, ніж пегінтерферону альфа-2b [51, 56]. Ряд авторів не виявили такої закономірності [7, 52]. Тому метою наступного етапу роботи було порівняння ефективності інтерферонотерапії ХГС залежно від виду інтерферону.

Для того, щоб оцінити ефективність лікування ХГС за різними схемами залежно від виду інтерферону хворих, які проходили лікування за схемою пегінтерферон + рибавірин (33 пацієнти), поділено на 2 групи. I група – 23 особи (69,7 %), які проходили лікування пегінтерфероном- α -2а (пегасис) + рибавірином, II група - 10 осіб (30,3 %), яким призначався пегінтерферон- α -2b (пегінтрон) + рибавірин (табл. 4.1).

Таблиця 4.1

Хворі на ХГС двох груп залежно від схеми фармакотерапії

Хворі на ХГС	I група (пегінтерферон- α - 2а + рибавірин, n =23)	II група (пегінтерферон- α - 2b + рибавірин, n =10)	p
Чоловіки, n (%)	19 (82,6 %)	9 (90,0 %)	0,586
Жінки, n (%)	4 (17,4 %)	1 (10,0 %)	
Середній вік, роки	34	33	-
1b генотип вірусу, n (%)	14 (60,9 %)	7 (70,0 %)	0,616
2 генотип вірусу, n (%)	1 (4,3 %)	-	-
3a генотип вірусу, n (%)	8 (34,8 %)	3 (30,0 %)	0,789

Перша група включала 19 чоловіків та 4 жінки середнім віком 34 роки. Серед хворих цієї групи 14 осіб інфіковані вірусом з генотипом 1b, 1 пацієнт інфікований вірусом з генотипом 2 та 8 осіб – вірусом з генотипом 3a. В II групі 9 чоловіків і 1 жінка середнім віком 33 роки. Серед них 70,0 % пацієнтів інфіковані вірусом з генотипом 1b та 30,0 % – вірусом з генотипом 3a. Таким чином, підбір пацієнтів 2-х груп однорідний за співвідношенням чоловіків та жінок, а також за розподілом різних генотипів вірусів, якими інфіковані пацієнти (в усіх випадках при порівнянні хворих 2-х груп $p > 0,05$).

У хворих I і II груп проаналізовано вірусне навантаження. Дещо більша частина пацієнтів серед II групи мали високе вірусне навантаження ($> 800\,000$ МО/мл) порівняно з I групою (відповідно 70,0 і 47,8 %, $p = 0,240$). Відповідно більша частина хворих I групи мали низьке вірусне навантаження ($800\,000$ МО/мл) порівняно з II групою (52,2 проти 30,0 %, $p = 0,240$). Таким чином, обидві групи дещо неоднорідні за вірусним навантаженням до початку лікування, але різниця статистично несуттєва ($p > 0,05$).

Порівняно середні рівні активності АЛАТ сироватки крові у хворих обох груп із здоровими донорами (табл. 4.2).

Таблиця 4.2

Середній рівень активності АЛАТ (ммоль/л·год) сироватки крові
у хворих на ХГС та практично здорових донорів

№ №	Групи, що обстежувалися	Показники	Середній рівень АЛАТ
1.	Контроль (практично здорові особи, n =64)	$M \pm m$ %	$0,39 \pm 0,14$ 100
2.	I група (пегінтерферон- α -2a + рибавірин, n =23)	$M \pm m$ % (2-1) p (2-1)	$1,78 \pm 1,66$ 456,4 0,00028
3.	II група (пегінтерферон- α -2b + рибавірин, n =10)	$M \pm m$ % (3-1) p (3-1)	$1,88 \pm 1,22$ 482,1 0,00001

В обох групах середній рівень активності цього ферменту був суттєво більш високим відносно практично здорових осіб, а ступінь підвищення в обох

групах була однаковою. Так, у здорових донорів середній рівень активності АлАТ сироватки крові становив $0,39 \pm 0,14$ ммоль/л-год. Порівняно з цим показником середній рівень АлАТ сироватки крові серед хворих I групи був вище на 356,4 % ($p=0,00028$), а у пацієнтів II групи - на 382,1 % ($p=0,00001$).

Проаналізовано середні рівні біохімічних показників сироватки крові (активність АлАТ, АсАТ та вміст загального білірубіну) серед хворих двох груп (табл. 4.3). Середні рівні активності АлАТ сироватки крові у пацієнтів I та II груп становив відповідно $1,78 \pm 1,66$ та $1,88 \pm 1,22$ ммоль/л-год, $p=0,854$. Середні рівні активності АсАТ у хворих двох груп становили відповідно $0,61 \pm 0,39$ та $0,66 \pm 0,52$ ммоль/л-год, $p=0,793$. Середні рівні вмісту загального білірубіну сироватки крові серед хворих I і II груп становили відповідно $13,84 \pm 5,19$ і $20,00 \pm 13,54$ мкмоль/л, $p=0,224$. При порівнянні середніх рівнів біохімічних показників слід відмітити, що немає істотних відмінностей у середніх рівнях активності АлАТ, АсАТ та вмісту загального білірубіну сироватки крові до початку лікування ($p > 0,05$ в усіх випадках при порівнянні біохімічних показників у вибраних групах пацієнтів). Таким чином, підбір пацієнтів у обох групах однорідний за біохімічними показниками крові до початку лікування.

До початку терапії проведено також оцінку стадії розвитку фіброзу і некрозапальних змін у печінці за даними стандартного тесту «FibroMax» у двох групах хворих. Результати порівняння наведено у табл. 4.4.

Таблиця 4.3

Біохімічні показники крові у хворих на ХГС до початку лікування, $M \pm m$

Показники	I група (пегінтерферон- α -2а + рибавірин, n =23)	II група (пегінтерферон- α -2b + рибавірин, n =10)	p (I-II)
АлАТ (ммоль/л-год)	$1,78 \pm 1,66$	$1,88 \pm 1,22$	0,854
АсАТ (ммоль/л-год)	$0,61 \pm 0,39$	$0,66 \pm 0,52$	0,793
Загальний білірубін (мкмоль/л)	$13,84 \pm 5,19$	$20,00 \pm 13,54$	0,224

Стадії розвитку фіброзу печінки за даними стандартного тесту «FibroMax» у хворих на ХГС до початку лікування

Стадія фіброзу печінки за шкалою Metavir	I група (пегінтерферон- α -2а + рибавірин, n =23)	II група (пегінтерферон- α -2b + рибавірин, n =10)	p
F ₀ , n (%)	12 (52,2 %)	8 (80,0 %)	0,133
F ₁ -F ₃ , n (%)	7 (30,4 %)	-	-
F ₄ , n (%)	4 (17,4 %)	2 (20,0 %)	0,858

Серед хворих I групи у 52,2 % осіб фіброз був відсутнім (F₀ стадія розвитку фіброзу за шкалою Metavir), у 30,4 % – відзначався фіброз печінки різної стадії без цирозу (F₁-F₃ стадії за шкалою Metavir). У 17,4 % пацієнтів цієї групи був фіброз печінки з цирозом (F₄ за шкалою Metavir).

В II групі хворих фіброз був відсутній у 80,0 % осіб (F₀ стадія розвитку фіброзу за шкалою Metavir). У 20,0 % пацієнтів був фіброз з цирозом печінки (F₄). Стадії фіброзу від F₁ до F₃ не реєструвались серед пацієнтів даної групи. Немає достовірно значимої різниці у хворих двох груп з різними стадіями розвитку фіброзу ($p > 0,05$).

Враховуючи дані порівняння двох груп пацієнтів за віком, співвідношенням чоловіків і жінок та за вірусологічними, біохімічними, гістологічними показниками до початку лікування можна зробити висновок, що обрані групи однорідні за цими показниками. Тому наступним етапом дослідження був аналіз ефективності лікування залежно від виду інтерферону у даних групах.

4.1. Вірусологічна відповідь на пегінтерферонотерапію ХГС залежно від виду інтерферону

Проаналізовано вірусологічні критерії ефективності інтерферонотерапії, а саме ШВВ, РВВ, ЗВВ та ВВ у пацієнтів двох груп (табл. 4.5). Серед хворих I групи, які отримували терапію пегінтерфероном альфа-2а + рибавірином, у

26,1 % осіб вірусна РНК не визначалась через 4 тижні фармакотерапії (спостерігалась ШВВ), ще у 43,5 % пацієнтів – через 4 тижні лікування відмічалось зниження рівня вірусної РНК від вихідного значення більш, ніж в 100 разів, та через 12 тижнів фармакотерапії – РНК вірусу не визначалась (РВВ). Тобто у 69,6 % хворих I групи спостерігались РВВ або ШВВ.

Таблиця 4.5

Вірусологічна відповідь на фармакотерапію за схемами пегінтерферон альфа-2а + рибавірин та пегінтерферон альфа-2b + рибавірин, n (%)

Критерії вірусологічної відповіді	I група (пегінтерферон- α -2а + рибавірин, n=23)	II група (пегінтерферон- α -2b + рибавірин, n=10)	p (I-II)
ШВВ	6 (26,1 %)	-	-
РВВ	10 (43,5 %)	3 (30,0 %)	0,466
УВВ	5 (21,8 %)	5 (50,0 %)	0,104
ВВ	2 (8,7 %)	2 (20,0 %)	0,361
ШВВ+РВВ	16 (69,6 %)	3 (30,0 %)	0,035
УВВ+ВВ	7 (30,4 %)	7 (70,0 %)	

У 21,8 % пацієнтів I групи через 4 тижня лікування рівень вірусної РНК суттєво не змінився, через 12 тижнів відмічалось суттєве зниження вірусної РНК (більш ніж в 100 разів) від попереднього значення (часткова РВВ) та через 24 тижні фармакотерапії РНК вірусу у крові не відмічалась (УВВ).

У 8,7 % хворих I групи відмічалась безперервна вірусемія протягом 24 тижнів лікування (ВВ). У цих пацієнтів через 24 тижні лікування було припинено інтерферонотерапію у зв'язку з її неефективністю. Таким чином, серед хворих I групи у 30,4 % осіб спостерігались УВВ та ВВ.

Серед хворих, які проходили фармакотерапію за схемою пегінтерферон- α -2b + рибавірин (II група хворих), жоден з пацієнтів не досяг вірусологічної відповіді через 4 тижні лікування. У 30,0 % хворих цієї групи РНК вірусу у

крові була відсутня через 12 тижнів терапії (РВВ). У 50,0 % пацієнтів через 12 тижнів лікування спостерігалось суттєве зниження рівня вірусної РНК (більш ніж в 100 разів) та через 24 тижні зафіксована відсутність РНК вірусу у крові (УВВ). У 20,0 % осіб цієї групи зафіксована безперервна вірусемія (ВВ) протягом 24 тижнів лікування та припинена фармакотерапія у зв'язку з її неефективністю. Таким чином, серед хворих II групи у 70,0 % спостерігались УВВ та ВВ.

Отже, в групі хворих, які проходили лікування за схемою пегінтерферон альфа-2а + рибавірин, у значно більшої частини пацієнтів спостерігалися ШВВ+РВВ, ніж у хворих, яким призначалась терапія пегінтерферон альфа-2b + рибавірин, відповідно 69,6 проти 30,0 %, $p=0,035$ (рис. 4.1).

Натомість серед хворих, які проходили лікування за схемою пегінтерферон альфа-2b+рибавірин (II група), значно частіше спостерігались УВВ та ВВ, ніж у групі, які проходили терапію за схемою пегінтерферон альфа-2а + рибавірин (70,0 і 30,4 % відповідно, $p=0,035$). Отже, у хворих на ХГС, які проходили лікування за схемою пегінтерферон альфа-2а + рибавірин, частіше спостерігалась вірусологічна відповідь на проведену фармакотерапію, ніж у хворих, які лікувались за схемою пегінтерферон альфа-2b + рибавірин.

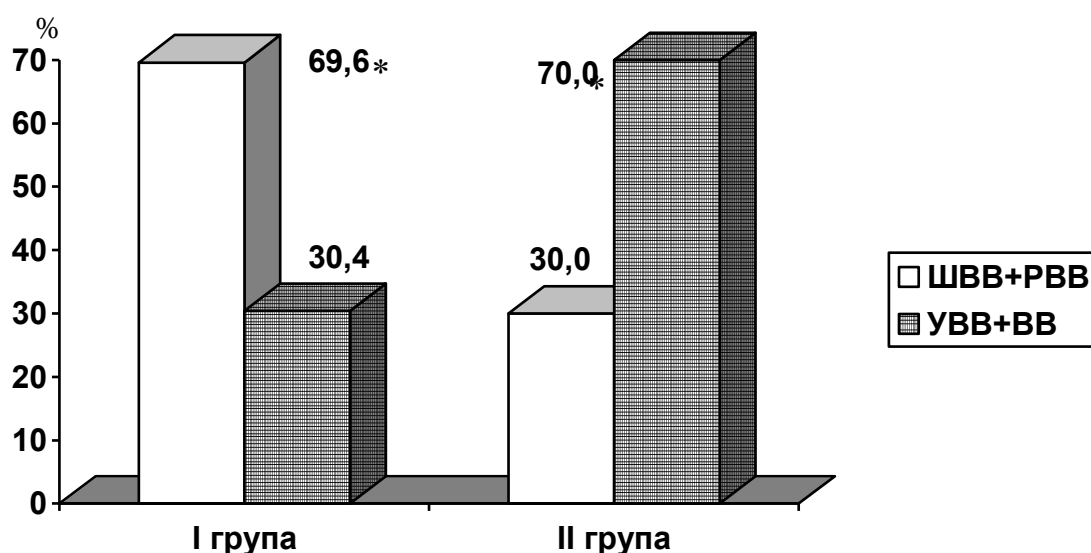


Рис 4.1. Вірусологічні критерії ефективності інтерферонотерапії при використанні пегінтерферонів альфа-2а (I група) та альфа-2b (II група)
У рис. 4.1-4.4: * - достовірність між пацієнтами I і II групи, $p<0,05$

Проаналізовано вірусологічну відповідь на пегінтерферонотерапію у хворих, інфікованих вірусами з різними генотипами залежно від виду інтерферону (див. рис. 4.2).

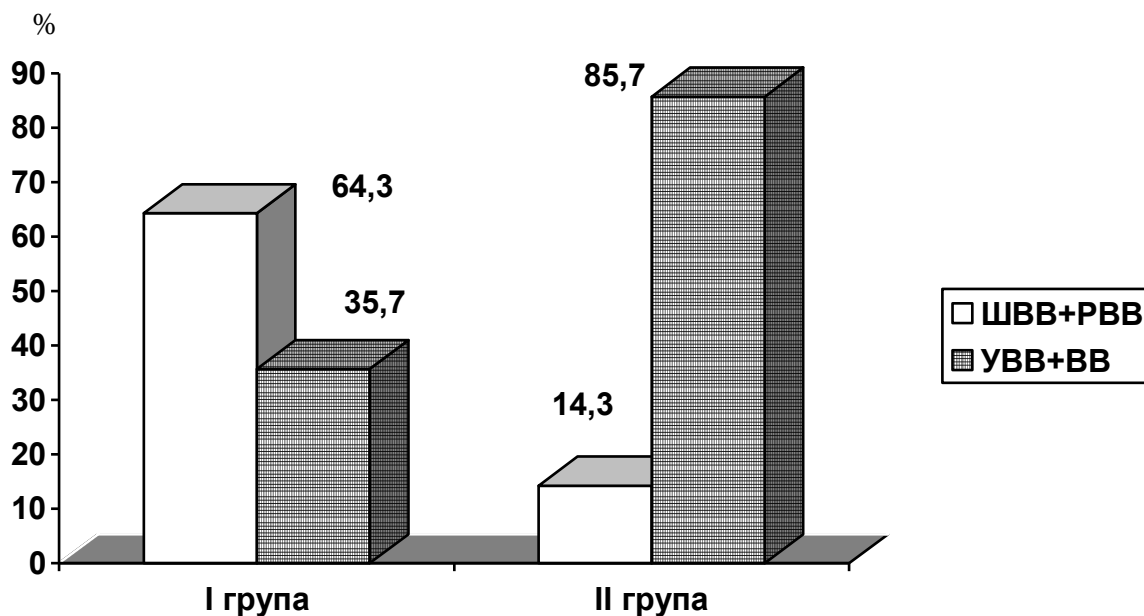


Рис. 4.2. Вірусологічні критерії ефективності інтерферонотерапії у хворих двох груп, інфікованих вірусом з генотипом 1b

У I групі серед пацієнтів, інфікованих вірусом з генотипом 1b (14 осіб), у 64,3 % спостерігались ШВВ або РВВ, у 21,4 % – УВВ та у 14,3 % вірусологічна відповідь на проведену інтерферонотерапію була відсутня (рис 4.2). У II групі хворих серед пацієнтів, інфікованих вірусом з генотипом 1b (7 осіб), 14,3% досягали РВВ, 57,1 % – УВВ і 28,6 % – ВВ.

Усі пацієнти I групи, які інфіковані вірусом з генотипом 3a (8 хворих), мали вірусологічну відповідь на проведену терапію. Швидка та рання вірусологічні відповіді відмічались у 87,5 % хворих та у 12,5 % пацієнтів – УВВ (рис. 4.3). Серед пацієнтів II групи, інфікованих вірусом з генотипом 3a (3 осіб), у 66,7 % пацієнтів спостерігалась РВВ та у 33,3 % – УВВ (див. рис. 4.3). У єдиного пацієнта II групи, інфікованого вірусом з генотипом 2, спостерігалась УВВ.

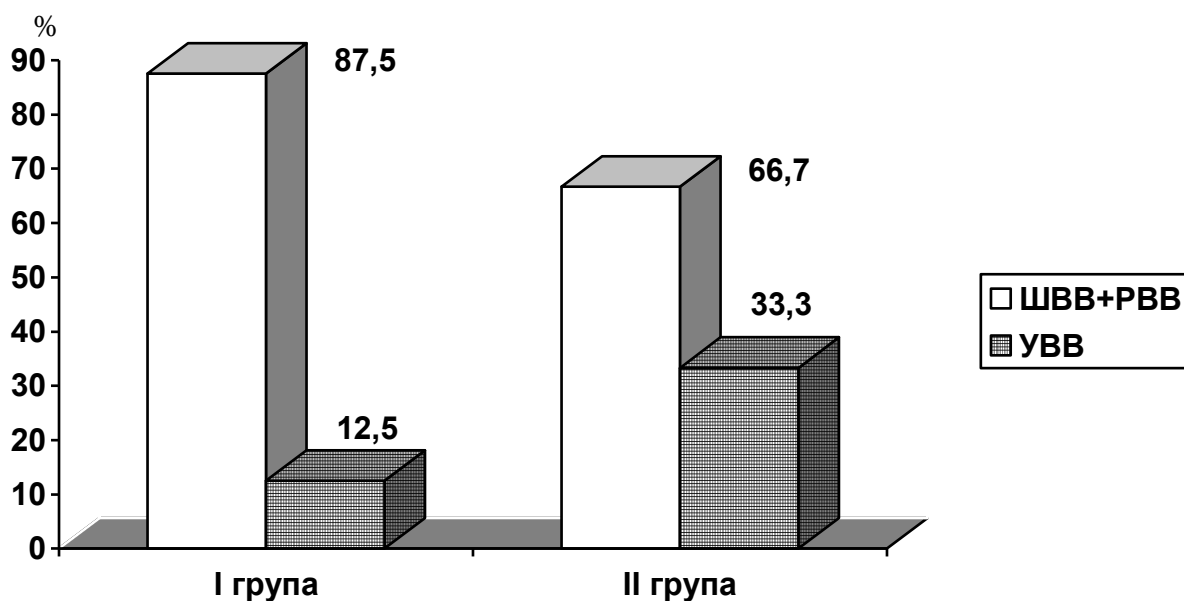


Рис. 4.3. Вірусологічні критерії ефективності інтерферотерапії у хворих на ХГС, інфікованих вірусом з генотипом 3а

Таким чином, в обох групах більша частина пацієнтів, інфікованих вірусом з генотипом 3а, досягли ШВВ або РВВ, ніж хворі, інфіковані вірусом з генотипом 1b. Це збігається з даними літератури - у хворих, інфікованих вірусом з генотипом 3а інтерферотерапія більш ефективна, ніж у хворих, які інфіковані вірусом з генотипом 1b [32-34]. Також слід зауважити, що вірусологічна відповідь у хворих, інфікованих вірусом з генотипом 3а, не залежить від виду інтерферону.

При порівнянні частоти хворих з 1b генотипом вірусу, які досягли ШВВ або РВВ серед пацієнтів I та II груп, виявлено, що хворі, інфіковані вірусом з генотипом 1b, частіше досягають ШВВ або РВВ при застосуванні пегінтерферону альфа-2а, ніж пегінтерферону альфа-2b (64,3 і 14,3 % відповідно, $p=0,031$ (рис. 4.4.).

При аналізі отриманих даних можна дійти висновку, що лікування хворих, інфікованих вірусом з генотипом 1b, більш ефективно при використанні пегінтерферону альфа-2а.

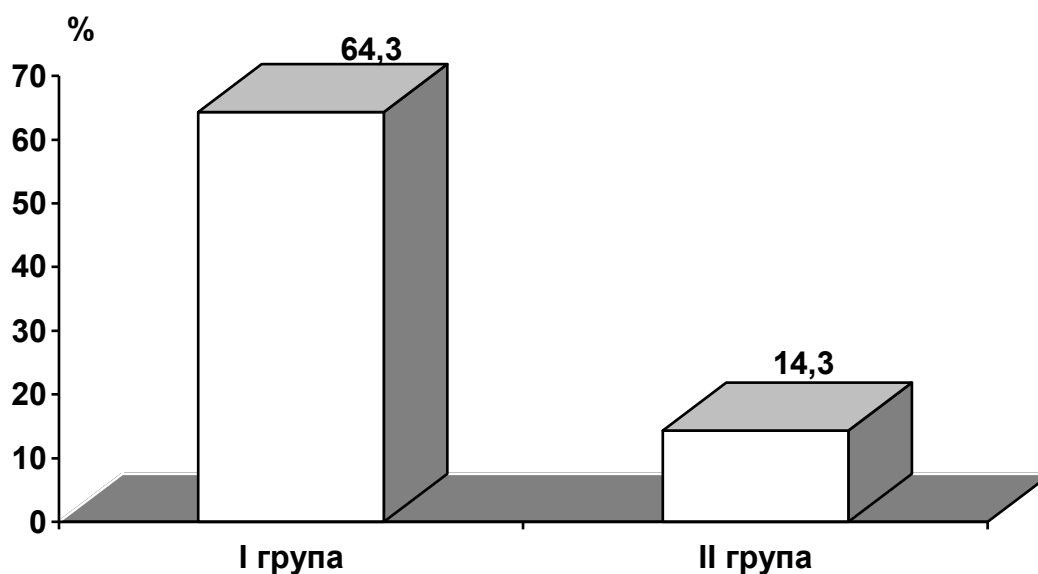


Рис. 4.4. Хворі на ХГС, інфіковані вірусом з генотипом 1b, які проходили лікування з використанням пегінтерферонів альфа-2а (I група) або альфа-2b (II група) та досягли швидку або ранню вірусологічну відповіді

4.2. Біохімічна відповідь на пегінтерферонотерапію ХГС залежно від виду інтерферону

Проведено оцінку зміни середнього рівня біохімічних показників сироватки крові (активність АлАТ, АсАТ та вміст загального білірубіну) у хворих 2-х груп через 12 та 24 тижні лікування. Спочатку проаналізовано зміну середнього рівня активності АлАТ у хворих відносно показників до лікування та практично здорових донорів (контролю). Результати наведено у табл. 4.6. До початку лікування середній рівень активності АлАТ сироватки крові в I групі хворих був на 356,4 % достовірно вищим, ніж у здорових донорів. Через 12 тижнів цей показник також достовірно перевищував середній рівень активності АлАТ здорових осіб на 112,8 % та через 24 тижні цей показник у хворих на ХГС був вищим, ніж у здорових мешканців на 25,6 % ($p=0,098$).

У хворих II групи до початку лікування середній рівень активності АлАТ сироватки крові достовірно перевищував контрольний показник на 382,1 %. У

процесі лікування у хворих цієї групи спостерігалось більш швидке відновлення цього ферменту порівняно з хворими I групи.

Таблиця 4.6

Динаміка середніх рівнів активності АлАТ сироватки крові (ммоль/л·год) у хворих на ХГС залежно від виду інтерферонотерапії

№ №	Термін визначення	Показники	Групи хворих		p (I-II)
			I група (пегінтерферон- α -2a + рибавірин, n=23)	II група (пегінтерферон- α -2b + рибавірин, n=10)	
1.	Контроль (практично здорові, n =64)	M \pm m %	0,39 \pm 0,14 100		-
2.	До початку лікування	M \pm m % (2-1) p (2-1)	1,78 \pm 1,66 456,4 0,00028	1,88 \pm 1,22 482,1 0,0001	0,854
3.	Через 12 тижнів лікування	M \pm m % (3-1) p (3-1)	0,83 \pm 0,75 212,8 0,001	0,52 \pm 0,14 133,3 0,0024	0,137
4.	Через 24 тижня лікуванні	M \pm m % (4-1) p (4-1)	0,49 \pm 0,35 125,6 0,098	0,43 \pm 0,19 110,2 0,111	0,391

Так, через 12 тижнів середній рівень активності АлАТ відрізнявся від контролю на 33,3 % (p=0,0024) та через 24 тижня – на 10,2 % (p=0,111). Через 24 тижня фармакотерапії середні рівні активності АлАТ сироватки крові у хворих обох груп вкладалися в рамки загальновизнаного «нормального» рівня АлАТ (0,1-0,68 ммоль/л·год). Але привертає на себе увагу те, що в обох групах хворих не було досягнуто середнього рівня активності АлАТ, притаманного контрольній групі (див. табл. 4.6).

При порівнянні середніх рівнів активності АлАТ сироватки крові між хворими двох груп до початку лікування, через 12 та 24 тижні терапії не виявлено статистично достовірних відмінностей (табл 4.7).

Біохімічна відповідь хворих на ХГС на фармакотерапію залежно
від виду інтерферонотерапії ($M \pm m$)

Показники	I група (пегінтерферон- α -2а + рибавірин, n=23)	II група (пегінтерферон- α -2b + рибавірин, n=10)	p (I-II)
Через 12 тижнів лікування			
АлАТ (ммоль/л·год)	0,83 \pm 0,75	0,52 \pm 0,14	0,137
АсАТ (ммоль/л·год)	0,28 \pm 0,13	0,23 \pm 0,11	0,321
Загальний білірубін (мкмоль/л)	16,79 \pm 6,61	18,83 \pm 8,26	0,577
Через 24 тижні лікування			
АлАТ (ммоль/л·год)	0,49 \pm 0,35*	0,43 \pm 0,19	0,391
АсАТ (ммоль/л·год)	0,26 \pm 0,17	0,23 \pm 0,12	0,692
Загальний білірубін (мкмоль/л)	13,70 \pm 5,79	18,83 \pm 10,59	0,226

Примітка: * - достовірність порівняно з 12 тижнями лікування ($p < 0,05$)

Також не відзначалось істотних відмінностей (в усіх випадках $p > 0,05$) при порівнянні середніх рівнів активності АсАТ та вмісту загального білірубіну сироватки крові у пацієнтів I та II групи до лікування, через 12 та 24 тижні терапії (див. табл. 4.7). Відновлення рівня біохімічних показників через 24 тижні лікування спостерігалась у 73,9 % з I групи та 70,0 % пацієнтів з II групи ($p = 0,817$). Таким чином, не було істотних відмінностей у біохімічній відповіді у хворих на ХГС на фармакотерапію за двома схемами.

Наступним етапом перевірено вплив генотипу вірусу на біохімічну відповідь у двох групах хворих. Порівняно середні рівні активності АлАТ сироватки крові через 12 та 24 тижні лікування у хворих двох груп, інфікованих вірусом з генотипом 1b. У хворих I групи через 12 тижнів лікування цей показник становив $0,87 \pm 0,71$ ммоль/л·год, у пацієнтів II групи – $0,48 \pm 0,14$, $p = 0,211$. Через 24 тижня – $0,57 \pm 0,44$ ммоль/л·год для I групи та $0,73 \pm 0,67$ ммоль/л·год для II групи, $p = 0,547$.

Порівняно середні рівні активності АлАТ сироватки крові через 12 і 24 тижні лікування у хворих двох груп, інфікованих вірусом з генотипом 3а. Через 12 тижнів лікування середній рівень активності АлАТ становив $0,63 \pm 0,28$ ммоль/л·год для хворих I групи та $0,45 \pm 0,01$ для II групи, $p=0,322$. Через 24 тижні – $0,57 \pm 0,28$ ммоль/л·год для I та $0,42 \pm 0,24$ для II групи, $p=0,433$.

При порівнянні середнього рівня активності АлАТ сироватки крові через 12 та 24 тижні лікування у хворих з різними генотипами вірусу у межах однієї групи теж не виявлено істотних відмінностей. Так, серед хворих I групи, інфікованих вірусами з 1b та 3а генотипами, не було істотних відмінностей у середньому рівні активності АлАТ ні через 12 тижнів (відповідно $0,87 \pm 0,7$ і $0,63 \pm 0,28$ ммоль/л·год, $p=0,381$), ні через 24 тижні лікування ($0,57 \pm 0,44$ проти $0,57 \pm 0,28$ ммоль/л·год, $p=0,979$). Серед хворих II групи, інфікованих вірусами з 1b та 3а генотипами, теж немає істотних відмінностей у середньому рівні активності АлАТ ні через 12 тижнів ($0,48 \pm 0,14$ і $0,45 \pm 0,01$ ммоль/л·год відповідно, $p=0,742$), ні через 24 тижні ($0,73 \pm 0,67$ проти $0,42 \pm 0,24$ ммоль/л·год, $p=0,461$). Таким чином, не відмічалось суттєвої різниці у біохімічній відповіді на фармакотерапію залежно від виду інтерферонів (α -2a та α -2b) у хворих змішаної групи (інфікованих вірусами з генотипами 1b і 3а). Немає відмінностей у біохімічних показниках хворих двох груп залежно від генотипу вірусу.

Аналіз ефективності лікування хворих на ХГС за схемою пегінтерферон і рибавірин показав, що схема фармакотерапії пегінтерфероном альфа-2a + рибавірином більш ефективна, ніж пегінтерфероном альфа-2b і рибавірином. При використанні пегінтерферону альфа-2a у значно більшої частини пацієнтів спостерігались ШВВ+РВВ, ніж у хворих, яким призначалась терапія пегінтерфероном альфа-2b (69,9 проти 30,0 %, $p=0,035$). Але, слід зауважити, що ця закономірність специфічна для хворих, інфікованих вірусом з генотипом 1b. У пацієнтів, інфікованих вірусом з генотипом 3а, вірусологічна відповідь не залежала від виду інтерферону.

Необхідно також підкреслити, що більша ефективність лікування пегінтерфероном альфа-2a + рибавірином порівняно з пегінтерфероном альфа-2b +

рибавірином проявляється у швидкості вірусологічної відповіді. Не виявлено статистично значимої різниці у біохімічної відповіді в даних групах.

Сумуючи отримані дані, можна зробити наступні висновки.

1. Хворі, які проходили лікування за схемою пегінтерферон альфа-2а + рибавірин, значно частіше досягали ШВВ+РВВ, ніж хворі, які лікувалися за схемою пегінтерферон альфа-2b + рибавірин.

2. У хворих, інфікованих вірусом з генотипом 3а, частіше спостерігались БВВ+РВВ, ніж у хворих, інфікованих вірусом з генотипом 1b.

3. У хворих, які інфіковані вірусом з генотипом 1b, кращі результати вірусологічної відповіді спостерігались при лікуванні за схемою пегінтерферон альфа-2а + рибавірин ніж пегінтерферон альфа-2b + рибавірин.

4. У хворих, інфікованих вірусом з генотипом 3а, не виявили істотних відмінностей у біохімічній відповіді при використанні пегінтерферону альфа-2а + рибавірину та пегінтерферону альфа-2b + рибавірину.

5. Не було істотних відмінностей у біохімічній відповіді у хворих, які проходили лікування за схемами пегінтерферон альфа-2а + рибавірин та пегінтерферон альфа-2b + рибавірин.

6. Не було істотних відмінностей у біохімічній відповіді на проведену фармакотерапію у хворих, які інфіковані вірусами 1b та 3а.

Результати досліджень даного розділу знайшли відображення:

1. 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.

2. 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.

РОЗДІЛ 5
АНАЛІЗ ЕФЕКТИВНОСТІ ФАРМАКОТЕРАПІЇ ХВОРИХ НА ХГС
ЗАЛЕЖНО ВІД ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНІВ ФЕРМЕНТІВ ДЕТОКСИКАЦІЇ
КСЕНОБІОТИКІВ

5.1. Ефективність лікування ХГС за схемою пегінтерферон і рибавірин
залежно від поліморфізму генів *GSTs*

Однією з причин варіабельності ефективності фармакотерапії у різних пацієнтів є генетична детермінованість виразності фармакологічного впливу. Оскільки попередніми дослідженнями визначена асоціація ризику розвитку ХГС з делеційним поліморфізмом *GSTM1* та тяжкістю перебігу захворювання з поліморфізмами генів *CYP2E1* та *GSTM1*, вважаємо доцільним вивчити асоціацію поліморфізмів генів ферментів детоксикації ксенобіотиків з ефективністю лікування ХГС за різними схемами.

5.1.1. Залежність ефективності пегінтерферонотерапії ХГС від
делеційного поліморфізму генів *GSTT1* і *GSTM1*

Проаналізовано вплив делеційних поліморфізмів генів *GSTT1* і *GSTM1* на ефективність лікування хворих на ХГС за схемою пегінтерферон+рибавірин (до цього дослідження залучені пацієнти, які проходили лікування пегінтерфероном альфа-2а та 2b внаслідок невеликої кількості хворих обох груп). За даними проведеного молекулярно-генетичного дослідження частоти поліморфізму генів *GSTT1* і *GSTM1* у хворих, які проходили лікування за даними схемами фармакотерапії, наведено у табл. 5.1. У хворих I групи, які проходили лікування ХГС за схемою пегінтерферон α -2а + рибавірин, генотип *GSTT1*+ мали 18 (78,3 %) осіб, *GSTT1null* – 5 (21,7 %); генотип *GSTM1*+ визначили у 16 (69,6 %) та *GSTM1null* – 7 (30,4 %) хворих. Комбінація генотипів *GSTT1null/GSTM1null* зустрілася у 2 (8,7 %) хворих, *GSTT1+/GSTM1+* – 13

(56,5 %), *GSTT1null/GSTM1+* – 3 (13,1%) та *GSTT1+/GSTM1null* – 5 (21,7 %) пацієнтів.

Таблиця 5.1

Частота делеційних поліморфізмів *GSTT1* і *GSTM1* у хворих на ХГС, які проходили лікування пегінтерфероном альфа-2а/2b і рибавірином, n (%)

Генотипи хворих	I група (пегінтерферон α-2а + рибавірин, n=23)	II група (пегінтерферон α-2b + рибавірин, n=10)	Змішана група (пегінтерферон α-2а або 2b + рибавірин, n=33)
<i>GSTT1+</i>	18 (78,3 %)	9 (90,0 %)	27 (81,1 %)
<i>GSTT1null</i>	5 (21,7 %)	1 (10,0 %)	6 (18,2 %)
<i>GSTM1+</i>	16 (69,6 %)	7 (70,0 %)	23 (69,7 %)
<i>GSTM1null</i>	7 (30,4 %)	3 (30,0 %)	10 (30,3 %)
<i>GSTT1null/GSTM1null</i>	2 (8,7 %)	-	2 (6,1 %)
<i>GSTT1+/GSTM1+</i>	13 (56,5 %)	6 (60,0 %)	19 (57,6 %)
<i>GSTT1null/GSTM1+</i>	3 (13,1 %)	1 (10,0 %)	4 (12,1 %)
<i>GSTT1+/GSTM1null</i>	5 (21,7 %)	3 (30,0 %)	8 (24,2 %)

Серед пацієнтів II групи, які проходили лікування за схемою пегінтерферон α-2b + рибавірин, генотипи *GSTT1+* і *GSTT1null* мали відповідно 9 (90,0%) та 1 (10,0 %) хворих; генотип *GSTM1+* - 7 (70,0 %) пацієнтів і *GSTM1null* – 3 (30,0 %). Комбінацію *GSTT1+/GSTM1+* визначили у 6 (60,0 %) пацієнтів, *GSTT1null/GSTM1+* – 1 (10,0 %) хворого та *GSTT1+/GSTM1null* – 3 (30,0 %). Комбінацію генотипів *GSTT1null/GSTM1null* не мав жоден з пацієнтів з цієї групи.

Частоти поліморфізмів генів *GSTT1* та *GSTM1* суттєво не відрізнялись у хворих двох груп ($p > 0,05$). Внаслідок невеликої кількості хворих II групи важко оцінити вплив поліморфізмів генів *GSTT1* та *GSTM1* на ефективність лікування (тільки 1 пацієнт з генотипом *GSTT1null* і 3 – з генотипом *GSTM1null*, жодного пацієнта з комбінацією генотипів *GSTT1null/GSTM1null*). Тому було

поєднано хворих обох груп в одну, які проходили лікування за допомогою пегінтерферону (двох видів) у комбінації з рибавірином (33 пацієнти). У поєднаній групі хворих генотип *GSTT1*⁺ мали 27 (81,8 %) осіб, генотип *GSTM1null* – 6 (18,2 %); генотип *GSTM1*⁺ – 23 (69,7 %) хворих та генотип *GSTM1null* – 10 (30,3 %). Комбінацію генотипів *GSTT1null/GSTM1null* мали 2 (6,1 %) хворих, *GSTT1*⁺/*GSTM1*⁺ – 19 (57,6 %), *GSTT1null/GSTM1*⁺ – 4 (12,1 %) хворих та 8 (24,2 %) пацієнтів мали комбінацію генотипів *GSTT1*⁺/*GSTM1null*.

Першим етапом даного розділу роботи проаналізовано вірусологічну відповідь на пегінтерферонотерапію (табл 5.2).

Таблиця 5.2

Вірусологічна відповідь на фармакотерапію за схемою пегінтерферон+ рибавірин залежно від генотипу хворих за генами *GSTT1* та *GSTM1*, n (%)

Генотип хворих	ШВВ+РВВ	УВВ	ВВ
<i>GSTT1</i>			
<i>GSTT1</i> ⁺ (n=27)	14 (51,8 %)	9 (33,4 %)	4 (14,8 %)
<i>GSTT1null</i> (n=6)	3 (50,00 %)	3 (50,00 %)	-
<i>GSTM1</i>			
<i>GSTM1</i> ⁺ (n=23)	12 (52,2 %)	7 (30,4 %)	4 (17,4 %)
<i>GSTM1null</i> (n=10)	5 (50,0 %)	5 (50,0 %)	-
Комбінації генотипів <i>GSTT1</i> та <i>GSTM1</i>			
<i>GSTT1null/GSTM1null</i> (n=2)	1 (50,0 %)	1 (50,0 %)	-
<i>GSTT1</i> ⁺ / <i>GSTM1</i> ⁺ (n=19)	10 (52,6 %)	5 (26,3 %)	4 (21,1 %)
<i>GSTT1null/GSTM1</i> ⁺ (n=4)	2 (50,0 %)	2 (50,0 %)	-
<i>GSTT1</i> ⁺ / <i>GSTM1null</i> (n =8)	4 (50,0 %)	4 (50,0 %)	-

Серед хворих з генотипом *GSTT1*⁺ вірусологічна відповідь на інтерферонотерапію у вигляді ШВВ або РВВ зустрічалась у 14 (51,8 %) осіб, УВВ – у 9 (33,4 %) та ВВ у 4 (14,8 %) пацієнтів. Отже УВВ та ВВ серед пацієнтів з цим генотипом відзначались у 13 (48,2 %) осіб.

У пацієнтів з генотипом *GSTT1null* ШВВ або РВВ спостерігались у 3 (50,0%) хворих та у 3 (50,0 %) – УВВ. У жодного пацієнта з генотипом *GSTT1null* не відмічалась відсутність вірусологічної відповіді на проведену інтерферонотерапію. При порівнянні хворих з різними генотипами *GSTT1*, які мали ШВВ+РВВ та УВВ+ВВ, не виявлено статистично достовірних відмінностей ($p=0,775$). Таким чином, делеційний поліморфізм *GSTT1* не впливав на вірусологічну відповідь при лікуванні ХГС за схемою пегінтерферон+рибавірин.

Серед хворих на ХГС з генотипом *GSTM1+* ШВВ або РВВ зустрічалась у 12 (52,2 %) пацієнтів, УВВ – у 7 (30,4 %). Вірусологічна відповідь на проведену фармакотерапію була відсутня (ВВ) у 4 (20,0 %) осіб. Отже, УВВ або ВВ зустрічались у 11 (47,8 %) хворих, які мали генотип *GSTM1+*.

Серед хворих з генотипом *GSTM1null* 5 пацієнтів (50,0 %) мали ШВВ або РВВ та 5 (50,0 %) – УВВ. Серед пацієнтів з генотипом *GSTM1null* не спостерігалась відсутність відповіді на інтерферонотерапію. При порівнянні хворих з різними генотипами за геном *GSTM1* не виявлено статистично достовірних відмінностей у частоті пацієнтів, які мали ШВВ+РВВ та УВВ+ВВ ($p=0,909$). Таким чином, поліморфізм *GSTM1* не впливав на вірусологічну відповідь при лікуванні ХГС за схемою пегінтерферон+рибавірин.

Але, привертає на себе увагу те, що відсутність вірусологічної відповіді спостерігалась тільки у хворих, які мали комбінацію генотипів *GSTT1+/GSTM1+*.

Наступним етапом проаналізовано динаміку біохімічних показників сироватки крові (АлАТ, АсАТ, загального білірубіну) у хворих з різними генотипами *GSTT1* та *GSTM1* до початку лікування, через 12 та 24 тижні терапії порівняно з даними до лікування та здоровими донорами.

Серед здорових осіб з генотипами *GSTT1+* та *GSTT1null* середній рівень активності АлАТ сироватки крові достовірно не відрізнявся та становив в обох випадках $0,39 \pm 0,14$ ммоль/л·год (табл 5.3). До початку лікування середній рівень АлАТ сироватки крові у хворих на ХГС з генотипами *GSTT1+* та *GSTT1null* становили відповідно $1,72 \pm 0,29$ і $1,99 \pm 1,27$ ммоль/л·год, $p=0,132$.

Динаміка активності АЛАТ (ммоль/л·год) сироватки крові при фармакотерапії хворих на ХГС за схемою пегінтерферон+рибавірин залежно від генотипу за геном *GSTT1*

№ №	Термін визначення	Показники	Генотипи осіб		p (<i>GSTT1+</i> і <i>GSTT1null</i>)
			<i>GSTT1+</i> (n=27)	<i>GSTT1null</i> (n=6)	
1.	Контроль (практично здорові, n=64)	M±m %	0,39±0,14 100	0,39±0,14 100	0,919
2.	Хворі до початку лікування	M±m % (2-1) p (2-1)	1,72±0,29 441,0 0,003	1,99±1,27 510,2 0,005	0,132
3.	Через 12 тижнів лікування	M±m % (3-1) p (3-1)	0,72±0,47 184,6 0,001	0,81±0,85 207,7 0,029	0,482
4.	Через 24 тижня лікування	M±m % (4-1) p (4-1)	0,67±0,58 171,8 0,021	0,71±0,48 182,1 0,048	0,554

Причому у хворих з генотипом *GSTT1+* активність цього ферменту була на 341,0 % вище ніж у здорових донорів (p=0,003). У пацієнтів з генотипом *GSTT1null* цей показник до лікування був вищим, ніж контрольного на 410,2 % (p=0,005).

Через 12 тижнів лікування середній рівень активності АЛАТ у хворих з генотипами *GSTT1+* та *GSTT1null* зменшився відповідно на 256,4 і 302,5 % та статистично не відрізнявся: 0,72±0,47 ммоль/л·год у хворих з генотипом *GSTT1+* та 0,81±0,85 ммоль/л·год у хворих з генотипом *GSTT1null*, p=0,482.

Через 24 тижні середні рівні активності цього ферменту у сироватці крові зменшились на 12,8 % у пацієнтів з генотипом *GSTT1+* і на 25,6 % у хворих з генотипом *GSTT1+* порівняно з попереднім показником та становили для пацієнтів з генотипами *GSTT1+* та *GSTT1null* відповідно 0,67±0,58 та 0,71±0,48 ммоль/л·год, p=0,554, що на 84,6 та 107,7 % перевершувало рівні здорових осіб (p<0,05). Таким чином, не було істотних відмінностей у динаміці середнього

рівня АлАТ сироватки крові у хворих з генотипами *GSTM1+* та *GSTM1null*, які лікувались за схемою пегінтерферон+рибавірин.

Середній рівень активності АлАТ у здорових донорів та його динаміка у хворих з поліморфізмами *GSTM1+* та *GSTM1null* наведено у табл. 5.4.

Таблиця 5.4

Динаміка активності АлАТ (ммоль/л·год) сироватки крові при фармакотерапії хворих на ХГС за схемою пегінтерферон+рибавірин залежно від генотипу за геном *GSTM1*

№ №	Термін визначення	Показ- ники	Генотипи осіб, що обстежено		p (<i>GSTM1+</i> та <i>GSTM1null</i>)
			<i>GSTM1+</i> (n=23)	<i>GSTM1null</i> (n=10)	
1.	Контроль (практично здорові? n=64)	M±m %	0,41±0,14 100	0,39±0,14 100	0,585
2.	Хворі до початку лікування	M±m % (2-1) p (2-1)	1,41±0,99 343,9 0,00001	2,64±1,47 676,9 0,0006	p=0,012
3.	Через 12 тижнів лікування	M±m % (3-1) p (3-1)	0,74±0,49 180,5 0,0021	0,86±0,81 228,2 0,013	0,573
4.	Через 24 тижня лікуванні	M±m % (4-1) p (4-1)	0,65±0,49 158,5 0,029	0,52±0,45 133,3 0,039	0,189

У осіб контрольної групи з генотипами *GSTM1+* та *GSTM1null* не було значних відмінностей у середньому рівні активності АлАТ (відповідно 0,41±0,14 та 0,39±0,14 ммоль/л·год, p=0,585). До початку лікування у хворих з генотипом *GSTM1null* відмічався значно вищий рівень АлАТ, ніж у осіб з генотипом *GSTM1+* (2,64±1,47 проти 1,41±0,99 ммоль/л·год, p=0,012). Це збігається з даними, які отримані для загальної групи хворих на ХГС.

Через 12 тижнів лікування у хворих з різними генотипами *GSTM1* не відмічалось істотних відмінностей у середньому рівні активності АлАТ сироватки крові (p=0,573). Активність цього ферменту достовірно зменшилась порів-

няно з попередніми показниками на 163,4 % для пацієнтів з генотипом *GSTM1+* та на 451,7 % для пацієнтів з генотипом *GSTM1null*.

Через 24 тижні лікування також не спостерігалось істотних відмінностей у середньому рівні АлАТ сироватки крові у пацієнтів з генотипами *GSTM1+* та *GSTM1null* (відповідно $0,65 \pm 0,49$ і $0,52 \pm 0,45$ ммоль/л·год, $p=0,189$). Цей показник зменшився на 22,0 % у хворих з генотипом *GSTM1+* і на 94,9 % з генотипом *GSTM1null*. Через 24 тижні терапії у хворих на ХГС з різними генотипами за геном *GSTM1* середній рівень був у межі, характерній для здорових осіб, але статистично вищим за ці показники у здорових донорів з відповідними генотипами (на 58,5 % вище для пацієнтів з генотипом *GSTM1+* ($p=0,029$) та на 33,3 % вище для хворих з генотипом *GSTM1null* ($p=0,039$)).

Аналогічна картина спостерігалась при аналізі середніх рівнів активності АсАТ та вмісту загального білірубіну сироватки крові у пацієнтів з різними генотипами *GSTT1* та *GSTM1*. А саме, до початку лікування середні рівні АсАТ у хворих з генотипами *GSTT1+* та *GSTT1null* становили $0,82 \pm 0,60$ та $0,70 \pm 0,69$ ммоль/л·год ($p=0,698$), через 12 тижнів ці показники зменшились відповідно на 59,7 та 44,3 % ($0,33 \pm 0,21$ та $0,39 \pm 0,12$ ммоль/л·год, $p=0,429$). Через 24 тижня фармакотерапії середні рівні активності АсАТ у хворих з генотипами *GSTT1+* та *GSTT1null* становили відповідно $0,24 \pm 0,17$ і $0,23 \pm 0,14$ ммоль/л·год, $p=0,857$).

Середні рівні вмісту білірубіну сироватки крові у хворих з генотипами *GSTT1+* та *GSTT1null* до початку лікування становили відповідно $16,41 \pm 11,40$ і $15,29 \pm 5,00$ мкмоль/л ($p=0,638$), через 12 тижнів – $16,81 \pm 7,90$ і $18,2 \pm 6,40$ мкмоль/л ($p=0,473$) та через 24 тижні фармакотерапії – $15,31 \pm 5,10$ і $17,30 \pm 10,3$ мкмоль/л ($p=0,138$).

У хворих з генотипом *GSTM1null* до початку лікування спостерігались суттєво більш високі середні рівні активності АсАТ та вмісту загального білірубіну (відповідно $0,96 \pm 0,9$ ммоль/л·год і $22,9 \pm 12,3$ мкмоль/л) порівняно з хворими з генотипом *GSTM1+* (відповідно $0,68 \pm 0,58$ ммоль/л·год і $12,52 \pm 4,7$ мкмоль/л, при порівнянні середнього рівня АсАТ у пацієнтів з різними geno-

типами *GSTM1* $p=0,033$, при порівнянні середнього рівня загального білірубіну між даними групами хворих $p=0,049$). Але через 12 та 24 тижня терапії не відмічалось істотних відмінностей у середніх рівнях активності АсАТ та вмісту загального білірубіну сироватки крові у пацієнтів з різними генотипами гена *GSTM1*. А саме, через 12 тижнів лікування у пацієнтів з генотипами *GSTM1+* та *GSTM1null* середні рівні АсАТ становили відповідно $0,25\pm 0,14$ та $0,29\pm 0,13$ ммоль/л·год, ($p=0,147$). Середній рівень вмісту загального білірубіну у пацієнтів з генотипами *GSTM1+* та *GSTM1null* в цей проміжок часу становив відповідно $16,82\pm 3,8$ та $19,52\pm 7,33$ мкмоль/л, ($p=0,441$).

Через 24 тижня лікування середній рівень активності АсАТ у пацієнтів з генотипами *GSTM1+* та *GSTM1null* був відповідно $0,22\pm 0,14$ і $0,26\pm 0,15$ ммоль/л·год ($p=0,199$), середній рівень вмісту загального білірубіну серед пацієнтів з даними поліморфізмами становив відповідно $14,71\pm 5,2$ і $18,20\pm 13,22$ мкмоль/л ($p=0,224$).

Таким чином, у хворих на ХГС з генотипом *GSTM1null* до початку лікування за схемою пегінтерферон + рибавірин відмічались більш високі рівні активності АлАТ, АсАТ та вмісту загального білірубіну сироватки крові, ніж у хворих з генотипом *GSTM1+*, але не було істотних відмінностей у динаміці середнього рівня цього ферменту через 12 та 24 тижні фармакотерапії. Немає істотних відмінностей у біохімічній відповіді на терапію ХГС за схемою пегінтерферон + рибавірин у хворих залежно від делеційного поліморфізму гена *GSTT1*.

Проаналізовано кількість та відсоток хворих, у яких рівень біохімічних показників (АлАТ, АсАТ та загального білірубіну сироватки крові) був у межах, характерних для здорових осіб, залежно від генотипів за генами *GSTT1* та *GSTM1* та їх комбінацій до лікування, через 12 та 24 тижні терапії (табл. 5.5). У всіх пацієнтів, які проходили фармакотерапію ХГС за схемою пегінтерферон+рибавірин, спостерігалась позитивна динаміка біохімічних показників сироватки крові. До початку терапії біохімічні показники крові, які уклались у межі,

характерні для здорових осіб, мали 8 (24,2 %) хворих. Через 12 тижнів цей показник фіксувався у 21 (63,6 %) пацієнта та через 24 тижні – у 26 (78,8 %).

Таблиця 5.5

Біохімічна відповідь хворих на ХГС на фармакотерапію пегінтерфероном + рибавірином залежно від делеційних поліморфізмів генів *GSTT1* та *GSTM1*

Генотипи	Кількість та % хворих з біохімічними показниками в межах здорових осіб		
	До початку терапії	Через 12 тижнів терапії	Через 24 тижні терапії
<i>GSTT1</i> + (n=27)	7 (25,9 %)	16 (59,3 %)	21 (77,8 %)
<i>GSTT1null</i> (n=6)	1 (16,7 %)	5 (83,3 %)	5 (83,3 %)
<i>GSTM1</i> + (n=22)	6 (27,3 %)	15 (68,2 %)	17 (77,3 %)
<i>GSTM1null</i> (n=11)	2 (18,2 %)	6 (54,5 %)	9 (81,8 %)
<i>GSTT1null/ GSTM1null</i> (n=2)	1 (50,0 %)	1 (50,0 %)	1 (50,0 %)
<i>GSTT1</i> +/ <i>GSTM1</i> + (n=19)	6 (31,6 %)	11 (57,9 %)	13 (68,4 %)
<i>GSTT1null/ GSTM1</i> + (n=4)	-	4 (100 %)	4 (100 %)
<i>GSTT1</i> +/ <i>GSTM1null</i> (n=8)	1 (12,5 %)	6 (75,0 %)	8 (100 %)

До початку лікування відновлені до межі здорових осіб біохімічні показники у хворих з генотипами *GSTT1*+ та *GSTT1null* мали відповідно 7 (25,9 %) та 1 (16,7 %) пацієнтів. Через 12 тижнів цей показник у пацієнтів з генотипами *GSTT1*+ та *GSTT1null* становив відповідно 16 (59,3 %) та 5 (83,3 %) і через 24 тижні терапії - 21 (77,8%) та 5 (83,3 %). При порівнянні цього показника між хворими з різними генотипами *GSTT1* різниця статистично несуттєва ($p>0,05$).

Серед пацієнтів з генотипами *GSTM1*+ та *GSTM1null* до початку лікування нормальні біохімічні показники сироватки крові спостерігались відповідно у 6 (27,3 %) та 2 (18,2 %) хворих, через 12 тижнів – у 15 (68,2 %) та 6 (54,5 %) і через 24 тижні фармакотерапії – у 17 (77,3 %) та 9 (81,8 %). При по-

рівнянні цього показника між хворими з різними генотипами *GSTM1* також не спостерігалось статистично істотних відмінностей ($p > 0,05$).

Серед 2 пацієнтів, які мали комбінацію генотипів *GSTT1null/GSTM1null* 1 пацієнт мав нормальні біохімічні показники сироватки крові до лікування, через 12 та 24 тижні терапії. У другого хворого до початку лікування біохімічні показники були суттєво підвищені. Через 12 та 24 тижні терапії у нього не визначались їх нормальні значення, але спостерігалась позитивна динаміка.

Серед 19 пацієнтів з комбінацією генотипів *GSTT1+/GSTM1+* біохімічні показники, які вкладались у межі здорових осіб, до лікування мали 6 (31,6 %) осіб, через 12 тижнів терапії - 11 (57,9 %) та через 24 тижня - 13 (68,4 %). У пацієнтів, що залишилися, спостерігалась позитивна динаміка цих показників.

Серед 4 хворих, які мали комбінацію генотипів *GSTT1null/GSTM1+* у жодного з пацієнтів до лікування не фіксувалось нормальних біохімічних показників. Через 12 та 24 тижнів фармакотерапії серед пацієнтів з цією комбінацією генотипів всі 4 (100 %) хворих мали біохімічні показники здорових осіб.

Серед 8 пацієнтів з комбінацією генотипів *GSTT1+/GSTM1null* нормальні біохімічні показники сироватки крові до лікування спостерігали у 1 (12,5 %) пацієнта, через 12 тижнів – у 6 (75,0 %) та через 24 тижні терапії – у 8 (100 %). У пацієнтів, що залишилися, спостерігалась позитивна динаміка цих показників.

Таким чином, не виявлено впливу делеційних поліморфізмів генів *GSTT1* та *GSTM1* на ефективність фармакотерапії за схемою пегінтерферон+рибавірин у хворих на ХГС.

5.1.2. Ефективність пегінтерферонотерапії ХГС залежно від *A313G* поліморфізму гена *GSTP1*

За даними проведеного молекулярно-генетичного дослідження, серед хворих, які проходили лікування за схемою пегінтерферон+рибавірин, генотип *AA* за геном *GSTP1* мали 12 (36,4 %) пацієнтів, *AG* – 19 (57,6 %) і генотип *GG*

– 2 (6,0 %) осіб. Внаслідок невеликої кількості хворих з генотипом *GG* (2 особи) було об'єднано у одну групу пацієнтів, які мали у генотипі алель *G* (*AG+GG*) – 21 (63,6 %) особа та проаналізовано відмінності у групах хворих, які мали генотипи *AA* та *AG+GG*.

Аналіз вірусологічної відповіді на пегінтерферонотерапію хворих на ХГС залежно від поліморфізму *A313G* гену *GSTP1* наведено у табл. 5.6. Серед 12 пацієнтів з генотипом *AA* у 3 (25,0 %) осіб спостерігались ШВВ або РВВ, у 7 (58,3 %) – УВВ та у 2-х осіб (16,7 %) відмічалась відсутність відповіді на фармакотерапію пегінтерфероном + рибавірином.

Таблиця 5.6

Вірусологічна відповідь на фармакотерапію пегінтерфероном + рибавірином хворих на ХГС залежно від *A313G* поліморфізму *GSTP1*, n (%)

Генотип	ШВВ+РВВ	УВВ	ВВ
<i>AA</i> (n=12)	3 (25,0 %)	7 (58,3 %)	2 (16,7 %)
<i>AG</i> (n=19)	14 (73,7 %)	3 (15,8 %)	2 (10,5 %)
<i>GG</i> (n=2)	2 (100 %)	-	-
<i>AG+GG</i> (n=21)	16 (76,2 %)	3 (14,3 %)	2 (9,5 %)

Серед 19 осіб з генотипом *AG* у 14 (73,7 %) хворих спостерігались ШВВ або РВВ, у 3 (15,8 %) – УВВ та у 2 (10,5 %) пацієнтів відповідь була відсутня. У 2 хворих (100 %) з генотипом *GG* відмічались РВВ. Таким чином, серед 21 хворого з генотипами *AG* або *GG* (*AG+GG*) у 16 (76,2 %) відмічались ШВВ або РВВ, у 3 (14,3 %) – УВВ та у 2 (9,5 %) – ВВ.

У ході дослідження виявлено, що у хворих, які мали у генотипі алель *G* (генотипи *AG* або *GG*), значно частіше спостерігалися ШВВ або РВВ, ніж у пацієнтів з генотипом *AA* (відповідно 76,2 та 25,0 %, $p=0,004$). А серед хворих з генотипом *AA*, навпаки, частіше зустрічалися УВВ або ВВ, ніж у пацієнтів з

генотипами *AG+GG* (відповідно 75,0 і 23,8 %, $p=0,004$). Ці результати показано на рис. 5.1.

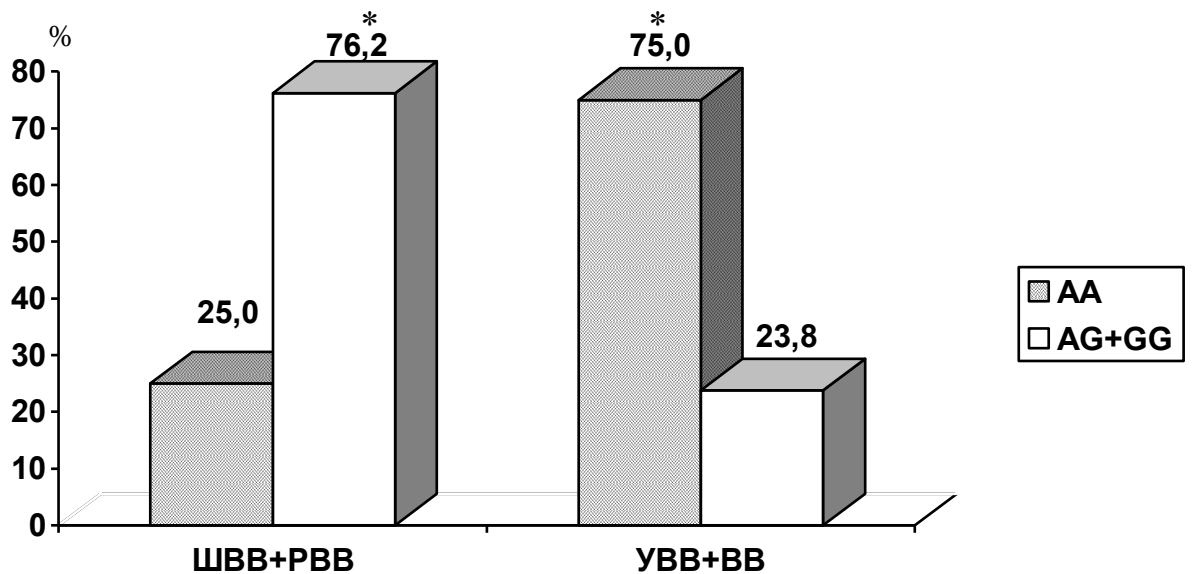


Рис. 5.1. Вірусологічна відповідь на фармакотерапію за схемою пегінтерферон+рибавірин у пацієнтів з різними генотипами за геном *GSTP1*

У рис. 5.1, 5.2: * - достовірність між пацієнтами з різними генотипами ($p<0,05$)

Таким чином, *A313G* поліморфізм гена *GSTP1* впливає на вірусологічну відповідь при фармакотерапії ХГС за схемою пегінтерферон+рибавірин. Хворі, які мали у генотипі алель *G* (генотипи *AG* або *GG*), значно частіше досягали ШВВ або РВВ порівняно з пацієнтами, які мали генотип *AA*.

Наступним етапом проаналізовано вплив *A313G* поліморфізму гена *GSTP1* на біохімічну відповідь при фармакотерапії ХГС за схемою пегінтерфероном+рибавірином. А саме порівняно з динамікою активності АлАТ у сироватці крові залежно від *A313G* поліморфізму гена *GSTP1* хворих на ХГС через 12 та 24 тижні фармакотерапії у порівняльному аспекті з практично здоровими особами (табл. 5.7). Встановлено, що *A313G* поліморфізм гена *GSTP1* впливав на середній рівень АлАТ у здорових донорів. Так, серед обстежених контрольної групи, які мали генотип *AA* спостерігався суттєво більш високий

середній рівень АлАТ сироватки крові, ніж у пацієнтів з генотипами *AG* або *GG* (відповідно $0,46 \pm 0,16$ і $0,35 \pm 0,11$ ммоль/л·год, $p=0,012$).

Таблиця 5.7

Динаміка активності АлАТ (ммоль/л·год) сироватки крові при терапії пегінтерфероном + рибавірином залежно від генотипу хворих на ХГС за геном *GSTP1*

№ №	Термін визначення	Показники	Генотипи осіб, що обстежено		p (<i>AA</i> та <i>AG+GG</i>)
			<i>AA</i> (n=12)	<i>AG+GG</i> (n=21)	
1.	Контроль (практично здорові, n=64)	M±m %	$0,46 \pm 0,16$ 100	$0,35 \pm 0,11$ 100	0,012
2.	Хворі до початку лікування	M±m % (2-1) p (2-1)	$1,70 \pm 1,26$ 369,6 0,00001	$1,82 \pm 0,92$ 520 0,00001	0,128
3.	Через 12 тижнів лікування	M±m % (3-1) p (3-1)	$1,06 \pm 0,77$ 230,4 0,0011	$0,60 \pm 0,31$ 171,4 0,0012	0,030
4.	Через 24 тижня лікування	M±m % (4-1) p (4-1)	$0,68 \pm 0,38$ 147,8 0,033	$0,54 \pm 0,54$ 154,3 0,048	0,532

У хворих на ХГС з генотипами *AA* та *AG* або *GG* до лікування середні рівні активності АлАТ сироватки крові значно не відрізнялись та становили відповідно $1,70 \pm 1,26$ і $1,82 \pm 0,92$ ммоль/л·год, $p=0,128$.

Привертає увагу більше і достовірне підвищення середнього рівня АлАТ у хворих з генотипами *AG+GG* порівняно з особами контрольної групи з відповідними генотипами, ніж у пацієнтів з генотипом *AA* (на 420 % більше ніж в контрольній групі для пацієнтів з генотипами *AG+GG* та на 269,6 % для пацієнтів з генотипом *AA*). Незважаючи на цей факт, вже через 12 тижнів фармако-терапії спостерігалось суттєве зниження середнього рівня АлАТ сироватки крові у пацієнтів з генотипами *AG+GG* (на 348,6 % порівняно з попереднім значенням). А у пацієнтів з генотипом *AA* через 12 тижнів терапії спостеріга-

лось зниження АлАТ порівняно з попереднім значенням тільки на 139,0 %. Таким чином, через 12 тижнів терапії у хворих з генотипами *AG+GG* спостерігався суттєво нижчий середній рівень активності АлАТ порівняно з хворими з генотипом *AA* (відповідно $0,60 \pm 0,31$ і $1,06 \pm 0,77$ ммоль/л·год, $p=0,030$).

Через 24 тижні терапії у хворих з генотипами *AA* та *AG+GG* середні рівні АлАТ статистично не відрізнялись ($0,68 \pm 0,38$ проти $0,54 \pm 0,54$ ммоль/л·год, $p=0,532$). Середні рівні цього ферменту серед пацієнтів з різними генотипами за геном *GSTP1* були у межах, характерних для здорових осіб, однак статистично більш високі, ніж середні рівні АлАт у контрольної групи з відповідними генотипами (див. табл. 5.7). У 2-х пацієнтів з генотипом *GG* до початку лікування середній рівень АлАТ становив $0,8 \pm 0,0$ ммоль/л·год, через 12 тижнів – $0,4 \pm 0,0$ та через 24 тижня фармакотерапії – $0,34 \pm 0,06$ ммоль/л·год.

Наступним етапом проаналізовано середні рівня активності АсАТ та вмісту загального білірубіну сироватки крові у пацієнтів з генотипами *AA* та *AG+GG*. До початку лікування не було істотних відмінностей у середніх рівнях цих показників. А саме, серед пацієнтів з генотипами *AA* та *AG+GG* середні рівні АсАТ становили відповідно $0,77 \pm 0,68$ та $0,84 \pm 0,72$ ммоль/л·год, $p=0,552$, середні рівні білірубіну – $15,35 \pm 11,11$ та $13,98 \pm 7,82$ мколь/л, $p=0,789$. Через 12 тижнів терапії відмічалась тенденція до збільшення рівнів АсАТ та загального білірубіну у хворих з генотипом *AA* порівняно з пацієнтами які мали генотипи *AG+GG*. А саме, у пацієнтів з генотипами *AA* та *AG+GG* середній рівень активності АсАТ становив відповідно $0,35 \pm 0,13$ і $0,26 \pm 0,10$ ммоль/л·год, $p=0,074$, середній рівень загального білірубіну був відповідно $18,79 \pm 6,61$ та $16,83 \pm 7,29$ мколь/л, $p=0,096$.

Через 24 тижні терапії у хворих з генотипами *AA* та *AG+GG* рівні активності АсАТ і вмісту загального білірубіну сироватки крові суттєво не відрізнялись. А саме, у пацієнтів з генотипами *AA* та *AG+GG* активність АсАТ становила відповідно $0,24 \pm 0,17$ та $0,25 \pm 0,13$ ммоль/л·год, $p=0,668$, вміст загального білірубіну – відповідно $14,70 \pm 5,79$ та $16,83 \pm 10,59$, $p=0,0362$.

Порівняно кількість та відсоток осіб, у яких відмічались нормальні біохімічні показники (АлАТ, АсАТ та загальний білірубін сироватки крові) між хворими з різними генотипами за геном *GSTP1* (табл. 5.8).

До початку терапії біохімічні показники у межах норми мали 3 (25,0 %) хворих з генотипом *AA* та 5 (23,8 %) пацієнтів з генотипами *AG+GG* ($p=0,939$).

Через 12 тижнів лікування значно більша частина хворих, які мали генотипи *AG+GG*, мали нормальні біохімічні показники крові, ніж пацієнти з генотипом *AA* (76,2 проти 41,7 %, $p=0,047$).

Таблиця 5.8

Біохімічна відповідь на фармакотерапію пегінтерфероном+рибавірином залежно від генотипу хворих на ХГС за геном *GSTP1*, n (%)

Генотипи	Кількість та % хворих з біохімічними показниками у межах здорових осіб		
	До початку терапії	Через 12 тижнів терапії	Через 24 тижні терапії
<i>AA</i> (n=12, 36,4 %)	3 (25,0 %)	5 (41,7 %)	8 (66,7 %)
<i>AG+GG</i> (n=21, 63,6 %)	5 (23,8 %)	16 (76,2 %)*	18 (85,7 %)*

Примітка: * - при порівнянні значення між різними генотипами, $p<0,05$

Через 24 тижні фармакотерапії теж зберігалась тенденція до збільшення кількості хворих з нормальними біохімічними показниками серед пацієнтів з генотипами *AG+GG*, ніж серед пацієнтів, які мали генотип *AA* (18 (85,7 %) проти 8 (66,7 %), $p=0,198$). Ці результати збігаються з даними вірусологічної відповіді (див. табл. 5.6).

Слід звернути увагу на той факт, що кращі результати лікування спостерігалися у хворих, у генотипі яких є мутантний алель *G*. Відомо, що ізофермент, який закодовано геном *G*, має знижену каталітичну активність по відношенню до багатьох канцерогенів та інших ксенобіотиків [259-261].

У літературі є дані стосовно асоціації гена *G* із ризиком розвитку багатьох захворювань печінки, у тому числі хронічного гепатиту В, цирозу печін-

ки асоційованому з вірусним гепатитом В, гепатоцелюлярної карциноми [29, 264]. Натомість інші автори не знайшли такої асоціації [265, 266].

У даному дослідженні не виявлено впливу *A313G* поліморфізм гена *GSTP1* на ризик розвитку ХГС та тяжкість перебігу захворювання, але встановлено вплив на ефективність лікування за схемою пегінтерферон+рибавірин. Кращі результати спостерігались у хворих, які мали інактивний алель *G* у генотипі. Необхідно підкреслити, що кращі результати фармакотерапії проявлялись не тільки в більш швидкій біохімічній відповіді на терапію пегінтерфероном + рибавірином, але і в кращій вірусологічній відповіді. Можливо, це можна пояснити тим, що *GSTP1* бере участь не тільки в детоксикації ксенобіотиків, а й в регуляції сигнальних шляхів клітини, пов'язаних із відповіддю клітини на стрес, репарацію ДНК, індукцією апоптозу [213-216]. Слід звернути увагу на те, що рівень активності ферменту АлАТ варіює у здорових донорів залежно від генотипу обстежених здорових донорів.

Отримані дані свідчать про вплив *A313G* поліморфізму гена *GSTP1* на ефективність лікування хворих на ХГС за схемою пегінтерферон+рибавірин.

Підсумовуючи отримані дані, можна зробити наступні висновки:

1. Делеційні поліморфізми генів *GSTT1* та *GSTM1* не впливають на вірусологічну та біохімічну відповідь при лікуванні ХГС за схемою пегінтерферон+рибавірин.

2. Поліморфізм *A313G* гена *GSTP1* впливає на рівень АлАТ у здорових мешканців Одеського регіону. Донори з генотипом *AA* мають більш високий середній рівень АлАТ, ніж особи з генотипами *AG* або *GG*.

3. Поліморфізм *A313G* гена *GSTP1* впливає на вірусологічну та біохімічну відповіді при лікуванні ХГС за схемою пегінтерферон+рибавірин.

4. Хворі з генотипами *AG* або *GG* за геном *GSTP1* при лікуванні ХГС за схемою пегінтерферон+рибавірини значно частіше досягають швидкої та ранньої вірусологічних відповідей, ніж пацієнти з генотипом *AA*.

5. У хворих з генотипами *AG* або *GG* при лікуванні ХГС за схемою пегінтерферон+рибавірин скоріше відбувається відновлення біохімічних показників сироватки крові, ніж у пацієнтів з генотипом *AA*.

5.2. Ефективність фармакотерапії ХГС за схемою пегінтерферон + рибавірин залежно від поліморфізму гена *CYP2E1* у 6-му інтроні

Наступним етапом проаналізовано вплив поліморфізму *CYP2E1*6* на ефективність пегінтерферонотерапії ХГС. За даними молекулярно-генетичного дослідження, серед хворих на ХГС, які проходили лікування за схемою пегінтерферон+рибавірин, генотип *DD* мали 24 (72,7 %) хворих, генотип *CD* – 9 (27,3 %), гомозигот за мутантним алелем *C* (генотип *CC*) не було виявлено.

Першою серією даного підрозділу роботи проаналізовано вірусологічну відповідь на пегінтерферонотерапію (табл. 5.9).

Таблиця 5.9

Вірусологічна відповідь хворих ХВГ на фармакотерапію пегінтерфероном + рибавірином залежно від поліморфізму *CYP2E1*6*, n (%)

Вірусологічна відповідь	Генотип хворих	
	<i>DD</i> (n=24, 72,7 %)	<i>CD</i> (n=9, 27,3 %)
ШВВ+РВВ (n=19)	11 (57,9 %)	8 (42,4 %)
УВВ (n=10)	10 (100 %)	-
ВВ (n=4)	3 (92,8 %)	1 (7,1 %)
УВВ+ВВ (n=14)	13 (92,9 %)	1 (7,1 %)

Серед 19 хворих з ШВВ і РВВ генотип *CD* мали 8 (42,4 %) пацієнтів, генотип *DD* – 11 (57,9 %) осіб. Усі хворі з УВВ (10 осіб) мали генотип *DD* (100,0 %). Серед 4 хворих, у яких була відсутня відповідь на проведену фармакотерапію, 1 (7,1 %) пацієнт мав генотип *CD* та 3 (92,8 %) – генотип *DD*. Для того, щоб з'ясувати різницю у вірусологічній відповіді на пегінтерферонотерапію у хворих з різними генотипами за поліморфізмом *CYP2E1*6*, було поєднано в одну

групу пацієнтів із ШВВ та РВВ (ШВВ+РВВ) та у другу групу – пацієнти з УВВ та ВВ (УВВ+ВВ). Частота ШВВ+РВВ та УВВ+ВВ у хворих з різними генотипами за поліморфізмом *CYP2E1**6 наведена у рис. 5.2.

Серед 9 хворих з генотипом *CD* у 8 (88,9 %) осіб була ШВВ+РВВ та у 1 (11,1 %) УВВ+ВВ. Серед 24 хворих з генотипом *DD* у 11 (45,8 %) осіб була ШВВ+РВВ та у 13 (54,2 %) – УВВ+ВВ. Таким чином, значно більша частина хворих з генотипом *CD* мали ШВВ+РВВ, ніж хворі з генотипом *DD* (88,9 проти 45,8 %, $p=0,026$). Відповідно у достовірно більшій частині хворих, які мали генотип *DD*, була УВВ+ВВ, ніж у пацієнтів з генотипом *CD* (54,2 проти 11,1 %, $p=0,026$) (див. рис. 5.2).

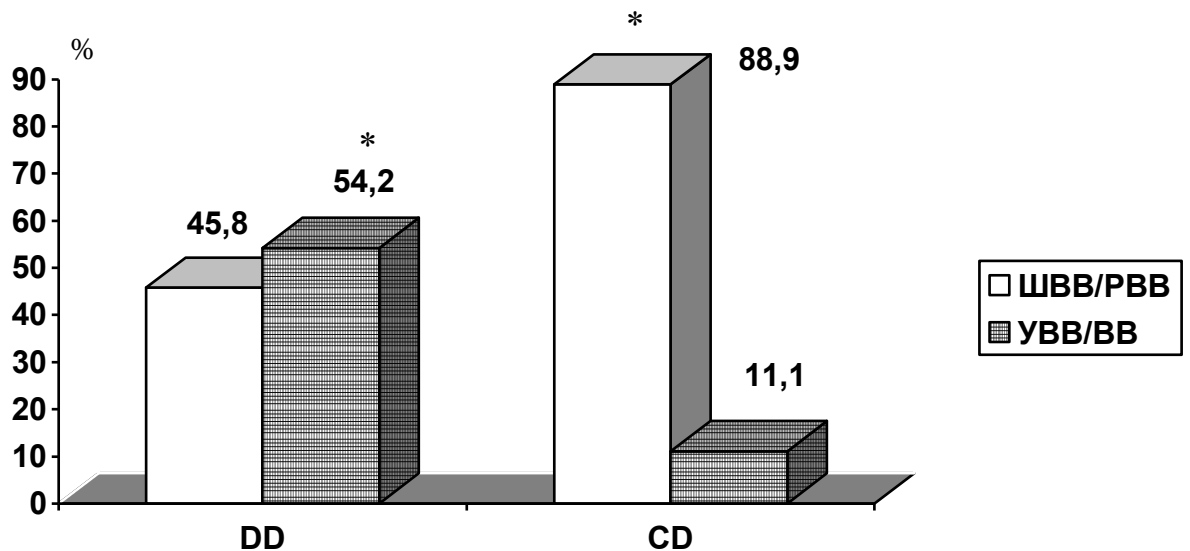


Рис. 5.2. Частота (%) ШВВ+РВВ та УВВ+ВВ у хворих з різними генотипами за поліморфізмом *CYP2E1**6

Відомо, що у хворих, які досягли ШВВ та РВВ, значно підвищуються шанси досягти СВВ (майже у 90 %) [13]. Враховуючи дані цього дослідження, можна дійти висновку, що генотип *CD* може бути предикторним фактором розвитку СВВ серед хворих на ХГС, які проходять лікування за схемою пегінтерферон+рибавірин.

Наступним етапом дослідження була оцінка динаміки відновлення активності АлАТ сироватки крові у хворих з різними генотипами порівняно з контрольною групою (табл. 5.10). У контрольній групі здорових донорів середній рівень АлАТ становив $0,40 \pm 0,14$ ммоль/л·год серед осіб з генотипом *DD* та $0,38 \pm 0,1$ ммоль/л·год серед осіб з генотипом *CD*. При порівнянні активності АлАТ сироватки крові між особами з генотипами *DD* та *CD* не спостерігалось статистично достовірної різниці ($p=0,739$). Серед хворих на ХГС до початку лікування у осіб генотипами *DD* та *CD* активність даного ферменту була відповідно $1,83 \pm 1,16$ та $1,55 \pm 1,66$ ммоль/л·год, що на 357,5 і 307,9 % вище, ніж у здорових осіб ($p < 0,05$). Проте у хворих з генотипом *CD* швидше відновлювалась активність АлАТ сироватки крові, ніж у хворих з генотипом *DD*. Вже через 12 тижнів лікування не було істотних відмінностей у активності АлАТ сироватки крові у хворих на ХГС та контролі (відповідно $0,49 \pm 0,09$ і $0,38 \pm 0,15$ ммоль/л·год, $p=0,136$). Через 24 тижнів з початку фармакотерапії пегінтерфероном і рибавірином активність даного ферменту у сироватці крові залишався в межах, характерних для здорових осіб, і навіть дещо нижчим за показники контрольних значень (на 15,7 %, $p=0,149$).

Таблиця 5.10

Динаміка середніх рівнів АлАТ сироватки крові (ммоль/л·год) у хворих на ХГС залежно від поліморфізму *CYP2E1**6 гену *CYP2E1*

№ №	Термін визначення	Показ- ники	Генотипи осіб, що обстежено		p (<i>DD-CD</i>)
			<i>DD</i> (n=24)	<i>CD</i> (n=9)	
1.	Контроль (практично здорові, n=64)	M±m %	$0,40 \pm 0,14$ 100	$0,38 \pm 0,1$ 100	0,739
2.	Хворі до початку лікування	M±m % (2-1) p (2-1)	$1,83 \pm 1,16$ 457,5 0,0006	$1,55 \pm 1,66$ 407,9 0,042	0,584
3.	Через 12 тижнів лікування	M±m % (3-1) p (3-1)	$0,81 \pm 0,59$ 202,5 0,001	$0,49 \pm 0,09$ 128,9 0,136	0,495
4.	Через 24 тижня лікуванні	M±m % (4-1) p (4-1)	$0,65 \pm 0,53$ 162,5 0,021	$0,32 \pm 0,11$ 84,2 0,149	0,079

Інша картина спостерігалась серед пацієнтів з генотипом *DD*. До початку лікування активність АлАТ була навіть дещо вище, ніж у осіб з гентипом *CD* (на 49,6 %, $p=0,584$). Але активність АлАТ сироватки крові у хворих залишилась значно вищими, ніж в контрольній групі не тільки до початку лікування, а й через 12 та 24 тижнів. Так, через 12 і 24 тижні лікування у хворих на ХГС з генотипом *DD* активність АлАТ була в межах здорових осіб, але більш достовірно високою порівняно з контрольною групою (відповідно на 102,5 і 62,5 %).

Порівняно також кількість та відсоток осіб, у яких відмічались біохімічні показники у межах здорових осіб (АлАТ, АсАТ та загальний білірубін сироватки крові) залежно від поліморфізму *CYP2E1* *6 (табл. 5.11).

Таблиця 5.11

Біохімічна відповідь на фармакотерапію пегінтерфероном+рибавірином залежно від генотипу хворих на ХГС за геном *CYP2E1*, n (%)

Генотипи	Кількість та % хворих з біохімічними показниками 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%)

Примітка: * - при порівнянні значення між різними генотипами, $p<0,05$

До початку лікування біохімічні показники крові характерні для здорових осіб мали 44,4 % пацієнтів з генотипом *CD* і 16,7 % - з генотипом *DD*, $p=0,097$. Через 12 тижнів лікування у значно більшої частини хворих з генотипом *CD* відмічались відновлені рівні активності АлАТ сироватки крові, ніж з генотипом *DD*: 88,9 проти 50,0 %, $p=0,042$. Через 24 тижні рівень АлАТ сироватки крові

ватки крові відновлювався у всіх хворих (100,0 %) з генотипом *CD* та (65,4 %) з генотипом *DD*, $p=0,068$.

Таким чином, поліморфізм *CYP2E1*6* впливав на ефективність лікування ХГС за схемою пегінтерферон+рибавірин. Як у випадку *GSTP1*, кращі результати інтерферонотерапії спостерігалися у разі наявності у генотипі хворого мутантного алелю *C*. Алель *C* характеризується підвищеною каталітичною активністю. У каталітичному циклі *CYP2E1* завжди утворюються АФК, які відіграють важливу роль у регуляції імунної відповіді, мітотичного циклу клітин, апоптозу [190].

Підсумовуючи отримані результати, можна зробити наступні висновки. У хворих на хронічний гепатит С, які мали генотип *CD* за поліморфізмом *CYP2E1*6*, частіше спостерігались швидка та рання вірусологічні відповіді, ніж у хворих з генотипом *DD* при лікуванні пегінтерфероном+рибавірином. Поліморфізм *CYP2E1*6* не впливав на середній рівень АЛАТ сироватки крові у здорових мешканців Одеського регіону. У пацієнтів на хронічний гепатит С з генотипом *CD* швидше (через 12 тижнів лікування) відновлювався рівень АЛАТ сироватки крові, ніж у хворих з генотипом *DD*). Лікування хворих на хронічний гепатит С за стандартною схемою пегінтерферон + рибавірин було ефективнішим при наявності у них генотипу *CD*.

5.3. Вплив поліморфізмів генів ферментів детоксикації ксенобіотиків на ефективність лікування ХГС за альтернативними схемами

Як вже вказувалось у розд. 1, при неефективності стандартної інтерферонотерапії або неможливості її застосування через протипоказання, розвиток ускладнень, відсутністю матеріальних можливостей пацієнта використовують альтернативні методи лікування – індуктори інтерферону, гепатопротектори та ін. [79-81]. Було встановлено, що ефективність застосування цих препаратів, як і стандартної схеми терапії, істотно варіює, і однією з імовірних причин цієї варіабельності є індивідуальні особливості генотипу хворих. Тому наступним

етапом роботи проаналізовано вплив поліморфізму генів ферментів детоксикації ксенобіотиків на ефективність лікування ХГС за схемами «індуктор інтерферону (аміксин) + рибавірин» або «легалон», як типових, що застосовуються у Одеській міській клінічній інфекційній лікарні.

Пацієнтів, які проходили лікування за альтернативними схемами фармакотерапії, було поділено на 2 групи: II група (n=18) – що лікувалися за схемою аміксин+рибавірин, III група (n=26) – тільки легалоном. Ефективність лікування оцінювали за біохімічною відповіддю у пацієнтів з урахуванням поліморфізмів генів *GSTs* та *CYP2E1*.

5.3.1. Оцінка асоціації поліморфізму генів *GSTs* з ефективністю лікування ХГС за схемою аміксин + рибавірин

За даними молекулярно генетичного дослідження, серед пацієнтів II групи (n=18) генотип *GSTT1+* мали 72,2 %, генотип *GSTT1null* – 27,8 % хворих. Біохімічну відповідь аналізовано за середнім рівнем активності АлАТ сироватки крові хворих на ХГС до початку лікування і через 12 та 24 тижні терапії. Порівняно отримані результати з практично здоровими донорами, які мали відповідні генотипи (табл. 5.12).

До початку лікування у пацієнтів з генотипами *GSTT1+* та *GSTT1null* середні рівні активності АлАТ сироватки крові становили відповідно $0,93 \pm 0,74$ та $1,71 \pm 1,32$ ммоль/л·год, $p=0,131$. Це відповідно на 138,5 та 338,7 % більше, ніж у здорових донорів з такими генотипами. Через 12 тижнів у хворих з генотипом *GSTT1+* середній рівень активності АлАТ достовірно зменшився до $0,63 \pm 0,47$ ммоль/л·год (це на 61,5 % більше, ніж у контрольної групи), але через 24 тижні також достовірно збільшився до $0,83 \pm 0,62$ ммоль/л·год (на 112,8 % більше за середній рівень відповідного ферменту у здорових донорів).

Таблиця 5.12

Динаміка середнього рівня активності АлАТ (ммоль/л·год) сироватки крові хворих на ХГС при фармакотерапії за схемою аміксин+рибавірин залежно від делеційного поліморфізму *GSTT1*

№ №	Термін визначення	Показ- ники	Генотипи осіб, що обстежено		p (<i>GSTT1+</i> та <i>GSTT1null</i>)
			<i>GSTT1+</i> (n=13)	<i>GSTT1null</i> (n=5)	
1.	Контроль (практично здорові, n=64)	M±m %	0,39±0,14 100	0,39±0,14 100	0,919
2.	Хворі до поча- тку лікування	M±m % (2-1) p (2-1)	0,93 ±0,74 238,5 0,0013	1,71±1,32 438,7 0,0093	0,131
3.	Через 12 тиж- нів лікування	M±m % (3-1) p (3-1)	0,63±0,47 161,5 0,00002	1,13±0,98 289,7 0,001	0,156
4.	Через 24 тижня лікуванні	M±m % (4-1) p (4-1)	0,83±0,62 212,8 0,0002	1,02±0,54 261,5 0,0049	0,552

Серед пацієнтів з генотипом *GSTT1null* середній рівень активності АлАТ сироватки крові через 12 та 24 тижні становив $1,13\pm 0,98$ і $1,02\pm 0,54$ ммоль/л·год, що на 189,7 та 161,5 % достовірно більше за цей показник донорів. Пацієнти з генотипами *GSTT1+* та *GSTT1null* не досягли середнього рівня АлАТ, характерного для здорових осіб (при порівнянні з донорами $p < 0,05$).

Проаналізовано середній рівень активності АлАТ сироватки крові серед пацієнтів II групи з різними генотипами за геном *GSTM1*. Генотип *GSTM1+* також зафіксовано у 72,2 % хворих, генотип *GSTM1null* – у 27,8 % пацієнтів. Середні рівні активності АлАТ сироватки крові хворих на ХГС з різними генотипами *GSTM1* наведено у табл. 5.13.

У пацієнтів з генотипом *GSTM1+* до початку терапії спостерігалась тенденція до зниження середнього рівня активності АлАТ сироватки крові порівняно з хворими, які мали генотип *GSTM1null* ($0,98\pm 0,97$ та $1,74\pm 1,04$

ммоль/л·год відповідно, $p=0,118$). Це достовірно більше за середній рівень даного ферменту у контрольній групі (відповідно на 139,0 та 346,1 %). Через 12 тижнів терапії серед хворих на ХГС з генотипом *GSTM1+* середній рівень активності АлАТ крові зменшився на 58,5 % і становив $0,74\pm 0,68$ ммоль/л·год, але через 24 тижні знову підвищився, хоча і незначно (на 7,3 %) і становив $0,77\pm 0,43$ ммоль/л·год.

Таким чином, відсутня статистично значима різниця у динаміці рівня активності АлАТ сироватки крові хворих на ХГС залежно від делеційного поліморфізму *GSTM1*.

Таблиця 5.13

Динаміка середнього рівня активності АлАТ (ммоль/л·год) сироватки крові хворих на ХГС при фармакотерапії за схемою аміксин+рибавірин залежно від делеційного поліморфізму *GSTM1*

№ №	Термін визначення	Показ- ники	Генотипи осіб, що обстежено		p (<i>GSTM1+</i> та <i>GSTM1null</i>)
			<i>GSTM1+</i> (n=13)	<i>GSTM1null</i> (n=5)	
1.	Контроль (практично здорові, n=64)	M±m %	0,41±0,14 100	0,39±0,14 100	0,585
2.	Хворі до поча- тку лікування	M±m % (2-1) p (2-1)	0,98±0,97 239,0 0,00001	1,74±1,04 446,1 0,00021	0,118
3.	Через 12 тиж- нів лікування	M±m % (3-1) p (3-1)	0,74±0,68 180,5 0,0021	0,83±0,66 212,8 0,0013	0,803
4.	Через 24 тижні лікування	M±m % (4-1) p (4-1)	0,77±0,43 187,8 0,022	1,15±0,89 294,9 0,009	0,235

Серед пацієнтів з генотипом *GSTM1null* через 12 тижнів терапії середній рівень активності АлАТ сироватки крові становив $0,83\pm 0,66$ ммоль/л·год, що на 112,8 % достовірно більше ніж у контрольній групі. Через 24 тижні цей показник підвищився на 82,1 % та становив $1,15\pm 0,89$ ммоль/л·год. Через 24 тижні пацієнти з генотипами *GSTM1+* та *GSTM1null* не досягли середнього рів-

ня активності АлАТ сироватки крові, характерного для здорових осіб (при порівнянні практично здоровими донорами $p < 0,05$).

Результати аналізу кількості та відсотку хворих II групи, у яких рівень біохімічних показників (активність АлАТ, АсАТ та вміст загального білірубіну сироватки крові) був у межах, характерних для здорових осіб, наведено у табл. 5.14. Ці дані проаналізовано залежно від делеційних поліморфізмів генів *GSTT1* та *GSTM1* до лікування, через 12 та 24 тижні терапії.

До початку терапії у хворих на ХГС з генотипом *GSTT1+* біохімічні показники крові, характерні для здорових осіб, спостерігались у 53,8 %. Серед пацієнтів з генотипом *GSTT1null* цей показник був меншим (20,0 %), проте різниця статистично недостовірна ($p = 0,196$). Можливо, недостовірні результати можна пояснити невеликою кількістю пацієнтів з генотипом *GSTT1null* (5 осіб). Через 12 тижнів терапії відсоток хворих з біохімічними показниками здорових осіб крові майже порівнявся серед пацієнтів з генотипами *GSTT1+* та *GSTT1null* та був відповідно 69,2 і 60,0 %, $p = 0,710$. Через 24 тижні терапії також не було істотних відмінностей у відсотку хворих з нормальними біохімічними показниками серед пацієнтів з генотипами *GSTT1+* та *GSTT1null* (46,1 проти 40,0 %, $p = 0,814$).

Таблиця 5.14

Біохімічна відповідь у хворих на ХГС на фармакотерапію аміксин+рибавірин залежно від делеційних поліморфізмів генів *GSTT1* та *GSTM1*

Генотипи	Кількість та % хворих з біохімічними показниками, характерними для практично здорових осіб		
	До початку лікування	Через 12 тижнів терапії	Через 24 тижні терапії
<i>GSTT1+</i> (n=13, 72,2 %)	7 (53,8 %)	9 (69,2 %)	6 (46,1 %)
<i>GSTT1null</i> (n=5, 27,8 %)	1 (20,0 %)	3 (60,0 %)	2 (40,0 %)
<i>GSTM1+</i> (n=13, 72,2 %)	7 (53,8 %)	9 (69,2 %)	5 (38,5 %)
<i>GSTM1null</i> (n=5, 27,8 %)	1 (20,0 %)	3 (60,0 %)	3 (60,0 %)

Як наведено у табл. 5.14, серед хворих на ХГС з генотипом *GSTM1+* більша частина хворих мали біохімічні показники крові здорових осіб до початку терапії аміксин + рибавірин порівняно з пацієнтами з генотипом *GSTM1null* (53,8 проти 20,0 %, $p=0,196$). Через 12 тижнів терапії цей показник майже зрівнявся серед пацієнтів з різними генотипами *GSTM1* ($p=0,710$). Через 24 тижні у більшій частині хворих з генотипом *GSTM1null* спостерігались нормальні рівні біохімічних показників порівняно з пацієнтами з генотипом *GSTM1+* (60,0 проти 38,5 %, але різниця статистично недостовірна $p=0,410$).

Таким чином, не було асоціації делеційних поліморфізмів генів *GSTT1* та *GSTM1* з ефективністю лікування ХГС за схемою аміксин+рибавірин.

Наступним етапом проаналізовано вплив *A313G* поліморфізму гена *GSTP1* на біохімічну відповідь при лікуванні хворих на ХГС за схемою аміксин + рибавірин. Результати аналізу наведено у табл. 5.15.

Таблиця 5.15

Динаміка середнього рівня активності АлАТ (ммоль/л·год) при фармакотерапії аміксином + рибавірином залежно від генотипу хворих на ХГС

за геном *GSTP1*

№ №	Термін визначення	Показ- ники	Генотипи осіб, що обстежено		p (AA та AG+GG)
			AA (n=8)	AG+GG (n=10)	
1.	Контроль (практично здорові, n=64)	M±m %	0,46±0,16 100	0,35±0,11 100	0,012
2.	Хворі до поча- тку лікування	M±m % (2-1) p (2-1)	0,91±0,75 197,8 0,00001	1,34±1,10 382,8 0,00001	0,351
3.	Через 12 тиж- нів лікування	M±m % (3-1) p (3-1)	0,69±0,56 150,0 0,0016	0,82±0,75 234,3 0,0002	0,704
4.	Через 24 тижні лікування	M±m % (4-1) p (4-1)	0,80±0,67 173,9 0,0002	0,94±0,55 268,6 0,0001	0,645

За даними проведеного молекулярно-генетичного дослідження, серед пацієнтів II групи генотип *AA* за геном *GSTP1* мали 44,4 % осіб, генотип *AG* – також 44,4 % пацієнтів та генотип *GG* – тільки 11,2 %. Відповідно генотипи *AG+GG* відмічались у 55,6 % хворих.

Як наведено у табл. 5.15, до початку терапії пацієнти з генотипами *AG+GG* мали дещо більш високий середній рівень активності АлАТ сироватки крові, ніж пацієнти з генотипом *AA* ($0,35 \pm 0,11$ проти $0,91 \pm 0,75$ ммоль/л·год, $p=0,351$) Через 12 тижнів терапії спостерігалось зниження середнього рівня активності ферменту у хворих з різними генотипами. А саме, у пацієнтів з генотипами *AA* та *AG+GG* середні рівні активності АлАТ сироватки крові становили відповідно $0,69 \pm 0,56$ та $0,82 \pm 0,75$ ммоль/л·год, $p=0,704$.

Через 24 тижні терапії спостерігалось достовірне підвищення середнього рівня активності АлАТ сироватки крові як у пацієнтів з генотипом *AA* (на 23,9 % порівняно з попереднім показником), так і з генотипами *AG+GG* (на 34,3 %). Проте через 24 тижні терапії не було достовірної різниці у середньому рівні активності АлАТ у пацієнтів з генотипами *AA* та *AG+GG* ($0,80 \pm 0,67$ проти $0,94 \pm 0,55$ ммоль/л·год, $p=0,654$).

Проаналізовано кількість та відсоток хворих на ХГС II групи, у яких рівень біохімічних показників (АлАТ, АсАТ та загального білірубіну сироватки крові) був у межах, характерних для практично здорових осіб, залежно від генотипу за геном *GSTP1* до лікування, через 12 та 24 тижні терапії (табл. 5.16)

До початку терапії за схемою аміксин+рибавірин серед 8 хворих на ХГС з генотипом *AA* біохімічні показники, характерні для здорових донорів, спостерігались у 4 (50,0 %) осіб. Серед 10 пацієнтів з генотипами *AG+GG* нормальні біохімічні показники крові було зафіксовано у 4 (40,0 %) осіб. Не було істотних відмінностей у цьому показнику серед хворих на ХГС з різними генотипами ($p=0,671$). Через 12 тижнів лікування серед пацієнтів з генотипами *AA* та *AG+GG* нормальні біохімічні показники крові відмічались відповідно у 5 (62,5 %) та 7 (70,0 %) пацієнтів, $p=0,737$.

Біохімічна відповідь хворих на ХГС на фармакотерапію аміксин+рибавірин
залежно від *A313G* поліморфізму гена *GSTP1*

Генотипи	Кількість та % хворих з біохімічними показниками в межах практично здорових осіб		
	До початку лікування	Через 12 тижнів терапії	Через 24 тижня терапії
<i>AA</i> (n=8, 44,4 %)	4 (50,0 %)	5 (62,5 %)	4 (50,0 %)
<i>AG+GG</i> (n=10, 55,6 %)	4 (40,0 %)	7 (70,0 %)	4 (40,0 %)
p (<i>AA</i> та <i>AG+GG</i>)	0,671	0,737	0,671

Привертає на себе увагу те, що через 24 тижні лікування даною схемою у пацієнтів з генотипами *AA* та *AG+GG* кількість та відсоток хворих з біохімічними показниками крові, характерними для практично здорових осіб, зрівнялися зі значеннями цього показника до лікування: 4 (50,0 %) і 4 (40,0 %). Отже, не виявлено суттєвої різниці у ефективності лікування ХГС за схемою аміксин + рибавірин залежно від *A313G* поліморфізму гена *GSTP1*.

5.3.2. Вплив поліморфізму гена *CYP2E1* у 6-му нітроні на ефективність лікування ХГС за схемою аміксин + рибавірин

За даними проведеного молекулярно-генетичного дослідження, серед 18 хворих II групи, які отримали терапію аміксином + рибавірином, генотип *DD* за геном *CYP2E1* мали 15 (83,3 %) осіб, та генотип *CD* – 3 (16,7 %) осіб.

У пацієнтів з генотипом *DD* спостерігались більш висока активність АлАТ сироватки крові, ніж у хворих з генотипом *CD* до початку лікування, через 12 та 24 тижні терапії (табл. 5.17). Так, до початку лікування середні рівні активності цього ферменту у хворих з генотипами *DD* та *CD* становили відповідно $1,21 \pm 1,01$ та $0,83 \pm 0,77$ ммоль/л·год. Через 12 тижнів терапії цей показник склав $0,80 \pm 0,70$ ммоль/л·год для хворих з генотипом *DD* та $0,56 \pm 0,39$

ммоль/л·год для хворих з генотипом *CD*. Через 24 тижні терапії у осіб з генотипами *DD* та *CD* середній рівень активності АлАТ сироватки крові був відповідно $0,93 \pm 0,63$ та $0,61 \pm 0,14$ ммоль/л·год. Але різниця у всіх випадках була статистично недостовірна.

При порівнянні середнього рівня активності АлАТ сироватки крові між контрольною групою та хворими на ХГС через 24 тижня терапії виявлено, що даний показник у хворих на 132,5 % достовірно більше за контрольне значення для осіб з генотипом *DD* та на 60,5 % достовірно вище за контроль для осіб з генотипом *CD*. У пацієнтів з генотипом *DD* середній рівень активності АлАТ на 132,5 % більше, ніж у контрольній групі. Різниця статистично достовірна ($p=0,00021$).

Таблиця 5.17

Динаміка середніх рівнів активності АлАТ сироватки крові (ммоль/л·год) хворих на ХГС при терапії аміксином+рибавірином залежно від поліморфізму *CYP2E1**6 гена *CYP2E1*

№ №	Термін визначення	Показ- ники	Генотипи осіб, що обстежено		p (<i>DD-CD</i>)
			<i>DD</i> (n=15)	<i>CD</i> (n=3)	
1.	Контроль (практично здорові, n=64)	M±m %	$0,40 \pm 0,14$ 100	$0,38 \pm 0,10$ 100	0,739
2.	Хворі до поча- тку лікування	M±m % (2-1) p (2-1)	$1,21 \pm 1,01$ 302,5 0,0006	$0,83 \pm 0,77$ 218,4 0,122	0,600
3.	Через 12 тиж- нів лікування	M±m % (3-1) p (3-1)	$0,80 \pm 0,70$ 200,0 0,0001	$0,56 \pm 0,39$ 147,4 0,136	0,575
4.	Через 24 тижні лікування	M±m % (4-1) p (4-1)	$0,93 \pm 0,63$ 232,5 0,0002	$0,61 \pm 0,14$ 160,5 0,133	0,404

У хворих з генотипом *CD* середній рівень активності АлАТ крові також більше, ніж у здорових осіб (на 60,5 %), хоча тенденція недостовірна за раху-

нок малої кількості пацієнтів з таким генотипом ($p=0,133$), виявлених в даній популяції.

Аналіз динаміки змін 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 недостовірна, що пояснюється невеликою кількістю хворих з генотипом *CD* (3 пацієнти).

Щодо відновлення рівня активності АлАТ у сироватці крові даної групи хворих можна констатувати таке. У групі пацієнтів з генотипом *DD* за геном *CYP2E1* достовірно, а у хворих з генотипом *CD* недостовірно за рахунок малої вибіркості, через 24 тижні після лікування ХГС за схемою аміксин і рибавірин не відмічалось відновлення активності даного маркерного ферменту печінки.

5.3.3. Вплив поліморфізму генів *GSTs* на біохімічну відповідь при терапії ХГС легалоном

Результати аналізу біохімічної відповіді на терапію ХГС легалоном у пацієнтів залежно від делеційних поліморфізмів генів *GSTs* наведено у табл. 5.18. Серед 26 хворих цієї групи генотип *GSTT1+* мали 69,2 % пацієнти, генотип *GSTT1null* – 30,8 % хворих. До лікування середні рівні активності АлАТ сироватці крові у пацієнтів з генотипами *GSTT1+* та *GSTT1null* значно не відрізнялись та становили відповідно $1,44 \pm 1,31$ та $1,35 \pm 1,56$ ммоль/л·год, $p=0,893$. Це достовірно на 296,2 та 246,2 % вище за середні рівні активності АлАТ у здорових донорів з відповідними генотипами (див. табл. 5.18.).

Через 12 тижнів терапії цей показник зменшився на 100 % для пацієнтів з генотипом *GSTT1+* та на 184,6 % для хворих з генотипом *GSTT1null* ($p=0,202$). Водночас через 24 тижня терапії спостерігалось зниження середнього рівня АлАТ у хворих з генотипом *GSTT1+* на 66,6 % порівняно з поперед-

німи показниками, а у пацієнтів з генотипом *GSTT1null*, навпаки, спостерігалось достовірне підвищення середнього значення активності даного ферменту на 194,0 %. Але різниця у рівнях активності АлАТ як до початку лікування, так і через 12, 24 тижнів статистично недостовірна ($p=0,162$).

Таблиця 5.18

Динаміка середнього рівня активності АлАТ (ммоль/л·год) сироватки крові при фармакотерапії хворих на ХГС легаломом залежно від генотипу за геном *GSTT1*

№ №	Термін визначення	Показ- ники	Генотипи осіб, що обстежено		p (<i>GSTT1+</i> та <i>GSTT1null</i>)
			<i>GSTT1+</i> (n=18)	<i>GSTT1null</i> (n=8)	
1.	Контроль (практично здорові, n=64)	M±m %	0,39±0,14 100	0,39±0,14 100	0,919
2.	Хворі до поча- тку лікування	M±m % (2-1) p (2-1)	1,44 ±1,31 369,2 0,000015	1,35±1,56 346,2 0,00006	0,893
3.	Через 12 тиж- нів лікування	M±m % (3-1) p (3-1)	1,05±0,86 269,2 0,000012	0,63±0,35 161,6 0,001	0,202
4.	Через 24 тижні лікування	M±m % (4-1) p (4-1)	0,79±0,67 202,6 0,00032	1,28±1,06 355,6 0,00005	0,162

За даними проведеного молекулярно-генетичного дослідження цієї групи хворих, генотип *GSTM1+* мали 57,7 % хворих, генотип *GSTM1null* – 42,3 % пацієнтів (табл. 5.19). До початку терапії спостерігалась тенденція до збільшення середнього рівня активності АлАТ сироватки крові серед хворих з генотипом *GSTM1null* порівняно з пацієнтами з генотипом *GSTM1+* ($2,12\pm 1,93$ проти $1,12\pm 0,81$ ммоль/л·год, $p=0,090$). Це збігається з даними, які отримані при аналізі асоціації тяжкості перебігу ХГС з делеційним поліморфізмом *GSTM1*.

Через 12 тижнів ці показники значно не відрізнялись у пацієнтів з різними генотипами за геном *GSTM1* та становили $0,83 \pm 0,66$ ммоль/л·год для осіб з генотипом *GSTM1+* та $1,02 \pm 0,91$ ммоль/л·год для пацієнтів з генотипом *GSTM1null* ($p=0,552$).

Проте через 24 тижні терапії легалоном у пацієнтів з генотипом *GSTM1null* спостерігалось значне підвищення середнього рівня АлАТ сироватки крові порівняно з попереднім показником на 97,5 %, тоді як у пацієнтів з генотипом *GSTM1+* відмічалось зниження активності цього ферменту на 19,5 % порівняно з попереднім значенням. Таким чином, через 24 тижня терапії легалоном у хворих з генотипом *GSTM1null* спостерігались значно вищий середній рівень активності АлАТ порівнянні з хворими з генотипом *GSTM1+* ($1,40 \pm 107$ проти $0,75 \pm 0,51$ ммоль/л·год, $p=0,051$).

Таблиця 5.19

Динаміка середнього рівня активності АлАТ (ммоль/л·год) сироватки крові хворих на ХГС при фармакотерапії легалоном залежно від генотипу за геном *GSTM1*

№ №	Термін визначення	Показ- ники	Генотипи осіб, що обстежено		p (<i>GSTM1+</i> та <i>GSTM1null</i>)
			<i>GSTM1+</i> (n=15)	<i>GSTM1null</i> (n=11)	
1.	Контроль (практично здорові, n=64)	M±m %	$0,41 \pm 0,14$ 100	$0,39 \pm 0,14$ 100	0,585
2.	Хворі до поча- тку лікування	M±m % (2-1) p (2-1)	$1,12 \pm 0,81$ 273,2 0,00001	$2,12 \pm 1,93$ 543,6 0,00017	0,090
3.	Через 12 тиж- нів лікування	M±m % (3-1) p (3-1)	$0,83 \pm 0,66$ 202,4 0,0021	$1,02 \pm 0,91$ 261,5 0,00008	0,552
4.	Через 24 тижні лікування	M±m % (4-1) p (4-1)	$0,75 \pm 0,51$ 182,9 0,0002	$1,40 \pm 107$ 359,0 0,00003	0,051

Наступним етапом порівняно кількість та відсоток хворих з біохімічними показниками крові у межах здорових осіб. А також проаналізовано вплив делеційних поліморфізмів генів *GSTT1* та *GSTM1* на цю динаміку (табл. 5.20). До початку терапії серед 18 хворих з генотипом *GSTT1+* біохімічні показники здорових осіб мали 5 (27,8 %) осіб. Через 12 тижнів цей показник підвищився до 10 (55,5 %) та через 24 тижня – до 12 (66,7 %). Для пацієнтів з генотипом *GSTT1null* до початку терапії цей показник був дещо більш високим порівняно з пацієнтами з генотипом *GSTT1+* (37,5 %, $p=0,246$). Через 12 тижнів він становив 5 (62,5 %, $p=0,109$) і через 24 тижні фармакотерапії – 4 (50,0 %, $p=0,650$).

Таблиця 5.20

Біохімічна відповідь на фармакотерапію хворих на ХГС легалоном залежно від делеційних поліморфізмів генів *GSTT1* та *GSTM1*

Генотипи	Кількість та % хворих з біохімічними показниками в межах практично здорових		
	До початку лікування	Через 12 тижнів терапії	Через 24 тижні терапії
<i>GSTT1+</i> (n=18, 69,2 %)	5 (27,8 %)	10 (55,5 %)	12 (66,7 %)
<i>GSTT1null</i> (n=8, 30,8%)	3 (37,5 %)	5 (62,5 %)	4 (50,0 %)
<i>GSTM1+</i> (n=15, 57,7 %)	5 (33,3 %)	9 (60,0 %)	10 (66,7 %)
<i>GSTM1null</i> (n=11, 42,3%)	3 (27,3 %)	6 (54,5 %)	6 (54,5 %)

Серед хворих з генотипом *GSTM1+* до початку терапії дещо більша частина пацієнтів мали біохімічні показники крові у межах здорових осіб порівняно з пацієнтами з генотипом *GSTM1null* (33,3 проти 27,3 %, $p=0,741$). Через 12 тижнів терапії у пацієнтів з генотипом *GSTM1+* цей показник збільшився до 60,0 % та через 24 тижня – до 66,7 %. Водночас серед пацієнтів з генотипом *GSTM1null* кількість пацієнтів з нормальними біохімічними показниками крові збільшилась до 54,5 %, але через 24 тижні не змінилась та становила 54,5 %

хворих (при порівнянні кількості пацієнтів з різними генотипами *GSTM1* через 24 тижні терапії $p=0,530$).

Таким чином, хворі на ХГС, які мали генотипи *GSTT1+* або *GSTM1+*, демонстрували кращі результати лікування легалоном через 24 тижні терапії. Але різниця у біохімічній відповіді статистично недостовірна.

Проаналізовано вплив поліморфізму *A313G* гена *GSTP1* на біохімічну відповідь при лікуванні ХГС легалоном. За даними молекулярно-генетичного аналізу, серед 26 пацієнтів III групи генотип *AA* мали 53,8 % осіб, *AG* – 38,5 % пацієнтів і *GG* – 7,7 % хворих. Відповідно генотипи *AG+GG* було зафіксовано у 46,2 % пацієнтів.

Як наведено у табл. 5.21, до початку терапії не було значної різниці у середньому рівні активності АлАТ сироватки крові у хворих з генотипами *AA* та *AG+GG* ($1,29 \pm 1,26$ проти $1,57 \pm 1,52$ ммоль/л·год, $p=0,594$).

Таблиця 5.21

Динаміка рівня середнього рівня активності АлАТ (ммоль/л·год) сироватки крові при фармакотерапії легалоном залежно від генотипу хворих на ХГС за геном *GSTP1*

№ №	Термін визначення	Показ- ники	Генотипи осіб, що обстежено		p (<i>AA</i> та <i>AG+GG</i>)
			<i>AA</i> (n=14)	<i>AG+GG</i> (n=12)	
1.	Контроль (практично здорові, n=64)	M±m %	0,46 ± 0,16 100	0,35 ± 0,11 100	0,012
2.	Хворі до поча- тку лікування	M±m % (2-1) p (2-1)	1,29±1,26 280,4 0,00011	1,57±1,52 448,6 0,00001	0,594
3.	Через 12 тиж- нів лікування	M±m % (3-1) p (3-1)	0,70±0,42 152,2 0,0016	1,17±0,98 334,3 0,0002	0,117
4.	Через 24 тижні лікування	M±m % (4-1) p (4-1)	0,73±0,52 158,7 0,0002	1,16±1,07 331,4 0,0001	0,213

Серед пацієнтів з генотипом *AA* через 12 тижня середній рівень активності АлАт сироватки крові зменшився на 128,2 % до $0,70 \pm 0,42$ ммоль/л·год та через 24 тижні майже не змінився (збільшився на 6,5 % та становив $0,73 \pm 0,52$ ммоль/л·год).

Серед пацієнтів з генотипами *AG+GG* середній рівень активності АлАТ через 12 тижнів зменшився на 114,3 % та становив $1,17 \pm 0,98$ ммоль/л·год та через 24 тижні цей показник зменшився 2,9 % – $1,16 \pm 1,07$ ммоль/л·год. Протягом всього дослідження спостерігався більш високий середній рівень АлАТ у пацієнтів з генотипами *AG+GG*, ніж у пацієнтів з генотипом *AA*, але $p > 0,05$.

Проаналізовано кількість та відсоток хворих з біохімічними показниками крові здорових осіб до лікування, через 12 та 24 тижні терапії легалоном серед пацієнтів з генотипами *AA* та *AG+GG* (табл. 5.22).

Таблиця 5.22

Біохімічна відповідь хворих на ХГС на фармакотерапію легалоном залежно від *A313G* поліморфізму гена *GSTP1*

Генотипи	Кількість та % хворих з біохімічними показниками практично здорових осіб		
	До початку лікування	Через 12 тижнів терапії	Через 24 тижні терапії
<i>AA</i> (n=14, 53,8 %)	5 (35,7 %)	9 (64,3 %)	10 (71,4 %)
<i>AG+GG</i> (n=12, 46,2 %)	3 (25,0 %)	6 (50,0 %)	6 (50,0 %)
p (<i>AA</i> і <i>AG+GG</i>)	0,555	0,462	0,263

До початку терапії серед у 14 пацієнтів з генотипом *AA* біохімічні показники у межах практично здорових осіб мали 35,7 % пацієнтів, серед 12 з генотипами *AG+GG* – 25,0 % (при порівнянні зі здоровими донорами з різними генотипами $p=0,555$). Через 12 тижнів терапії цей показник у пацієнтів з генотипами *AA* та *AG+GG* становив відповідно 64,3 та 50,0 %, $p=0,462$. Через 24 ти-

жні більша частина хворих з генотипом *AA* мали біохімічні показники крові здорових осіб порівняно з пацієнтами, які мали генотипи *AG+GG* – відповідно 71,4 і 50,0 %, $p=0,263$.

У хворих на ХГС, які отримали терапію легалоном, краща динаміка відновлення активності АлАТ сироватки крові спостерігалась у пацієнтів з генотипом *AA*, ніж *AG+GG*. Але різниця у середніх рівнях АлАТ через 12 та 24 тижня була статистично недостовірною.

Підсумовуючи отримані дані, можна зробити наступний висновок. За аналізом рівня АлАТ у сироватці крові у хворих на ХГС з генотипом *AA* спостерігались кращі результати лікування легалоном, ніж у хворих з генотипами *AG* або *GG*.

5.3.4. Вплив поліморфізму гена *CYP2E1* у 6-му нітроні на біохімічну відповідь при фармакотерапії ХГС легалоном

Серед обстежених хворих III групи, які проходили лікування ХГС легалоном, генотип *DD* за поліморфізмом *CYP2E1**6 мали 76,9 % пацієнтів та генотип *CD* – 23,1 % осіб. Динаміка середнього рівня активності АлАТ сироватки крові пацієнтів з різними генотипами за геном *CYP2E1* наведено у табл. 5.23.

До лікування серед пацієнтів з генотипом *DD* середній рівень активності АлАТ сироватки крові склав $1,57 \pm 1,47$ ммоль/л·год. У хворих з генотипом *CD* цей показник був дещо нижчим та склав $0,90 \pm 0,82$ ммоль/л·год, $p=0,302$. Через 12 тижнів лікування у хворих з генотипом *DD* даний показник склав $0,96 \pm 0,82$ ммоль/л·год, у пацієнтів з генотипом *CD* - $0,76 \pm 0,54$ ммоль/л·год. Через 24 тижні фармакотерапії у хворих з генотипом *DD* спостерігалось підвищення значення середнього рівня активності АлАТ сироватки крові порівняно з попереднім показником у цієї групи ($1,04 \pm 0,82$ ммоль/л·год).

Динаміка середніх рівнів АлАТ сироватки крові (ммоль/л·год) при терапії
легалоном залежно від поліморфізму *CYP2E1**6 гену *CYP2E1*

№ №	Термін визначення	Показ- ники	Генотипи хворих		p (DD-CD)
			DD (n=20)	CD (n=6)	
1.	Контроль (прак- тично здорові, n=64)	M±m %	0,40±0,14 100	0,38±0,10 100	0,739
2.	До початку лі- кування	M±m % (2-1) p (2-1)	1,57±1,47 392,5 0,00001	0,90±0,82 236,8 0,262	0,302
3.	Через 12 тижнів лікування	M±m % (3-1) p (3-1)	0,96±0,82 240,0 0,00001	0,76±0,54 200,0 0,166	0,523
4.	Через 24 тижні лікування	M±m % (4-1) p (4-1)	1,04±0,82 260,0 0,0002	0,61±0,21 160,5 0,124	0,133

У осіб з генотипом *CD* через 24 тижні терапії середній рівень активності АлАТ сироватки крові зменшився до межі здорових осіб та склав $0,61 \pm 0,21$ ммоль/л·год. При порівнянні даного показника серед хворих з різними генотипами різниця статистично недостовірна ($p > 0,05$). Можливо, це пов'язано з невеликою кількістю хворих з генотипом *CD*).

Аналіз кількості та відсотка хворих з біохімічними показниками здорових осіб до лікування за даною схемою фармакотерапії та через 12, 24 тижні лікування наведено у табл. 5.24.

До лікування серед 20 осіб з генотипом *DD* біохімічні показники у межах здорових осіб були зафіксовані у 52,0 % хворих, серед пацієнтів з генотипом *CD* – у 50,0 %, $p = 0,245$. Через 12 тижнів цей показник становив 55,0 % для пацієнтів з генотипом *DD* та 66,7 % для хворих з генотипом *CD*, $p = 0,612$. Через 24 тижні терапії відсоток хворих з нормальними біохімічними показниками для осіб з генотипом *DD* залишився на попередньому рівні (55,0 %) та збільшився до 83,3 % для пацієнтів з генотипом *CD*, $p = 0,211$. Отже, пацієнти з

генотипом *CD* демонстрували кращу динаміку рівня АлАТ, але різниця статистично недостовірна.

Таблиця 5.24

Біохімічна відповідь на фармакотерапію легалоном залежно від генотипу хворих на ХГС за геном *CYP2E1*

Генотипи	Кількість і % хворих з біохімічними показниками практично здорових осіб		
	До початку терапії	Через 12 тижнів терапії	Через 24 тижні терапії
<i>DD</i> (n=20, 76,9 %)	5 (25,0 %)	11 (55,0 %)	11 (55,0 %)
<i>CD</i> (n=6, 23,1 %)	3 (50,0 %)	4 (66,7 %)	5 (83,3 %)
p (<i>DD</i> – <i>CD</i>)	0,245	0,612	0,211

Аналізуючи даний етап роботи, можна відмітити, що хворі, які мали «нормальну» активність ферментів *GSTT1*, *GSTM1*, *CYP2E1* демонстрували тенденцію до кращих результатів лікування легалоном. Можливо, це пов'язано із більш швидким метаболізмом активних форм кисню у хворих з даними генотипами.

5.4. Оцінка якості життя хворих на ХГС залежно від генотипу хворих на ХГС та схем фармакотерапії

З позицій доказової медицини, як нового і поки останнього третього підходу до фармакотерапії, основними властивостями медикаментозного лікування стає 1) ефективність, 2) безпека і 3) якість життя (ЯЖ) пацієнта на фоні проведеного лікування, які доведені в багатоцентрових клінічних дослідженнях. ЯЖ – відносно новий для медицини термін, який протягом останнього десятиріччя привертає увагу вчених усього світу. Аналіз наукових публікацій свідчить про те, що інтерес до вивчення ЯЖ та здоров'я постійно зростає [279, 280]. У нау-

кових публікаціях паралельно з питанням «скільки проживе хворий» все більше уваги приділяється питанню «як він проживе і скільки» [274, 275], тобто людство цікавить уже не миттєвий факт лікування, а тривалість і якість життя на його фоні.

Зважаючи на зростання захворюваності на ХГС, що поєднується з довготривалим і дорогим лікуванням, яке не завжди є ефективним, доцільно оцінити комплексний вплив соціально-епідеміологічних, клінічних та генетичних факторів на якість життя хворих. Відомо, що пацієнти, інфіковані вірусом гепатиту С, мають більш низькі показники якості життя порівняно зі здоровим населенням [281-283]. У пацієнтів, які досягли СВВ при проведенні протівірусної терапії ХГС, значно підвищуються показники ЯЖ відносно показників до лікування [284-286]. Відомо, що прогресування захворювання, старіння, приналежність до жіночої статі, низький соціально-економічний статус та фінансові проблеми знижують показники ЯЖ цих хворих [287]. Тому доцільно оцінити комплексний вплив соціально-епідеміологічних, клінічних та генетичних факторів на ЯЖ хворих. Це, в свою чергу, надасть змогу проаналізувати результативність конкретного виду лікування у кожного хворого не з позиції лікаря, а з позиції пацієнта, що принципово важливо, оскільки їх погляди часто не співпадають [274]. Також, показники ЯЖ, як і картина захворювання, змінюються в часі залежно від стану хворого, що може допомогти при оцінці застосованої фармакотерапії і проведення її корекції [274]. Таким чином, підвищення показників ЯЖ є стратегічним завданням лікування хворих з ХГС.

Для того, щоб оцінити як змінюється ЯЖ у хворих на ХГС упродовж фармакотерапії із різними схемами залежно від генотипу хворих, проведено анкетування пацієнтів до початку лікування і через 24 тижнів терапії. Порівняно отримані результати у пацієнтів з різними генотипами з генами *GSTs* та *CYP2E1*. До початку фармакотерапії спостерігалось зниження усіх шкал відносно даних, притаманних здоровим особам [274] (табл 5.25). Не встановлено достовірних відмінностей у значенні окремих шкал серед пацієнтів, які мали

різні генотипи за генами *GSTs* та *CYP2E1* (при порівнянні значень окремих шкал серед пацієнтів з різними генотипами $p>0,05$).

Анкетування проведено через 24 тижні після початку терапії. У всіх пацієнтів спостерігалась тенденція до збільшення показників якості життя порівняно з попередніми значеннями ($p>0,05$). Найбільш виразне підвищення ЯЖ спостерігалось серед пацієнтів I групи, які проходили лікування за схемою пегінтерферон+рибавірин (табл 5.26). Проте ці хворі у процесі фармакотерапії скаржилися на розлади у психічному стані (5 %), гастроінтестинальні порушення (7 %), грипоподібний стан (10 %) тощо. Найбільш безпечною, з даної точки зору, виявилась терапія легалоном.

Таблиця 5.25

Оцінка якості життя хворих на ХГС за шкалою SF-36 до початку лікування у пацієнтів з різними генотипами за генами *GSTs* та *CYP2E1*

Генотип хворих	Шкали здоров'я (M±m, бали)							
	PF	RP	BP	GH	VT	SF	RE	MH
<i>GSTM1/GSTT1</i>								
<i>GSTM1+</i> (n=52)	56,3 ±5,3	41,7 ±7,8	75,3 ±10,1	49,3 ±6,9	61,2 ±14,3	56,6 ±5,6	59,9 ±9,6	69,8 ±7,9
<i>GSTM1null</i> (n=25)	57,6 ±3,7	46,6 ±3,4	71,2 ±6,9	42,3 ±3,6	60,9 ±6,3	59,3 ±7,9	58,1 ±10,2	67,9 ±10,2
<i>GSTT1+</i> (n=58)	56,8 ±6,1	42,2 ±6,5	72,4 ±11,2	48,6 ±4,6	62,1 ±3,9	55,6 ±3,9	50,1 ±7,9	65,9 ±12,3
<i>GSTT1null</i> (n=19)	58,1 ±3,1	45,6 ±2,9	75,1 ±7,1	43,9 ±7,2	59,8 ±10,9	58,3 ±7,9	58,9 ±11,1	66,3 ±8,2
<i>GSTP1</i>								
AA (n=34)	55,3 ±2,9	45,3 ±3,6	76,3 ±6,5	42,9 ±6,5	62,1 ±3,9	59,3 ±5,6	58,9 ±9,9	64,9 ±12,9
AG+GG (n=43)	57,3 ±1,7	41,9 ±7,2	72,3 ±11,6	49,3 ±3,2	60,9 ±9,9	56,3 ±7,2	59,9 ±7,8	68,1 ±9,3
<i>CYP2E1</i>								
DD (n=59)	56,5 ±3,4	43,2 ±3,3	71,8 ±10,2	44,6 ±3,9	59,3 ±7,9	57,7 ±7,7	50,1 ±10,1	65,9 ±9,5
CD (n=18)	57,8 ±2,7	44,9 ±3,6	78,9 ±3,9	48,1 ±7,6	62,3 ±9,1	58,9 ±9,0	49,7 ±8,3	69,0 ±6,3

Привертають увагу дещо більш високі показники ЯЖ ($p>0,05$) серед пацієнтів I групи, які мали генотипи *AG* або *GG* за геном *GSTP1* та генотип *CD* за геном *CYP2E1*. Ці дані збігаються з більшим відсотком розвитку ШВВ або РВВ та більш швидким відновленням активності АлАТ сироватки крові серед пацієнтів з даними генотипами. Таким чином, у пацієнтів з генотипами *AG* або *GG* за геном *GSTP1* та *CD* за геном *CYP2E1* на фоні кращих результатів пегінтерферонотерапії спостерігаються більш високі показники якості життя.

Серед пацієнтів II групи, які проходили лікування за схемою аміксин+рибавірин, через 24 тижні фармакотерапії спостерігалась деяка тенденція до підвищення ЯЖ хворих, проте цей показник був недостовірним і не залежав від генотипу хворих (табл. 5.27).

Таблиця 5.26

Показники якості життя хворих на ХГС I групи через 24 тижні терапії
залежно від поліморфізму генів *GSTs* та *CYP2E1*

Генотип хворих	Шкали здоров'я (M±m, бали)							
	PF	RP	BP	GH	VT	SF	RE	MH
<i>GSTM1/GSTT1</i>								
<i>GSTM1+</i> (n=27)	76,6 ±3,3	66,4 ±3,8	80,2 ±4,1	61,5 ±3,9	80,3 ±5,3	80,1 ±3,2	88,7 ±4,6	76,3 ±2,9
<i>GSTM1null</i> (n=6)	70,5 ±4,8	63,6 ±2,1	88,7 ±3,9	68,6 ±5,6	77,2 ±7,3	84,5 ±3,3	89,9 ±3,2	70,9 ±4,2
<i>GSTT1+</i> (n=23)	78,7 ±4,1	62,2 ±7,3	89,3 ±5,2	60,1 ±5,6	79,0 ±5,9	81,1 ±2,9	85,6 ±8,0	75,1 ±5,3
<i>GSTT1null</i> (n=10)	73,1 ±5,1	67,6 ±3,9	80,1 ±7,1	64,4 ±3,2	81,3 ±2,9	80,9 ±4,4	89,7 ±5,1	77,1 ±4,2
<i>GSTP1</i>								
<i>AA</i> (n=12)	71,3 ±4,2	65,4 ±4,4	81,3 ±4,5	60,1 ±9,5	76,6 ±2,8	75,3 ±7,6	85,6 ±10,9	70,6 ±11,3
<i>AG+GG</i> (n=21)	78,5 ±2,6	71,1 ±1,5	89,6 ±2,6	62,4 ±4,2	81,7 ±3,9	84,1 ±1,9	89,7 ±5,1	73,2 ±6,3
<i>CYP2E1</i>								
<i>DD</i> (n=24)	72,5 ±5,4	65,2 ±4,6	87,2 ±5,2	59,7 ±3,9	78,1 ±5,9	79,9 ±5,7	82,9 ±9,1	70,0 ±9,5
<i>CD</i> (n=9)	79,8 ±1,2	72,9 ±4,2	90,9 ±3,9	68,0 ±1,0	83,0 ±1,0	85,0 ±2,1	88,9 ±9,3	73,7 ±6,3

Серед пацієнтів III групи, які проходили лікування легалоном, спостерігалось позитивна тенденція підвищення ЯЖ через 24 тижнів терапії (табл. 5.28). При порівнянні показників якості життя серед пацієнтами цей групи, які мали різні генотипи за генами *GSTs* та *CYP2E1* істотної різниці не відмічалось ($p>0,05$). Фармакотерапія легалоном виявилась найбільш безпечною. Хворі не відмічали будь-яких небажаних ефектів.

Сумуючи дані, отримані у ході дослідження можна зробити висновок, що виявлена тенденція до збільшення показників якості життя пацієнтів, які мають генотипи *AG* або *GG* за геном *GSTP1* та генотип *CD* за геном *CYP2E1* через 24 тижнів пегінтерферонотерапії. Ймовірно, це пов'язано з кращими результатами лікування за схемою пегінтерферон + рибавірин серед пацієнтів з даними генотипами.

Таблиця 5.27

Оцінка якості життя хворих на ХГС II групи через 24 тижні терапії
залежно від поліморфізму генів *GSTs* та *CYP2E1*

Генотип хворих	Шкали здоров'я (M±m, бали)							
	PF	RP	BP	GH	VT	SF	RE	MH
<i>GSTM1/GSTT1</i>								
<i>GSTM1+</i> (n=13)	66,2 ±4,8	52,3 ±3,8	78,3 ±3,1	59,1 ±4,9	69,2 ±5,3	59,6 ±5,6	63,9 ±5,6	70,9 ±7,9
<i>GSTM1null</i> (n=5)	59,6 ±2,7	42,2 ±2,4	79,2 ±4,9	49,9 ±3,6	65,9 ±6,3	60,3 ±3,9	59,1 ±10,2	72,9 ±5,2
<i>GSTT1+</i> (n=13)	66,8 ±4,2	51,8 ±6,5	77,4 ±5,2	49,6 ±1,6	69,1 ±3,9	59,6 ±3,9	62,1 ±3,9	70,9 ±6,3
<i>GSTT1null</i> (n=5)	59,1 ±2,1	45,9 ±4,8	79,1 ±2,1	58,9 ±3,2	62,8 ±3,9	58,3 ±1,9	58,9 ±9,1	73,3 ±8,2
<i>GSTP1</i>								
<i>AA</i> (n=8)	65,8 ±2,9	50,3 ±2,6	71,3 ±4,5	49,9 ±4,5	62,3 ±3,9	61,3 ±1,6	60,9 ±7,9	70,9 ±9,9
<i>AG+GG</i> (n=10)	59,3 ±1,9	53,3 ±4,2	79,2 ±1,9	49,3 ±1,2	69,9 ±1,9	59,3 ±3,2	59,9 ±7,8	68,9 ±9,3
<i>CYP2E1</i>								
<i>DD</i> (n=15)	60,5 ±2,4	49,3 ±2,3	70,6 ±10,2	49,9 ±3,9	60,3 ±3,9	59,7 ±7,7	59,1 ±7,1	65,9 ±9,5
<i>CD</i> (n=3)	67,8 ±1,7	53,1 ±1,6	79,9 ±1,9	53,1 ±4,6	69,3 ±1,1	62,9 ±9,0	60,7 ±8,1	71,0 ±1,3

Оцінка якості життя хворих на ХГС III групи через 24 тижні терапії
залежно від поліморфізму генів *GSTs* та *CYP2E1*

Генотип хворих	Шкали здоров'я (M±m, бали)							
	PF	RP	BP	GH	VT	SF	RE	MH
<i>GSTM1/GSTT1</i>								
<i>GSTM1+</i> (n=18)	69,1 ±3,8	54,8 ±3,8	72,3 ±5,1	59,9 ±7,9	73,2 ±5,3	62,6 ±5,6	66,1 ±1,6	72,8 ±7,9
<i>GSTM1null</i> (n=8)	62,1 ±1,7	49,2 ±2,4	75,2 ±4,8	52,9 ±3,6	69,9 ±6,3	60,9 ±3,9	59,1 ±2,2	71,9 ±5,2
<i>GSTT1+</i> (n=15)	69,8 ±4,2	53,8 ±6,5	76,4 ±2,2	52,9 ±2,6	70,1 ±3,9	61,6 ±3,9	67,1 ±3,9	72,9 ±6,3
<i>GSTT1null</i> (n=11)	61,1 ±3,1	49,9 ±4,8	73,1 ±4,1	58,9 ±1,2	72,8 ±3,9	59,3 ±1,9	59,9 ±9,1	70,3 ±8,2
<i>GSTP1</i>								
AA (n=14)	69,2 ±1,9	54,3 ±2,6	77,3 ±1,5	56,9 ±4,5	72,3 ±3,9	63,3 ±1,6	65,9 ±7,9	72,9 ±9,9
AG+GG (n=12)	63,9 ±2,8	50,3 ±4,2	73,2 ±4,9	57,3 ±1,2	71,9 ±1,9	59,9 ±3,2	63,9 ±2,8	69,9 ±9,3
<i>CYP2E1</i>								
DD (n=20)	60,7 ±3,4	50,3 ±2,3	71,7 ±10,2	57,9 ±3,9	70,3 ±3,9	59,9 ±7,7	60,1 ±7,1	74,9 ±3,8
CD (n=6)	69,8 ±2,7	53,1 ±3,6	76,9 ±2,4	58,1 ±1,6	74,3 ±1,1	64,2 ±9,0	67,7 ±2,1	70,0 ±1,3

Результати досліджень даного розділу опубліковано:

1. 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.

2. Остапчук К. В. Ефективність протівірусної 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.

3. Кресюн В. Й. Визначення поліморфізмів генів *CYP2E1* і *GSTP1* як предикторів ефективності інтерферонотерапії хронічного гепатиту С / В. Й. Кре-

сюн, В. В. Годован, К. В. Остапчук : інформ. лист / Одеський нац. мед. університет. – К., 2014. – 3 л. – Вип. із пробл. – (Клінічна фармакологія і клінічна фармація).

4. Остапчук К. В. Асоціація поліморфізму *CYP2E1*6* гену *CYP2E1* з ризиком розвитку та тяжкістю перебігу хронічного гепатиту С / В. В. Годован, К.В. Остапчук // Запорізьський медичний журнал. – 2014. – № 84. – С. 67–70.

5. 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.).

6. 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 : між нар. наук.-практ. конф. : 4-5 жовтня 2013 р., Дніпропетровськ : матер. – Дніпропетровськ, 2013. – С. 74–76.

7. Остапчук К. В. Аналіз впливу *A313G* поліморфізму гену *GSTP1* на швидкість вірусологічної відповіді у хворих на хронічний гепатит С при терапії за схемою ген інтерферон+рибавірин / К. В. Остапчук, В. В. Годован // Охорона та захист здоров'я людини в умовах сьогодення : між нар. наук.-практ. конф., 25-26 жовтня 2013 р., Київ : тези доп. – К., 2013. – С. 48–51.

8. 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.

9. Остапчук К. В. Вплив поліморфізмів генів *GSTT1* та *GSTM1* на ефективність лікування хворих на хронічний гепатит С / В. В. Годован, К. В. Оста-

пчук // Українські медичні вісті. – 2013. – Т. 10(1-4). – С. 271 (XII з'їзд Всеукраїнського лікарського товариства (ВУЛТ) : 5-7 вересня 2013 р., Київ : матер.).

10. 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 : 3-я науч.-практ. конф. : 23-24 жовтня 2013 р., Київ : матер. – К. : 2013. – С. 98–99.

11. 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.

12. 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 між нар. наук.-практ. конф. : 29-30 травня 2014 р., Одеса : матер. – Одеса, 2014. – С. 49–50.

13. 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 : 10-а між нар. наук.-практ. конф. : 26-28 травня 2014 р., Полтава : матер. – Полтава, 2014. – С. 47–49.

14. 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 : між нар. 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.

15. 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.

РОЗДІЛ 6.

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ

При хронічному гепатиті С виникають складні взаємовідношення між організмом інфікованої людини і збудником захворювання, які впливають як на розвиток та тяжкість перебігу хвороби, так і на ефективність лікування. Відомо, що хронізація процесу спостерігається у 80 % інфікованих [41]. У 20 % пацієнтів інфекційний процес завершується самолікуванням [40, 41].

Сучасні методи протівірусної терапії є ефективними у 40 % мешканців Північної Америки та у 50 % європейців при генотипі вірусу 1b [53]. Водночас 80 % хворих, які інфікованих вірусом з генотипом 3a, досягають СВВ при пегінтерферонотерапії [6]. Однак ефективність лікування залежить не тільки від генотипу вірусу (гірші результати лікування спостерігаються у людей інфікованих вірусом з генотипом 1b), а й від генетичних особливостей пацієнтів.

Відомо, що важливою ланкою у патогенезі ХГС є оксидативний стрес, при якому в гепатоцитах накопичуються АФК і активні форми нітрогену [96-98]. Наслідком цього є хронізація процесу, розвиток таких ускладнень як фіброз печінки і гепатоцелюлярна карцинома [134-137].

Важливу роль у метаболізмі АФК і нітрогену в гепатоцитах відіграють ферменти I та II фаз метаболізму ксенобіотиків [100-103]. У метаболічному циклі найважливішого печінкового ферменту I фази метаболізму ксенобіотиків CYP2E1 утворюються АФК. Генетичні поліморфізми CYP2E1, які підвищують активність ферменту, можуть викликати більше пошкодження структур клітин печінки і сприяти як хронізації процесу у інфікованих вірусом гепатиту С, так і розвитку ускладнень і впливати на ефективність лікування ХГС [98]. Крім того, в реакціях за участю CYP2E1 утворюються токсичні метаболіти ксенобіотиків [152]. Поліморфні варіанти CYP2E1 із підвищеною активністю можуть підвищувати продукцію гепатотоксичних ксенобіотиків [24].

Ферменти II фази метаболізму ксенобіотиків, навпаки, метаболізують АФК і нітроген, тим самим захищаючи гепатоцити [100-103]. Вони також проводять детоксикацію токсичних речовин, які утворюються в реакціях I фази метаболізму ксенобіотиків.

При ХГС прискорюються реакції за участю глутатіону, активуються фактори транскрипції (Nrt1, Nrt2), які підвищують продукцію ферментів II фази метаболізму ксенобіотиків, і у тому числі глутатіон-S-трансфераз [145-148]. Генетичні поліморфізми GSTs, які знижують активність відповідних ферментів, здатні послабляти захист клітин від АФК, гепатотоксикантів, що негативно впливає на розвиток ХГС і ефективність його лікування.

Дана робота присвячена оптимізації фармакотерапії, підвищенню безпечності та якості життя хворих на ХГС на підставі встановлення впливу поліморфізмів генів ферментів I та II фаз метаболізму ксенобіотиків (*GSTs* та *CYP2E1*) на ризик розвитку, тяжкість перебігу та ефективність лікування даної патології за різними схемами. Для дослідження відібрано 77 хворих на ХГС, які проходили амбулаторне лікування в Одеській міській клінічній інфекційній лікарні. Основними критеріями залучення у дослідження були мешканці Одеського регіону, наявність ХГС, відсутність супутньої тяжкої соматичної патології та гепатитів іншої етіології. Дані щодо верифікації діагнозу ХГС, перебігу захворювання, результати біохімічних, вірусологічних досліджень, ступеня фіброзоутворення, схеми фармакотерапії отримано при ретроспективному аналізі амбулаторних карт хворих. Для молекулярно-генетичного дослідження проведено забір венозної крові пацієнтів. Контрольну групу склали 64 практично здорових донори – мешканці Одеського регіону, зразки венозної крові і результати біохімічного дослідження сироватки крові яких було отримано у Одеській обласній станції переливання крові. Для досягнення мети та вирішення задач, що поставлено, дослідження проведено у декілька етапів.

Першим етапом визначено особливості делеційних поліморфізмів генів *GSTT1* та *GSTM1*, *A313G* поліморфізму гена *GSTP1* та поліморфізму *CYP2E1**6

в Одеському регіоні. Обстежені групи (контрольна і хворих на ХГС) були рівнозначними за статтю і віком осіб.

Аналіз результатів молекулярно-генетичних досліджень виявив, що у здорових мешканців Одеського регіону частоти обраних поліморфізмів генів *GSTs* та *CYP2E1* не відрізнялись від популяційних частот, що встановлені для європейських популяцій [154]. 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* та *CYP2E1* відповідали закону Харді-Вайнберга, що свідчить про те, що обстежена контрольна група знаходилась у стані генетичної рівноваги. Не виявлено суттєвих гендерних відмінностей у частоті всіх досліджуваних поліморфізмів генів *GSTT1*, *GSTM1*, *GSTP1*, *CYP2E1* серед обстежених контрольної групи.

Проаналізовано вплив поліморфізмів генів ферментів I та II фаз метаболізму ксенобіотиків на активність маркерного ферменту печінки – АлАТ сироватки крові – у здорових мешканців Одеського регіону. Виявлено вплив поліморфізму гена *GSTP1* на середню активність АлАТ. А саме, у обстежених з генотипом *AA* спостерігалась більш висока активність АлАТ сироватки крові порівняно з особами, які мають генотипи *AG* або *GG* ($0,46 \pm 0,16$ проти $0,35 \pm 0,11$ ммоль/л-год, $p=0,012$). Не відмічено істотної різниці у активності АлАТ у здорових донорів з різними генотипами *GSTT1*, *GSTM1* та *CYP2E1*. Так, у обстежених з генотипами *GSTT1+* та *GSTT1null* активність АлАТ становила $0,39 \pm 0,14$ і $0,39 \pm 0,14$ ммоль/л-год відповідно ($p=0,919$); серед осіб з генотипами *GSTM1+* і *GSTM1null* – відповідно $0,41 \pm 0,14$ і $0,39 \pm 0,14$ ммоль/л-год ($p=0,585$); серед осіб з генотипами *DD* та *CD* за геном *CYP2E1* – відповідно $0,40 \pm 0,14$ проти $0,38 \pm 0,11$ ммоль/л-год ($p=0,739$).

Серед хворих на ХГС у 63,6 % виявлено 1b генотип вірусу, тільки 3,9 % – 2 та 32,5 % – 3a, тобто в Одеському регіоні найбільш поширеним є генотип вірусу 1b, що асоційований з більш тяжким перебігом хвороби [6]. Спостерігалась також тенденція до збільшення частоти генотипу 1b вірусу та зменшення частоти генотипу 3a серед жінок, ніж чоловіків.

Прогнозування індивідуального ризику розвитку, хронізації та тяжкості перебігу ХГС може мати велике значення у підборі більш адекватної фармако-терапії. Тому наступним етапом дисертаційної роботи проведено аналіз можливої асоціації поліморфізмів генів *GSTs* та *CYP2E1* з ризиком розвитку ХГС та тяжкістю перебігу захворювання.

Для визначення можливої асоціації поліморфізму обраних генів з ризиком розвитку захворювання проведено молекулярно-генетичне дослідження хворих на ХГС порівняно з даними, які отримано для здорових мешканців Одеського регіону. Аналіз частоти генетичних поліморфізмів глутатіон-S-трансфераз 3-х типів (*GSTT1*, *GSTM1*, *GSTP1*) виявив достовірну асоціацію частоти ХГС в Одеському регіоні тільки з делеційним поліморфізмом *GSTM1*. Ризик розвитку ХГС був у 2 рази вищим у пацієнтів з генотипом *GSTM1+* порівняно з *GSTM1null* (67,9 проти 60,0 %; $p < 0,05$; OR=2,21; 95 % CI=1,08-4,16). Отримані результати протилежні висновкам інших авторів, які виявили асоціацію ризику розвитку хронічних захворювань печінки із генотипом *GSTM1null* [236-240] і у тому числі ХГС [248]. Водночас в літературі є дані стосовно асоціації генотипу *GSTM1+* із підвищенням ризику розвитку хронічних захворювань печінки. Так, продемонстровано асоціацію генотипу *GSTM1+* із підвищеним ризиком розвитку цирозу печінки алкогольної і змішаної (віруси гепатиту В, С, алкоголь) етіології [244]. Крім того, делеція гена *GSTM1* була асоційована з більшим виживанням хворих на цироз печінки [245].

Отримані у ході дослідження результати, які вказують на асоціацію генотипу *GSTM1+* із ризиком розвитку ХГС, потребують додаткового обговорення. Відомо, що генотип *GSTM1+* характеризується «нормальною» активністю ферменту. Навпаки, при генотипі *GSTM1null* (делеція гена) фермент не синтезується.

ся. Теоретично генотип *GSTM1+* повинен бути захисним у розвитку ХГС, але отримано протилежні результати. Можливо, це може бути пов'язано із біологічною роллю АФК у клітинах. З одного боку, АФК, які накопичуються у клітинах при оксидативному стресі, ушкоджують структури гепатоцитів. З іншого боку, вони відіграють важливу роль у нормальному функціонуванні імунної системи, проліферації Т-лімфоцитів та імунологічної відповіді [108-111]. Можливо, у інфікованих вірусом гепатиту С на початкових стадіях інфекційного процесу АФК, що утворюються, виконують захисні функції. У хворих з генотипом *GSTM1+* АФК швидше метаболізуються та їх захисна роль знижується. Це призводить до більш слабкої імунної відповіді на інфекційний процес, сприяючи хронізації інфекції у пацієнтів з генотипом *GSTM1+*.

Такий висновок дозволяють зробити також дані аналізу вірусного навантаження у хворих на ХГС, інфікованих вірусом з генотипом 1b. У групі пацієнтів з високим вірусним навантаженням частіше зустрічався генотип *GSTM1+*, ніж у хворих з низьким вірусним навантаженням (85,0 проти 15,0 %, $p=0,080$).

Слід звернути увагу, що дані стосовно асоціації розвитку хронічних захворювань печінки із поліморфізмом GSTs суттєво варіюють у різних популяціях. Наприклад, асоціацію генотипу *GSTM1null* із ризиком розвитку хронічних захворювань печінки виявлено в азіатських країнах [232-234], але в багатьох європейських країнах таку асоціацію не виявлено [241, 244]. Можливо, це може бути пов'язано із різною частотою поліморфізмів відповідних генів у різних популяціях. Не виключається також наявність в Одеському регіоні гепатотоксичних ксенобіотиків, які метаболізуються за участю *GSTM1* з утворенням речовин з більшою токсичністю. Це також може пояснити отриману у дослідженні асоціацію ризику розвитку ХГС із генотипом *GSTM1+*.

Асоціацію генотипу *GSTM1+* із підвищеним ризиком розвитку захворювання описано для деяких форм раку [260]. Протективну роль генотипу *GSTM1null* при певних формах раку можна пояснити тим, що деякі мутагени і канцерогени не тільки не дезактивуються шляхом кон'югації з глутатіоном, а навпаки активуються. Крім того, GSTs можуть швидко метаболізувати цитоста-

тики, які використовуються для хіміотерапії пухлин [261]. Наприклад, встановлено, що під впливом поліараматичних вуглеводів (ПАВ) в мононуклеарних лейкоцитах утворюються специфічні пошкодження ДНК (так звані ДНК-адукти). Гепатотоксичний ефект ПАВ суттєво вищий у людей, які мають генотип *GSTM1+*, порівняно із гомозиготами за алеллю «null» [261]. Водночас, в інших дослідженнях встановлена асоціація підвищеної гепатотоксичності ПАВ з генотипом *GSTM1null* [262].

Інший можливий механізм підвищеного ризику розвитку ХГС у хворих із генотипом *GSTM1+* пов'язаний із більш швидким виснаженням глутатіону хворих з генотипом *GSTM1+*, що за принципом зворотного зв'язку може послабити захист клітин від АФК, які утворюються в гепатоцитах інфікованих осіб. Вказівки на такий ефект *GST+* є в літературі [260, 261].

Не виявлено асоціації ризику розвитку ХГС з делеційним поліморфізмом гена *GSTT1*. Слід звернути увагу на те, що в багатьох дослідженнях також не виявлено асоціації поліморфізму цього гена із розвитком захворювань печінки різної етіології, у тому числі фіброзу печінки при вживанні алкоголю [240], неалкогольної жирової хвороби печінки [242], хронічних хвороб печінки, асоційованих з вірусами гепатитів А, В, С [243, 245].

Таким чином, можна констатувати більшу роль ферменту *GSTM1* у патогенезі хронічних захворювань печінки, у тому числі ХГС, порівняно з ферментом *GSTT1*. Можливо, це пов'язано із меншою частотою генотипу *GSTT1null* в Одеському регіоні.

Також не виявлено істотних відмінностей у частоті поліморфізму *A313G* гена *GSTP1* та поліморфізму *CYP2E1*6* у хворих на ХГС і контрольній групі. Таким чином, не встановлено асоціації між ризиком розвитку ХГС та поліморфізмами *A313G* гена *GSTP1* і *CYP2E1*6*.

Для аналізу асоціації тяжкості перебігу ХГС з поліморфізмами генів ферментів біотрансформації ксенобіотиків порівняно дані вірусологічних, біохімічних досліджень крові, стандартного тесту «Fibromax» до початку фармакотерапії серед пацієнтів з різними поліморфізмами генів *GSTs* та *CYP2E1*.

Аналіз тяжкості перебігу ХГС залежно від делеційних поліморфізмів генів *GSTT1* та *GSTM1* виявив таку асоціацію із поліморфізмом *GSTM1+*. Але якщо ризик розвитку ХГС асоційовано з генотипом *GSTM1+*, то більш тяжкий перебіг захворювання спостерігався у хворих з генотипом *GSTM1null*. Так, у хворих з генотипом *GSTM1null* порівняно з особами, які мали генотип *GSTM1+*, до початку лікування суттєво вищі рівні активності маркерних ферментів цитолізу – АлАТ ($1,98 \pm 1,54$ проти $1,32 \pm 1,02$ ммоль/л·год, $p=0,033$), АсАТ ($1,08 \pm 0,90$ проти $0,62 \pm 0,50$ ммоль/л·год, $p=0,041$) і вмісту загального білірубину ($23,60 \pm 14,30$ проти $13,60 \pm 3,50$ мкмоль/л, $p=0,013$) сироватки крові. Водночас серед пацієнтів з генотипом *GSTM1+* спостерігалась тенденція ($p=0,080$) до збільшення частоти хворих з високим вірусним навантаженням.

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 виявлено (F1-F4) у 45,5 % хворих, а у пацієнтів з генотипом *GSTM1+* – тільки у 12,5 % ($p=0,023$).

Частота розвитку фіброзу печінки у хворих, які були інфіковані вірусом з генотипами 2 та 3a, не залежала від делеційних поліморфізмів генів *GSTT1* та *GSTM1*. Можливо, це пов'язано з меншим ризиком розвитку ускладнень, у тому числі розвитку фіброзу печінки, серед пацієнтів, які інфіковані вірусами з даними генотипами [6].

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 гомозигот за делецією гена *GSTM1*.

Як відомо, важливу роль у захисті гепатоцитів від АФК і гепатотоксичних речовин має фермент GSTP1. Одним з найпоширеніших поліморфізмів цього гена у різних популяціях є поліморфізм A313G. У людей з генотипами AG і GG активність ферменту GSTP1 суттєво знижується порівняно з особами, які мають генотип AA. Проте, слід зазначити, що каталітична активність ферменту

GSTP1 суттєво залежить від типу субстрату [258]. Тобто у людей з генотипами *AG* і *GG* активність ферменту знижено відносно одних ксенобіотиків, але може бути підвищено відносно інших. За даними різних авторів, генотипи *AG* і *GG* асоційовано із ризиком розвитку гепатитів різної етіології (хронічний гепатит В, алкогольна і неалкогольна хвороби печінки, цироз печінки у інфікованих вірусом гепатиту В) [247 264 - 267]. Але у ході даного дослідження не виявлено впливу *A313G* поліморфізму гена *GSTP1* на тяжкість перебігу ХГС. А саме, була відсутня різниця у частоті поліморфізму *A313G* гена *GSTP1* у пацієнтів, інфікованих вірусами з різними генотипами (1b, 2, 3a), а також асоціація даного поліморфізму з рівнями вірусного навантаження, біохімічних показників крові та стадією розвитку фіброзу печінки у хворих на ХГС.

Натомість встановлено, що поліморфізм *CYP2E1*6* впливає на тяжкість перебігу ХГС. 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 %, $p=0,026$). При цьому відмічалась тенденція до збільшення середнього рівня активності АлАТ сироватки крові у пацієнтів з генотипом *DD* порівняно з особами, які мали генотип *CD*. Ймовірно статистично недостовірні результати ($p>0,05$) 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 %, $p=0,009$; 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*.

Відомо, що фермент *CYP2E1* відіграє важливу роль у I фазі метаболізму ксенобіотиків [152, 153]. Його генетичні поліморфізми мають значення у розвитку багатьох захворювань печінки, у тому числі ізоніазидового гепатиту [191-193], алкогольної хвороби печінки [195], цирозу печінки алкогольної і неалкогольної етіології [197-200], вірусних гепатитів А і В [205-207].

Слід відмітити, що алель *D* – це дикий алель, який кодує фермент із нормальною активністю. Алель *C* є мутантним, він кодує фермент з підвищеною активністю. Відомо, що в реакціях за участю ферменту *CYP2E1* завжди утворюються АФК. Підвищена експресія гена *CYP2E1* може викликати оксидативний стрес без дії токсичних речовин [153-155]. Індукований *CYP2E1* оксидативний стрес – основний патогенетичний механізм токсичного ефекту етанолу і розвитку жирової дистрофії печінки алкогольної етіології [26, 162], а також неалкогольного стеатогепатиту [25] та інших захворювань печінки. Крім того, в реакціях I фази метаболізму ксенобіотиків можуть утворюватися метаболіти з високою токсичністю [158-161]. Логічно було би припустити, що генотип *CD*, при якому синтезується фермент з підвищеною активністю, повинен бути асоційованим з більш тяжким перебігом ХГС, але отримано протилежні результати. Можливо, це пов'язано із більш швидким метаболізмом гепатотоксичних ксенобіотиків, або гепатотоксичних метаболітів, які утворюються у хворих на ХГС. Патогенез цієї асоціації потребує подальшого вивчення.

Результати проведеного дослідження підтверджуються висновками інших авторів, які спостерігали протективний ефект мутантного алеля *C* у розвитку захворювань печінки різної етіології [191-194]. Отримані результати також збігаються із визначеним у даному дослідженні більшим рівнем активності АЛАТ сироватки крові у здорових донорів із генотипом *AA* за геном *GSTP1*, який характеризується нормальною активністю ферменту і повинен виконувати захисні функції, порівняно з обстеженими, які мають генотипи *AG* або *GG*.

Підсумовуючи отримані дані, слід підкреслити, що поліморфізми генів детоксикації ксенобіотиків I та II фаз можуть обумовлювати індивідуальні особливості перебігу інфекційного процесу при ХГС. Вони впливають як на ризик розвитку, так і на тяжкість перебігу захворювання. Результати дослідження вказують на те, що ефективність лікування ХГС також може бути асоційована з поліморфізмами генів метаболізму ксенобіотиків.

Відомо, що золотим стандартом лікування ХГС є комбінація пегінтерферону з рибавірином [6, 35]. Відомо, що ефективність даної схеми фармакотера-

пії варіює від 40-50 % (для пацієнтів інфікованих вірусом з генотипом 1b) до 80 % (для хворих з генотипом вірусу 3a). Натомість дана терапія супроводжується розвитком багатьох ускладнень, які часто змушують припинити дане лікування та змінити стандартну схему фармакоterapiї на альтернативні методи. Як альтернативні схеми фармакоterapiї пропонується застосування індуктора інтерферону аміксину з аналогом нуклеозидів рибавірином або використання гепатопротектора легалону. Тому хворих було поділено на 3 групи залежно від схеми фармакоterapiї: I група – 33 пацієнти, які проходили лікування за схемою пегінтерферон + рибавірин; II група – 18 хворих на ХГС, яким застосовували аміксин + рибавірин; III група – 26 пацієнтів, яким був призначено легалон.

Ефективність пегінтерферонотерапії ХГС (I група хворих) оцінювали за вірусологічною та біохімічною відповідями. Відомо, що важливим показником ефективності лікування є стійка вірусологічна відповідь (СВВ) – відсутня детекція РНК вірусу через 24 тижні після закінчення лікування. Вважається, що 90% пацієнтів, які досягли СВВ повністю вилікувались [6]. Предиктором СВВ можуть бути швидка вірусологічна відповідь (ШВВ – відсутність РНК вірусу через 4 тижні лікування) і рання вірусологічна відповідь (РВВ – відсутність РНК вірусу через 12 тижнів лікування). Майже 90 % хворих із ШВВ або РВВ досягають СВВ [69]. Також важливим показником ефективності пегінтерферонотерапії є динаміка активності АЛАТ сироватки крові. Тому проаналізовано вірусологічну та біохімічну відповіді серед пацієнтів I групи з різними генотипами за генами *GSTs* та *CYP2E1*.

Аналіз впливу поліморфізмів генів ферментів детоксикації ксенобіотиків на ефективність фармакоterapiї ХГС за схемою пегінтерферон+рибавірин показав, що делеційні поліморфізми генів *GSTT1* і *GSTM1* не впливали на швидкість вірусологічної відповіді в даній групі хворих. Проте привертає увагу факт відсутності вірусологічної відповіді (ВВ) тільки у хворих, які мали високе вірусне навантаження до лікування та комбінацію генотипів *GSTT1+/GSTM1+*.

У пацієнтів на ХГС з генотипом *GSTM1null* до початку лікування за схемою пегінтерферон+рибавірин відмічались більш високі рівні середньої актив-

ності 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 активності АлАТ сироватки крові у цих пацієнтів.

Не відмічалось істотних 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. 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 %, $p=0,004$). 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 %, $p=0,004$).

Більш швидка вірусологічна відповідь у хворих з алелем *G* у генотипі також підтверджується більш швидким відновленням активності АлАТ сироватки крові. У хворих з генотипами *AG* або *GG* значно швидше спостерігалось відновлення активності АлАТ (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, 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, $p=0,030$). 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*. Таким чином, *A313G* поліморфізм гена *GSTP1* впливав на ефективність лікування ХГС за схемою пегінтерферон + рибавірин. Кращі результати лікування (більш швидка вірусологічна відповідь, відновлення активності АлАТ крові) спостерігається у пацієнтів з генотипами *AG* або *GG*.

Також знайдена асоціація поліморфізму *CYP2E1**6 з ефективністю пегінтерферонотерапії. А саме, поліморфізм *CYP2E1**6 впливав на вірусологічну та біохімічні відповіді при використанні даної схеми. Значно більша частина хворих з генотипом *CD* за геном *CYP2E1* мали ШВВ або РВВ, ніж пацієнти з генотипом *DD* (88,9 проти 45,8 %, $p=0,026$). Відповідно у достовірно більшої частини хворих, які мали генотип *DD*, були УВВ+ВВ, ніж у пацієнтів з генотипом *CD* (54,2 проти 11,1 %, $p=0,026$).

Також відмічалась більш швидка біохімічна відповідь на лікування пегінтерфероном+рибавірином у пацієнтів із мутантним алелем *C* за геном *CYP2E1* у генотипі. А саме спостерігалось більш швидке (через 12 тижнів фармакотерапії) відновлення біохімічних показників сироватки крові (активність АлАТ, АсАТ, вмісту загального білірубіну) у пацієнтів з генотипом *CD* порівняно з пацієнтами з генотипом *DD* (88,9 проти 50,0 %, $p=0,042$). Також спостерігалась тенденція до збільшення частини хворих з біохімічними показниками сироватки крові у межах здорових осіб через 24 тижні терапії серед пацієнтів з генотипом *CD* відносно хворих з генотипом *DD* (відповідно 100,0 і 65,4 %, $p=0,068$). Відмічалась тенденція до більш значного зниження середньої активності АлАТ сироватки крові серед хворих I групи з генотипом *CD* порівняно з генотипом *DD*. А саме, до початку терапії не відмічалось істотних відмінностей у активності АлАТ у пацієнтів з поліморфізмами *CYP2E1**6. Але, через 12 тижнів терапії спостерігалось суттєве зниження активності цього ферменту у хворих з генотипом *CD* ($0,49\pm 0,09$ ммоль/л-год) порівняно з особами з генотипом *DD* ($0,81\pm 0,59$ ммоль/л-год, $p>0,05$). Через 24 тижні лікування у хворих з генотипом *CD* активність АлАТ сироватки крові не відрізнялась від даного показника у контрольній групі з генотипом *CD* ($0,32\pm 0,11$ проти $0,38\pm 0,11$ ммоль/л-год, $p=0,149$). Натомість серед осіб з генотипом *DD* через 24 тижні терапії активність АлАТ суттєво відрізнялась від активності даного ферменту у здорових донорів, носіїв даного генотипу ($0,65\pm 0,53$ проти $0,40\pm 0,14$ ммоль/л-год, $p=0,021$). Враховуючи цей факт, що тенденція до більш швидкої біохімічної відповіді серед пацієнтів з генотипом *CD* співпадає з більш швидкою вірусологічною відповіддю серед

пацієнтів з даними генотипами, можна припустити, що недостовірні ($p > 0,05$) відмінності у біохімічній відповіді між хворими з різними генотипами пов'язано з невеликою кількістю носіїв генотипу *CD* в Одеському регіоні.

Підсумовуючи дані даного 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.

Слід звернути увагу на той факт, що кращі результати лікування пегінтерфероном+рибавірином спостерігались у хворих, які мали мутантні алелі генів *GSTP1* і *CYP2E1* у генотипі. Це може бути пов'язано як з особливостями захисту клітин від оксидативного стресу при ХГС, так і з важливою роллю ферменту *GSTP1* у регуляції сигнальних шляхів клітини, які регулюють апоптоз, проліферацію клітин та інші процеси в гепатоцитах [98]. Слід зазначити, що *A313G* поліморфізм гена *GSTP1* асоційовано також із активністю ферменту АлАТ у здорових донорів. А саме, серед обстежених контрольної групи, які мали генотип *AA*, спостерігався суттєво більш високий середній рівень активності цього ферменту цитолізу гепатоцитів сироватки крові, ніж у пацієнтів з генотипами *AG+GG* (відповідно $0,46 \pm 0,16$ і $0,35 \pm 0,11$ ммоль/л-год, $p = 0,012$). Таким чином, фермент *GSTP1* відіграє важливу роль у життєдіяльності гепатоцитів як в нормі так і при патології.

У ході дослідження ефективності пегінтерферонотерапії привернула увагу різна вірусологічна відповідь у хворих, яким застосовувався пегінтерферон різного виду (α -2a і α -2b). Враховуючи дані літератури щодо неоднозначної відповіді на пегінтерферонотерапію залежно від виду інтерферону [59, 60], доці-

льно було оцінити ефективність двох препаратів пегінтерферону- α -2a і α -2b у обстежених хворих на ХГС, які інфіковані різними за генотипами вірусами (1b, 2 та 3a). Аналіз виявив, що при фармакотерапії за пегінтерфероном- α -2a частіше спостерігались РВВ або БВВ (69,6 %) порівняно з пацієнтами, яким призначався пегінтерферон- α -2b (30,0 %, $p=0,035$). 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. Отримані результати збігаються з даними авторів, які також спостерігали більшу ефективність терапії пегінтерфероном- α -2a [60]. Слід зазначити, що у всіх хворих, які інфіковані вірусом з генотипом 3a, спостерігалась позитивна вірусологічна відповідь (БВВ, РВВ, УВВ) на пегінтерферонотерапію не залежно від виду інтерферону. Водночас не було істотних відмінностей у біохімічній відповіді у хворих, які проходили лікування пегінтерфероном- α -2a і α -2b.

Також проведено анкетування пацієнтів за шкалою SF-36 до початку та через 24 тижні фармакотерапії для оцінки можливого впливу поліморфізмів генів ферментів детоксикації ксенобіотиків на якість життя хворих на ХГС. Через 24 тижні фармакотерапії пегінтерфероном + рибавірином спостерігалось підвищення показників ЯЖ у всіх пацієнтів. Проте тенденція до більш високих показників ЯЖ відмічалась серед пацієнтів, які мали генотипи *AG* або *GG* за геном *GSTP1* та генотип *CD* за геном *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.

Отже, 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, а також кращої біохімічної відповіді при пегінтерферонотерапії хворих на ХГС. Навпаки, поєднання генотипу *AA* гена *GSTP1* і генотипу *DD* гена *CYP2E1* є

предиктором уповільненої вірусної відповіді або взагалі її відсутності на протівірусне лікування ХГС.

Наступним етапом дослідження був аналіз ефективності лікування ХГС за альтернативними схемами фармакотерапії. Ефективність лікування у даних групах оцінено за біохімічною відповіддю. У II групі хворих, які проходили лікування за схемою аміксин+рибавірин, через 24 тижні фармакотерапії середній рівень активності АлАТ сироватки крові та % хворих з показниками крові у межах здорових осіб суттєво не відрізнялись від відповідних показників до початку лікування. Аналіз динаміки середнього рівня активності АлАТ у 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 недостовірна, що, можливо, пояснюється невеликою кількістю хворих з генотипом *CD* (3 пацієнти) у даній групі досліджених осіб. Не виявлено асоціації делеційних поліморфізмів генів *GSTT1* та *GSTM1*, *A313G* поліморфізм гена *GSTP1* з ефективністю лікування ХГС за схемою аміксин + рибавірин.

У III групі хворих, які отримали фармакотерапію легалоном, тенденцію до кращих результатів лікування через 24 тижні терапії демонстрували пацієнти з генотипами *GSTT1+*, *GSTM1+*, генотипом *AA* за геном *GSTP1* та генотипом *CD* гену *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, $p=0,162$); у хворих з генотипом *GSTM1+* спостерігалась значно нижча активність АлАТ порівняно з хворими з генотипом *GSTM1null* ($0,75 \pm 0,51$ проти $1,40 \pm 1,07$ ммоль/л-год, $p=0,051$); 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, $p=0,213$). У хворих з генотипом *CD* спостерігалась тенденція до зниження активності АлАТ у продовж всієї терапії легалоном порівняно з генотипом *DD*, проте важко оцінити достовірність ре-

зультатів внаслідок невеликої кількості хворих з генотипом *CD*.

Тенденція, яка відмічена, до кращих результатів лікування легалоном у хворих, які мають нормальну активність ферментів *GSTT1*, *GSTM1*, *GSTP1*, може бути пов'язана із більш швидким метаболізмом активних форм кисню у хворих з даними генотипами. У хворих з генотипом *CD* гена *CYP2E1*, навпаки, спостерігається підвищена активність відповідного ферменту. Це призводить до більш активної продукції АФК у гепатоцитах. Можливо, це касадно стимулює імунну відповідь хворої людини, що в подальшому відіграє позитивну роль при лікуванні легалоном.

Анкетування через 24 тижні фармакотерапії щодо якості життя у хворих на ХГС у III групі виявило кращу тенденцію до збільшення показників ЯЖ, ніж у II групі. До речі, найбільш безпечним серед всіх схем фармакотерапії було лікування легалоном.

До теперішнього часу особливості метаболізму пегільованих препаратів вивчені не повністю. Біотрансформація рибавіріну здійснюється шляхом зворотнього фосфорилування в активні метаболіти, які розщеплюються: амідний гідроліз і дерибозилування з утворенням тріазольного карбоксильного метаболіту [13]. Аміксин практично не метаболізується [80]. Силімарин, активна речовина легалону, метаболізується в печінці за допомогою кон'югації і виводиться, в основному, з жовчю у вигляді глюкуронідів та сульфатів і незначною мірою з сечею [91].

Аналізуючи отримані дані щодо ефективності лікування хворих на ХГС у трьох групах з урахуванням поліморфізмів генів *GSTT1*, *GSTM1*, *GSTP1* та *CYP2E1* та особливостей фармакокінетики застосовуваних препаратів, їх спільного використання, можна констатувати наступне. Різниця в ефективності різних схем лікування у хворих на ХГС залежно від генотипу людини за генами *GSTs* або *CYP2E1* в даних випадках, коли фармакокінетика застосовуваних лікарських засобів практично не зачіпає шляхи біотрасформації досліджуваних ліків, стосується інших аспектів фармакотерапії даних хворих. Усі противірусні

препарати застосовуються проти «третього» агента, але успіх лікування залежить від багатьох факторів, у тому числі системи детоксикації ксенобіотиків.

Отримано гірші результати лікування ХГС пегінтерфероном + рибавірином у хворих, що мають дикі алелі у генотипі (*AA* гена *GSTP1* та *DD* гена *CYP2E1*). Дикі алелі характеризуються нормальною активністю відповідних ферментів [225]. Було б логічно побачити протилежні результати. У патогенезі ХГС основною патогенетичною ланкою є оксидативний стрес, який характеризується продукцією великої кількості АФК [101]. З одного боку, АФК ушкоджують структури гепатоцитів. З іншого боку, АФК відіграють важливу роль у нормальному функціонуванні імунної системи, проліферації Т-лімфоцитів та імунологічному захисті [103]. Глутатіон-S-трансферази захищають клітини від оксидативного стресу, метаболізуючи АФК [209]. Мабуть, це призводить до слабкої імунологічної відповіді на інфекційний процес. Причиною розвитку оксидативного стресу при ХГС є дія вірусу на гепатоцити. Схема лікування пегінтерферон + рибавірин спрямована на знищення вірусу, що, в свою чергу, приводить до зменшення продукції АФК. Більшою мірою це може спостерігатися у пацієнтів, що мають дикі алелі *GSTs*. Можливо, це пояснює відсутність вірусологічного відповіді у хворих з комбінацією генотипів *GSTT1+/GSTM1+*, більш повільною вірусологічною відповіддю та відновлення активності АлАТ сироватки крові у хворих з генотипами *AA* за геном *GSTP1* та *DD* гена *CYP2E1*.

Водночас у хворих III групи, які лікувалися легалоном, кращі результати отримані у пацієнтів, що мали нормальну активність відповідних *GSTs* та ферменту *CYP2E1*. У даному випадку терапія односпрямованої дії відповідних ферментів у клітинах печінки.

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 дисертаційній роботі наведено нове розв'язання актуального наукового завдання клінічної фармакології – встановлення асоціації впливу поліморфізмів генів детоксикації ксенобіотиків I та II фаз з ризиком розвитку, тяжкості перебігу та ефективністю лікування хворих на ХГС, 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 гену *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 активність 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 (F_1-F_4 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 (F_1-F_4) 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 -2а, ніж пегінтерферону- α -2b. Хворі, яким призначали пегінтерферон- α -2а + 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 тижнів 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* гену *GSTP1* і *DD* гену *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 даного гену з більшим ризиком розвитку хронічного гепатиту С при інфікуванні вірусом С. 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 вірогідністю 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 фармакотерапії.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Lavanchy D. Evolving epidemiology of hepatitis C virus / D. Lavanchy. – Clin. Microbiol. Infect. – 2011. – Vol. 17, № 2. – P. 107–115.
2. Global epidemiology of hepatitis C virus infection: new estimates of age-specific antibody to HCV seroprevalence / K. Mohd Hanafiah, J. Groeger, A. D. Flaxman [et al.] // Hepatology. – 2013. – Vol. 57, № 4. – P. 1333–1342.
3. The present and future disease burden of hepatitis C virus (HCV) infection with today's treatment paradigm / H. Razavi, I. Waked, C. Sarrazin [et al.] // J. Viral Hepat. – 2014. – Vol. 21, №1. – P. 34–59.
4. Наказ про затвердження та впровадження медико-технологічних до кументів зі стандартизації медичної допомоги при вірусному гепатиті С [Електронний ресурс]. – Режим доступу : moz.gov.ua/ua/main/docs/?docID=34595
5. Factors associated with early virological response to peginterferon- α -2a/ribavirin in chronic hepatitis C / J. García-Samaniego, M. Romero, R. Granados [et al.] // World J. Gastroenterol. – 2013. – Vol.28, №19(12). – P. 1943–1952.
6. EASL Clinical Practice Guidelines: Management of hepatitis C virus infection (European Association for the Study of the Liver) / A. Craxì, J. M. Pawlotsky, H. Wedemeyer [et al.] // Journal of Hepatology. – 2011. – Vol. 55. – P. 245–264.
7. Efficacy and tolerability of regylated interferon-alpha2a plus ribavirin versus regylated interferon-alpha2b plus ribavirin in treatment-naive chronic hepatitis C patients / S. Lee, I. H. Kim, S. H. Kim [et al.] // Intervirology. – 2010. – Vol. 53, № 3. – P. 146–153.
8. Dermatological side effects of hepatitis C and its treatment: patient management in the era of direct-acting antivirals / P. Cacoub, M. Bourliere, J. Lubbe [et al.] // J. Hepatol. – 2012. – № 56. – P. 455–463.
9. Cost-effectiveness analysis of adding low dose ribavirin to peginterferon alfa-2a for treatment of chronic hepatitis C infected thalassemia major patients in Iran /

- A. Mehrzmay, S. M. Alavian, M. Moradi-Lakeh [et al.] // *Hepat. Mon.* – 2013. – Vol. 1, № 13(9). – P. 1–8.
10. Regylated interferon- α 2a and ribavirin versus regylated interferon- α 2b and ribavirin in chronic hepatitis C : a meta-analysis / N. Flori, N. Funakoshi, Y. [et al.] // *Drugs.* – 2013. – Vol. 73, № 3. – P. 263–277.
 11. Inhibition of HCV 3a core gene through Silymarin and its fractions / U. A. Ashfaq, T. Javed, S. Rehman [et al.] // *Virology Journal.* – 2011. – № 8. – P. 153–160.
 12. Impact of oral silymarin on virus- and non-virus-specific T-cell responses in chronic hepatitis C infection / O. Adeyemo, H. Doi, Rajender, K. Reddy [et al.] // *J. Viral. Hepat.* – 2013. – Vol. 20, № 7. – P. 453–462.
 13. Тактика противовирусного лечения острых и хронических вирусных гепатитов на современном этапе / Д.Н. Емельянов, О.Ю. Свириденко, В.В. Скворцов, Р.Г. Мязин // *Гепатология (Hepatology).* – 2004. – № 4. – С.25–26.
 14. Индукторы эндогенного интерферона в терапии HCV-инфекции / В. П. Малый, Д. Б. Пеньков, О. И. Чирюкина // *Практикуючий лікар.* – 2013. – № 1. – С. 57–63.
 15. Можливість лікування хворих на хронічний гепатит С з протипоказами до інтерферонотерапії / К. Л. Сервецький, Т. В. Чабан, Н. В. Верба // *Гепатологія.* – 2014. – № 3. – С 15–21.
 16. Чабан Т. В. Можливість комбінованої терапії хворих на хронічний гепатит С // *Сучасна гастроентерологія.* – 2007. – № 6(38). – С 40–42.
 17. Treatment of hepatitis C mono-infection in adults--Dutch national guidelines / M. H. Lamers, M. M. Broekman, C. A. Boucher [et al.] // *Neth J. Med.* – 2013. – Vol. 71, № 7. – P. 377–385.
 18. The effects of individualized therapeutic programs on chronic hepatitis C and the influential factors of virological response / M. L. Cheng, J. Wang, A. P. Zeng, X. F. Liu // *Zhonghua Nei Ke Za Zhi.* – 2012. – Vol. 51, № 10. – P. 751–754.

19. Role of viral and host factors in interferon based therapy of hepatitis C virus infection / M. Imran, S. Manzoor, J. Ashraf [et al.] // *Virology Journal*. – 2013. – № 10. – P. 299–311.
20. HCV viral decline at week 2 of Peg-IFN-alpha-2a/RBV therapy as a predictive tool for tailoring treatment in HIV/HCV genotype 1 co-infected patients / A. Rivero-Juarez, L. F. López-Cortés, A. Camacho [et al.] // *PLoS One*. – 2014. – Vol. 19, № 9(6). – P. 1–7.
21. Головенко Н. Я. Физико-химическая фармакоология / Н. Я. Головенко. – Одесса : Астропринт, 2004. – 718 с.
22. Hayes J. D. Glutathione transferases / J. D. Hayes, J. U. Flanagan, I. R. Jowsey // *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* – 2005. – № 45. – P. 51–88.
23. Association of GST genetic polymorphisms with the susceptibility to hepatocellular carcinoma (HCC) in Chinese population evaluated by an updated systematic meta-analysis / K. Liu, L. Zhang, X. Lin [et al.] // *PLoS One*. – 2013. – Vol. 8, № 2. – e57043.
24. Nagata K. Common pathogenic mechanism in development progression of liver injury caused by non-alcoholic or alcoholic steatohepatitis / K. Nagata, H. Suzuki, S. Sakaguchi // *J. Toxicol. Sci.* – 2007. – Vol. 32, № 5. – P. 453–468.
25. The clinical role of genetic polymorphisms in drug-metabolizing enzymes / D. Tomalik-Scharte, A. Lazar, U. Fuhr [et al.] // *The Pharmacogenomics Journal*. – 2008. – № 8. – P. 4–15.
26. Roles of cytochrome P4502E1 gene polymorphisms and the risk of alcoholic liver disease: a meta-analysis / T. Zeng, F. F. Guo, C. L. Zhang [et al.] // *PLoS One*. – 2013. – Vol. 8, № 1. – e54188.
27. Flanagan J. U. Sigma-class glutathione transferases / J. U. Flanagan, M. L. Smythe // *Drug metabolism reviews*. – 2011. – Vol. 43, № 2. – P. 194–214.
28. Regulation of Signal Transduction by Glutathione Transferases / J. Pajaud, S. Kumar, C. Rauch [et al.] // *Int. J. Hepatol.* – 2012. – Vol. 2012. – P. 12–24.

29. Glutathione S–Transferase P1 (GSTP1) gene polymorphism increases age–related susceptibility to hepatocellular carcinoma / Y. L. Chen, H. S. Tseng, W. H. Kuo [et al.] // *BMC Med. Genet.* – 2010. – Vol. 24, № 11. – P. 46–58.
30. Influence of glutathione–S–transferase theta (GSTT1) and micro (GSTM1) gene polymorphisms on the susceptibility of hepatocellular carcinoma in Taiwan / C. C. Kao, M. K. Chen, W. H. Kuo [et al.] // *J. Surg. Oncol.* – 2010. – Vol. 102, №4. – P. 301–307.
31. Null genotypes of GSTM1 and GSTT1 contribute to hepatocellular carcinoma risk: evidence from an updated meta–analysis / B. Wang, G. Huang, D. Wang [et al.] // *J. Hepatol.* – 2010. – Vol. 53, № 3. – P. 508–518.
32. Glutathione S–transferases (GSTs) inhibit transcriptional activation by the peroxisomal proliferator–activated receptor gamma (PPAR gamma) ligand, 15–deoxy–delta 12,14prostaglandin J2 (15–d–PGJ2) / C. M. Paumi, P. K. Smitherman, A. J. Townsend, C. S. Morrow // *Biochemistry.* – 2004. – Vol. 43, № 8. – P. 2345–2352.
33. Hepatitis C Virus and Vaccine Development / M. Naderi, N. Gholipour, M. R. Zolfaghari [et al.] // *Int. J. Mol. Cell. Med.* – 2014. – Vol. 3, № 4. – P. 207–215.
34. Global epidemiology of hepatitis C virus infection: new estimates of age-specific antibody to HCV seroprevalence / K. Mohd Hanafiah, J. Groeger, A. D. Flaxman [et al.] // *Hepatology.* – 2013. – Vol. 57, № 4. – P.1333–1342.
35. Recommendations for standardized nomenclature and definitions of viral response in trials of hepatitis C virus investigational agents / H. Wedemeyer, D. M. Jensen, E. Godofsky, N. Mani [et al.] // *Hepatology.* – 2012. – Vol. 56, № 6. – P. 2398–2403.
36. Chevaliez S. Hepatitis C virus: virology, diagnosis and management of antiviral therapy / S. Chevaliez, J. M. Pawlotsky // *World J. Gastroenterol.* – 2007. – Vol. 13, № 17. – P. 2461–2466.
37. De Francesco R. Challenges and successes in developing new therapies for hepatitis C / R. De Francesco, G. Migliaccio // *Nature.* – 2005. – Vol. 436, № 7053. – P. 953–960.

38. Никитин И. Г. Пегилированные лекарственные препараты: современное состояние, проблемы и перспективы / И. Г. Никитин, Т. Н. Сторожаков // Вирусные гепатиты. – 2001. – № 3(13). – С. 20–24.
39. Галкін О. Ю. Біотехнологічні підходи до створення і використання ліпосомальних і пегільованих лікарських форм / О. Ю. Галкін, Л. Б. Бондаренко, О. М. Дуган // Наукові вісті НТУУ "КПІ". – 2009. – № 3. – С. 88–93.
40. Хронический вирусный гепатит С: достижения в лечении и менеджмент побочных эффектов / Л. М. Вовк, В. С. Топольницкий, А. А. Заплотная [и др.] // Здоров'я України. – 2009. – № 1-2. – С. 54–55.
41. Блюм Х. Е. Гепатит С: современное состояние проблемы / Х. Е. Блюм // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2005. – Т. 15, № 1. – С. 20–25.
42. Cost effectiveness of peginterferon alpha-2a plus ribavirin versus interferon alpha-2b plus ribavirin as initial therapy for treatment-naive chronic hepatitis C / S. D. Sullivani, A. Craxi, A. Alberti [et al.] // Pharmacoeconomics. – 2004. – Vol. 22, № 4. – P. 257–265.
43. Regylated interferon alpha-2a and -2b in combination with ribavirin in the treatment of chronic hepatitis C: a systematic review and economic evaluation / J. Shepherd, H. Brodin, C. Cave [et al.] // Health Technol. Assess. – 2004. – Vol. 8, № 39. – P. 1–12.
44. Mechanisms of action of interferon and ribavirin in chronic hepatitis C: Summary of a workshop / R. T. Chung, M. Gale, S. J. Polyak // Hepatology. – 2008. – Vol. 47.– P. 306–320.
45. Effect of ribavirin on viral kinetics and liver gene expression in chronic hepatitis C / Y. Rotman, M. Noureddin, J. J. Feld [et al.] // Gut. – 2014. – Vol. 63. – P. 161–169.
46. Correlation of serum HCV RNA and alanine aminotransferase levels in chronic hepatitis C patients during treatment with ribavirin / M. J. Tong, S/ J. Hwang, M. Lefkowitz, S. D. Lee [et al.] // J. Gastroenterol. Hepatol. – 1994. – Vol. 9. – P. 587–591.

47. Baseline high viral load and unfavorable patterns of alanine aminotransferase change predict virological relapse in patients with chronic hepatitis C genotype 1 or 2 obtaining rapid virological response during antiviral therapy / K. H. Lin, H. C. Yu, P. I. Hsu [et al.] // *Hepat. Mon.* – 2013. – Vol. 13, № 10. – P. 18-29.
48. Role of rapid virological response in prediction of sustained virological response to Peg-IFN plus ribavirin in HCV / HIV co-infected individuals / D. O. Shea, H. Tuite, G. Farrell [et al.] // *J. Viral Hepat.* – 2008. – Vol. 15, № 7. – P. 482–489.
49. Sustained virological response in HIV/HCV co-infected patients treated with pegylated interferon/ribavirin can be predicted from the overall rate of viral load decline over the first 4 weeks of therapy / A. Rivero-Juarez, K. Neukam, P. Labarga [et al.] // *J. Infect.* – 2014. – Vol. 68, № 4. – P. 372–377.
50. Regylated interferon alfa and ribavirin for children with chronic hepatitis / I. Rosen, M. Kori, O. E. Adiv [et al.] // *World J. Gastroenterol.* – 2013. – Vol. 19, № 7. – P. 1098–1103.
51. Efficacy and Tolerability of Peginterferon α -2a and Peginterferon α -2b, Both plus Ribavirin, for Chronic Hepatitis C: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials / Z. Yang, L. Zhuang, L. Yang, X. Chen // *Gastroenterol. Res. Pract.* – 2013. – № 2013. – P. 39–47.
52. Peginterferon alfa-2b or alfa-2a with ribavarin for treatment of hepatitis C infection / J. G. Hutchison, E. J. Lawitz, M. L. [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2009. – № 361. – P. 580–593.
53. Farci P. Clinical significance of hepatitis C virus genotypes and quasispecies / P. Farci, R. H. Purcell // *Semin. Liver Dis.* – 2000. – Vol. 20, № 1. – P.103–126.
54. Consensus proposals for a unified system of nomenclature of hepatitis C virus genotypes / P. Simmonds, J. Bukh, C. Combet [et al.] // *Hepatology.* – 2005. – № 42. – P. 962–973.
55. Peginterferon-alpha2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose / S. J. Hadziyannis, H. Sette, T. R. Morgan [et al.] // *Ann. Intern. Med.* – 2004. – № 140(5). – P. 346–355.

56. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomized trial / M. P. Manns, J. G. McHutchison, S. C. Gordon [et al.] // *Lancet*. – 2001. – № 35. – P. 958–965.
57. Nguyen M. H. Prevalence and treatment of hepatitis C virus genotypes 4, 5, and 6 / M. H. Nguyen, E. B. Keeffe // *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* – 2005. – № 3. – P. 97–101.
58. Viral dynamics and response differences in HCV-infected African American and white patients treated with IFN and ribavirin / J. E. Layden-Almer, R. M. Ribeiro, T. Wiley [et al.] // *Hepatology*. – 2003. – Vol. 37, № 6. – P. 1343–1350.
59. Peginterferon alfa-2b and ribavirin for 12 vs. 24 weeks in HCV genotype 2 or 3 / A. Mangia, R. Santoro, N. Minerva [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2005. – Vol. 352, № 25. – P. 2609–2617.
60. Peginterferon alfa-2a and ribavirin for 24 weeks in hepatitis C type 1 and 4 patients with rapid virological response / P. Ferenci, H. Laferl, T. M. Scherzer [et al.] // *Gastroenterology*. – 2008. – Vol. 135, № 2. – P. 451–458.
61. Peginterferon alpha-2a (40 kDa) and ribavirin: comparable rates of sustained virological response in sub-sets of older and younger HCV genotype 1 patients / K. R. Reddy, D. Messinger, M. Popescu, S. J. Hadziyannis // *J. Viral. Hepat.* – 2009. – № 16. – P. 724–731.
62. Efficacy of regylated interferon-alpha-2a plus ribavirin for patients aged at least 60 years with chronic hepatitis / Z. Ying-Ying, F. Xiao-Hong, W. Li-Feng [et al.] // *Chin. Med. J.* – 2012. – Vol. 125, № 11. – P. 1852–1856.
63. Randomized trial of interferon alpha 2b plus ribavirin for 48 weeks or for 24 weeks versus interferon alpha 2b plus placebo for 48 weeks for treatment of chronic infection with hepatitis C virus / T. Poynard, P. Marcellin, S. S. Lee [et al.] // *Lancet*. – 1998. – № 352. – P. 1426–1432.

64. Steatosis in chronic hepatitis C: why does it really matter? / T. Asselah, L. Rubbia-Brandt, P. Marcellin, F. Negro // *Gut*. – 2006. – № 55. – P. 123–130.
65. Alberti A. What are the comorbidities influencing the management of patients and the response to therapy in chronic hepatitis C? / A. Alberti // *Liver Int.* – 2009. – № 29. – P. 15–18.
66. The association of non-O blood group and severity of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C infection / A. Shavakhi, M. Hajalikhani, M. [et al.] // *J. Res. Med. Sci.* – 2012. – Vol. 17, № 5. – P. 466–469.
67. Rantala M. Surveillance and epidemiology of hepatitis B and C in Europe – a review / M. Rantala, M.J. Laar // *European Communicable Disease Bulletin.* – 2008. – № 13(21). – P. 22.–38.
68. Expanded classification of hepatitis C Virus into 7 genotypes and 67 Subtypes: updated criteria and assignment web resource / D. B. Smith, J. Bukh, C. Kuiken [et al.] // *Hepatology.* – 2013. – Vol 59, № 1. – P. 318–327.
69. Predictive value of rapid virological response and early virological response on sustained virological response in HCV patients treated with pegylated interferon alpha-2a and ribavirin / J. W. Yu, G. Q. Wang, L. J. Sun [et al.] // *J. Gastroenterol. Hepatol.* – 2007. – Vol. 22, № 6. – P. 832–836.
70. Mallat A. Environmental factors as disease accelerators during chronic hepatitis C / A. Mallat, C. Hezode, S. Lotersztajn // *J. Hepatol.* – 2008. – № 48. – P. 657–665.
71. Association of caffeine intake and histological features of chronic hepatitis C / C. E. Costentin, F. Roudot-Thoraval, E. S. Zafrani [et al.] // *J. Hepatol.* – 2011. – № 54. – P. 1123–1129.
72. 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 / S. H. Park, C. K. Park, J. W. Lee [et al.] // *Gut and Liver.* – 2012. – Vol. 6, № 1. – P. 98–106.
73. Increased caffeine consumption is associated with reduced hepatic fibrosis / A.A. Modi, J. J. Feld, Y. Park [et al.] // *Hepatology.* – 2010. – № 51. – P. 201–209.

74. Large-scale candidate gene analysis of spontaneous clearance of hepatitis C virus / T. L. Mosbruger, P. Duggal, J. J. Goedert [et al.] // *J. Infect. Dis.* – 2010. – № 201. – P. 1371–1380.
75. Thrombocytopenia and the risk of bleeding during treatment with peginterferon alfa and ribavirin for chronic hepatitis C / R. Roomer, B. E. Hansen, H. L. Janssen, R. J. de Kneegt // *J. Hepatol.* – 2010. – № 53. – P. 455–459.
76. Sulkowski M. S. Management of adverse effects of Peg-IFN and ribavirin therapy for hepatitis C / M. S. Sulkowski, C. Cooper, B. Hunyady // *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* – 2011. – № 8. – P. 212–223.
77. Manns M. P. Treating viral hepatitis C: efficacy, side effects, and complications / M. P. Manns, H. Wedemeyer, M. Cornberg // *Gut.* – 2006. – № 55. – P. 1350–1359.
78. Treatment of hepatitis C mono-infection in adults - Dutch national guidelines / M. H. Lamers, M. M. Broekman, C. A. Boucher [et al.] // *Neth. J. Med.* – 2013. – Vol. 71, № 7. – P. 377–385.
79. Absolute and relative contraindications to regylated-interferon or ribavirin in the US general patient population with chronic hepatitis C: results from a US database of over 45 000 HCV-infected, evaluated patients / A. H. Talal, J. La Fleur, R. Hoop [ET AL.] // *Aliment. Pharmacol. Ther.* – 2013. – Vol. 37, № 4. – P. 473–481.
80. Применение индуктора интерферона амиксина в лечении острых и хронических вирусных гепатитов : методические рекомендации / Под ред. М. Х. Турьянова. – М., 1999. – 67с.
81. Luper S. A review of plants used in the treatment of liver disease: part 1 / S. Luper // *Altern. Med. Rev.* – 1998. – Vol. 3, № 6. – P. 410–421.
82. HALT-C Trial Group. Silymarin use and liver disease progression in the Hepatitis C Antiviral Long-Term Treatment Against Cirrhosis trial / N. D. Freedman, T. M. Curto, C. Morishima [et al.] // *Aliment. Pharmacol. Ther.* – 2011. – Vol. 33, № 1. – P. 127–137.

83. Milk thistle in liver diseases: past, present, future / L. Abenavoli, R. Capasso, N. Milic, F. Capasso // *Phytother. Res.* – 2010. – Vol. 24, № 10. – P. 1423–1432.
84. Effects of silybum marianum on patients with chronic hepatitis C / H. Kalantari, Z. Shahshahan, S. M. Hejazi [et al.] // *J. Res. Med. Sci.* – 2011. – Vol. 16, № 3. – P. 287–290.
85. Multiple effects of silymarin on the hepatitis C virus lifecycle / J. Wagoner, A. Negash, O. J. Kane [et al.] // *Hepatology.* – 2010. – Vol. 51, № 6. – P. 1912–1921.
86. Silymarin inhibits in vitro T-cell proliferation and cytokine production in hepatitis C virus infection. *Gastroenterology* / C. Morishima, M. C. Shuhart, C. C. Wang [et al.] // 2010. – Vol. 138, № 2. – P. 671–681.
87. Effects of Silybum marianum on serum hepatitis C virus RNA, alanine aminotransferase levels and well-being in patients with chronic hepatitis C / A. Gordon, D. A. Hobbs, D. S. Bowden [et al.] // *J. Gastroenterol. Hepatol.* – 2006. – Vol. 1, № 2. – P. 275–280.
88. Pilot study on the liver protective effect of silybinphosphatidylcholine Complex (Idb1016) in chronic active hepatitis / G. Buzzelli, S. Moscarella, A. Giusti [et al.] // *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. Toxicol.* – 1993. – Vol. 31, № 9. – P. 456–460.
89. Rambaldi A. Milk thistle for alcoholic and/or hepatitis B or C virus liver diseases / A. Rambaldi, B. P. Jacobs, C. Glud // *Cochrane Database Syst. Rev.* – 2007. – Vol. 17, № 4. – P. 39–49.
90. Understanding silibinin's modes of action against HCV using viral kinetic modeling / Jeremie Guedj, Harel Dahari T. Ralf [et al.] // *J Hepatol.* – 2012. – Vol. 56, № 5. – P. 1019–1024.
91. Silibinin mode of action against hepatitis C virus: a controversy yet to be resolved / H. Dahari, J. Guedj, A. S. Perelson // *Hepatology.* – 2011. – Vol. 54, № 2. – P. 74–80.
92. HALT-C Trial Group. Herbal product use by persons enrolled in the Hepatitis C Antiviral Long-Term Treatment Against Cirrhosis (HALT-C) Trial / L. B.

- Seeff, T. M. Curto, G. Szabo [et al.] // *Hepatology*. – 2008. – Vol. 47, № 2. – P. 605–612.
93. WHOQOL Group. Study protocol for the World Health Organization project to develop a Quality of Life assessment (WHOQOL) // *Qual. Life Res.* – 1993. – Vol. 2. – P. 153–159.
94. Pharmacogenetics-based therapeutic recommendations--ready for clinical practice? / J. Kirchheiner, U. Fuhr, J. Brockmöller // *Nat. Rev. Drug. Discov.* – 2005. – Vol. 4, № 8. – P. 639–647.
95. Kalow W. Personalized medicine: some thoughts / W. Kalow // *Mcgill. J. Med.* – 2007. – № 10(1). – P. 58–62.
96. Hepatitis C virus induces oxidative stress, DNA damage and modulates the DNA repair enzyme NEIL1 / S. Pal, S. J. Polyak, N. Bano [et al.] // *J. Gastroenterol. Hepatol.* – 2010. – Vol. 25, № 3. – P. 627–634.
97. HCV and oxidative stress in the liver / A. V. Ivanov, B. Bartosch, O. A. Smirnova [et al.] // *Viruses*. – 2013. – Vol. 5, № 2. – P. 439–469.
98. Oxidative stress and hepatitis C virus / U. Z. Paracha, K. Fatima, M. Alqahtani [et al.] // *Virology*. – 2013. – Vol. 7, № 10. – P. 25–29.
99. Salganik R. I. The benefits and hazards of antioxidants: controlling apoptosis and other protective mechanisms in cancer patients and the human population / R. I. Salganik // *J. Am. Coll. Nutr.* – 2001. – Vol. 20. – P. 464–472.
100. Окислительный стресс. Проксиданты и антиоксиданты / Е. Б. Меньщикова, В. З. Ланкин, Н. К. Зенков [и др.] – М. : Фирма «Слово», 2006. – 556с.
101. Активированные кислородные метаболиты в монооксигеназных реакциях / В. В. Ляхович, В. А. Вавилин, Н. К. Зенков, Е. Б. Меньшиков // *Бюллетень РАМН*. – 2005. – № 4(118). – С. 7–12.
102. Mechanisms of cell death in oxidative stress / S. W. Ryter, H. P. Kim, A. Hoetzel [et al.] // *Antioxid. Redox. Signal.* – 2007. – Vol. 9, № 1. – P. 49–89.
103. Go Y. M. Redox compartmentalization in eukaryotic cells / Y. M. Go, D. P. // *Jones Biochim. Biophys. Acta.* – 2008. – Vol. 10, № 11. – P. 1273–1290.

104. Gloire G. NF- κ B activation by reactive oxygen species: fifteen years later / G. Gloire, S. Legrand-Poels, J. Piette // *Biochem. Pharmacol.* – 2006. – Vol. 10, № 11. – P. 1493–1505.
105. Lander H. M. An essential role for free radicals and derived species in signal transduction / H. M. Lander // *FASEB J.* – 1997. – Vol. 10, № 2. – P. 118–124.
106. Discrete generation of superoxide and hydrogen peroxide by T cell receptor stimulation: selective regulation of mitogen-activated protein kinase activation and fas ligand expression / S. Devadas, L. Zaritskaya, S. G. Rhee [et al.] // *J. Exp. Med.* – 2002. – Vol. 10, № 1. – P. 59–70.
107. Hildeman D. A. Regulation of T-cell apoptosis by reactive oxygen species / D.A. Hildeman // *Free Radic. Biol. Med.* – 2004. – Vol. 10, № 12. – P. 1496–1504.
108. Буеверов А. О. Оксидативный стресс и его роль в повреждении печени / А. О. Буеверов // *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии.* – 2002. – № 4. – С. 21–25.
109. Hepatitis C virus induces oxidative stress, DNA damage and modulates the DNA repair enzyme NEIL1 / S. Pal, S. J. Polyak, N. Bano [et al.] // *J. Gastroenterol. Hepatol.* – 2010. – Vol. 25, № 3. – P. 627–634.
110. Hepatic oxidative DNA damage correlates with iron overload in chronic hepatitis C patients / N. Fujita, S. Horiike, R. Sugimoto [et al.] // *Free Radic. Biol. Med.* – 2007. – № 42. – P. 353–362.
111. Increased lipid peroxidation in patients with non-alcoholic fatty liver disease and chronic hepatitis C as measured by the plasma level of 8-isoprostane / M. Konishi, M. Iwasa, J. Araki [et al.] // *J. Gastroenterol. Hepatol.* – 2006. – Vol. 21, № 12. – P. 1821–1825.
112. Persistent oxidative stress in patients with chronic active hepatitis-C infection after antiviral therapy failure / G. El-Kannishy, M. Arafa, I. Abdelaal [et al.] // *Saudi J. Gastroenterol.* – 2012. – Vol. 18, № 6. – P. 375–379.

113. Oxidative stress and antioxidant defense in patients with chronic hepatitis C before and after pegylated interferon alfa-2b plus ribavirin therapy / G. Levent, A. Ali, A. Ahmet [et al.] // *J. Transl. Med.* – 2006. – № 20. – P. 4–25.
114. Thioredoxin levels in the sera of untreated viral hepatitis patients and those treated with glycyrrhizin or ursodeoxycholic acid / T. Nakashima, Y. Sumida, T. Yoh [et al.] // *Antioxid. Redox. Signal.* – 2000. – Vol. 2, № 4. – P. 687–694.
115. Го А. Значение показателей оксидативного стресса и фагоцитоза при хроническом гепатите С : автореф. дис.. на соискание науч. степ. канд. мед. наук : спец. 14.01.09 «Инфекционные болезни» / А. Го. – Санкт–Петербург, 2011. – 24 с.
116. Оксидативный стресс у больных хроническим гепатитом С / Л. В. Мороз, Е. Ф. Шкондина, В. М. Дудник, С. М. Куляс // *Международный медицинский журнал.* – 2008. – № 4. – С. 84–87.
117. Clastogenic factors as biomarkers of oxidative stress in chronic hepatitis C / I. Emerit, F. Serejo, P. Filipe P [et al.] // *Digestion.* – 2000. – Vol. 62, № 2-3. – P. 200–207.
118. Emerit I. Cytogenetic methods for detection of oxidative stress and evaluation of antioxidant therapy in hepatitis C infection / I. Emerit // *Hepat. Mon.* – 2011. – Vol. 11, № 6. – P. 434–439.
119. Клеточные системы защиты от окислительного стресса и стресса эндоплазматического ретикулума: Механизмы регуляции и влияние вируса гепатита С / О. А. Смирнова, А. В. Иванов, О. Н. Иванова [и др.] // *Молекулярная биология.* – 2011. – Т. 45, № 1. – С. 127–141.
120. Occult hepatitis C virus elicits mitochondrial oxidative stress in lymphocytes and triggers PI3–kinase–mediated DNA damage response / A. Bhargava, G. V. Raghuram, N. Pathak [et al.] // *Free Radic. Biol. Med.* – 2011. – Vol. 51, № 9. – P. 1806–1814.
121. Irshad M. An insight into the diagnosis and pathogenesis of hepatitis C virus infection / M. Irshad, D. S. Mankotia, K. Irshad // *World J. Gastroenterol.* – 2013. – Vol. 19, № 44. – P. 7896–7909.

122. Wang T. Causes and consequences of mitochondrial reactive oxygen species generation in hepatitis C / T. Wang, S. A. Weinman // *J. Gastroenterol. Hepatol.* – 2006. – № 21(3). – P. 34–37.
123. Hepatitis C virus core protein increases mitochondrial ROS production by stimulation of Ca²⁺ uniporter activity / Y. Li, D. F. Boehning, T. Qian [et al.] // *FASEB J.* – 2007. – № 21. – P. 2474–2485.
124. Hepatitis C virus NS5A and core proteins induce oxidative stress– mediated calcium signaling alterations in hepatocytes / N. Dionisio, M. V. Garcia–Mediavilla, S. Sanchez–Campos [et al.] // *J. Hepatol.* – 2009. – № 50. – P. 872–882.
125. Differential contribution of hepatitis C virus NS5A and core proteins to the induction of oxidative and nitrosative stress in human hepatocyte–derived cells / M. V. Garcia–Mediavilla, S. Sanchez–Campos, P. Gonzalez–Perez [et al.] // *J. Hepatol.* – 2005. – № 43. – P. 606–613.
126. Hepatocyte NAD(P)H oxidases as an endogenous source of reactive oxygen species during hepatitis C virus infection / N. S. de Mochel, S. Seronello, S. H. Wang [et al.] // *Hepatology.* – 2010. – № 52. – P. 47–59.
127. Hepatitis C virus (HCV) proteins induce NADPH oxidase 4 expression in a transforming growth factor beta–dependent manner: a new contributor to HCV– induced oxidative stress / H. E. Boudreau, S. U. Emerson, A. Korzeniowska [et al.] // *J. Virol.* – 2009. – № 83. – P. 12934–12946.
128. Mechanisms and Implications of Reactive Oxygen Species Generation During the Unfolded Protein Response: Roles of Endoplasmic Reticulum Oxidoreductases, Mitochondrial Electron Transport and NADPH Oxidase / C. X. Santos, L. Y. Tanaka, J. J. Wosniak, F. R. Laurindo // *Antioxid. Redox Signal.* – 2009. – № 11. – P. 2409– 2427.
129. Predictive power of biomarkers of oxidative stress and inflammation in patients with hepatitis C virus–associated hepatocellular carcinoma / A. Maki, H. Kono, M. Gupta [et al.] // *Ann. Surg. Oncol.* – 2007. – Vol. 14, № 3. – P. 1182–1190.

130. Waris G. Hepatitis C virus stimulates the expression of cyclooxygenase-2 via oxidative stress: role of prostaglandin E2 in RNA replication / G. Waris, A. Siddiqui // *J. Virol.* – 2005. – № 79. – P. 9725–9734.
131. Okamoto T. NF-kappa B signaling and carcinogenesis / T. Okamoto, T. Sanda, K. Asamitsu // *Curr. Pharm. Des.* – 2007. – № 13. – P. 447–462.
132. STATs in oncogenesis / T. Bowman, R. Garcia, J. Turkson, R. Jove // *Oncogene.* – 2000. – № 19. – P. 2474–2488.
133. Hepatitis C virus NS5A and subgenomic replicon activate NF-kappaB via tyrosine phosphorylation of I kappaBalpha and its degradation by calpain protease / G. Waris, A. Livolsi, V. Imbert [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2003. – № 278. – P. 40778–40787.
134. Immunohistochemical evaluation of oxidative stress markers in chronic hepatitis C / S. Mahmood, M. Kawanaka, A. Kamei [et al.] // *Antioxid. Redox Signal.* – 2004. – № 6. – P. 19–24.
135. 8-gydroxy-2'-deoxy-guanosine is a risk factor for development of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis C virus infection / M. Chuma, S. Hige, M. Nakanishi [et al.] // *J. Gastroenterol. Hepatol.* – 2008. – Vol. 23, № 9. – P. 1431–1436.
136. Hepatic oxidative DNA damage is associated with increased risk for hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis C / H. Tanaka, N. Fujita, R. Sugimoto [et al.] // *Br. J. Cancer.* – 2008. – Vol. 98, № 3. – P. 580–586.
137. Oxidative stress in the absence of inflammation in a mouse model for hepatitis C virus-associated hepatocarcinogenesis / K. Moriya, K. Nakagawa, T. Santa [et al.] // *Cancer Res.* – 2001. – Vol. 61, № 11. – P. 4365–4370.
138. Evidence of oxidative stress as a cofactor in the development of insulin resistance in patients with chronic hepatitis C / H. Mitsuyoshi, Y. Itoh, Y. Sumida [et al.] // *Hepatol. Res.* – 2008. – № 38. – P. 348–353.
139. Oxidative stress inhibits IFN-alpha-induced antiviral gene expression by blocking the JAK-STAT pathway / D. Di Bona, M. Cippitelli, C. Fionda [et al.] // *J. Hepatol.* – 2006. – № 45. – P. 271–279.

140. Hepatitis C virus–induced reactive oxygen species raise hepatic iron level in mice by reducing hepcidin transcription / S. Nishina, K. Hino, M. Korenaga [et al.] // *Gastroenterology*. – 2008. – № 134. – P. 226–238.
141. Higgs M. R. 'Liver let die': oxidative DNA damage and hepatotropic viruses / M. R. Higgs, P. Chouteau, H. Lerat // *J. Gen. Virol.* – 2014. – Vol. 95(5). – P. 991–1004.
142. Expression of thioredoxin and thioredoxin–binding protein–2 in the liver of patients with chronic hepatitis C as a predictor of response to interferon therapy / K. Hamano, Y. Seo, H. [et al.] // *Int. J. Mol. Med.* – 2006. – Vol. 17, № 6. – P. 989–995.
143. Koike K. Oxidative stress and hepatitis C viral infection / K. Koike, H. Miyoshi // *Hepatol. Res.* – 2006. – № 34. – P. 65–73.
144. Antioxidant status and glutathione metabolism in peripheral blood mononuclear cells from patients with chronic hepatitis C / P. Boya, A. D. L. Pena, O. Beloqui [et al.] // *J. Hepatol.* – 1999. – № 31. – P. 808–814.
145. Wang W. Nrf1 is targeted to the endoplasmic reticulum membrane by an N–terminal transmembrane domain. Inhibition of nuclear translocation and transacting function / W. Wang, J. Y. Chan // *J. Biol. Chem.* – 2006. – № 281. – P. 19676–19687.
146. Zhang Y. The Nrf1 CNC/bZIP protein is a nuclear envelope–bound transcription factor that is activated by t–butyl hydroquinone but not by endoplasmic reticulum stressors / Y. Zhang, J. M. Lucocq, J. D. Hayes // *Biochem. J.* – 2009. – № 418. – P. 293–310.
147. Villeneuve N. F. Regulation of the Nrf2–Keap1 Antioxidant Response by the Ubiquitin Proteasome System: An Insight into Cullin–Ring Ubiquitin Ligases / N. F. Villeneuve, A. Lau, D. D. Zhang // *Antioxid. Redox Signal.* – 2010. – Vol. 13, № 11. – P. 1699–1712.
148. Nrf1 and Nrf2 play distinct roles in activation of antioxidant response element–dependent genes / M. Ohtsuji, F. Katsuoka, A. Kobayashi [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2008. – № 283. – P. 33554–33562.

149. Aleksunes L. M. Emerging role of Nrf2 in protecting against hepatic and gastrointestinal disease / L. M. Aleksunes, J. E. Manautou // *Toxicol. Pathol.* – 2007. – № 35. – P. 459–473.
150. Loss of the Nrf2 transcription factor causes a marked reduction in constitutive and inducible expression of the glutathione S–transferase *Gsta1*, *Gsta2*, *Gstm1*, *Gstm2*, *Gstm3* and *Gstm4* genes in the livers of male and female mice / S. A. Chanas, Q. Jiang, M. McMahon [et al.] // *Biochem. J.* – 2002. – Vol. 15, № 365(2). – P. 405–416.
151. Keap1–dependent proteasomal degradation of transcription factor Nrf2 contributes to the negative regulation of antioxidant response element–driven gene expression / M. McMahon, K. Itoh, M. Yamamoto, J. D. Hayes // *J. Biol. Chem.* – 2003. – Vol. 278, № 24. – P. 21592–21600.
152. Геном человека и гены "предрасположенности" (введение в предиктивную медицину) / В. С. Баранов, Е. В. Баранова, Т. Э. Иващенко, М. В. Асеев. – СПб. : Интермедика, 2000. – 272с.
153. The role of genetic polymorphisms in environmental health / S. N. Kelada, D. L. Eaton, S. S. Wang [et al.] // *Environ. Health Perspect.* – 2003. – Vol. 111, № 8. – P. 1055–1064.
154. P450 2E1 expression in liver, kidney, and lung of rats treated with single or combined inducers / T. Goasduff, G. Bellec, Y. Amet [et al.] // *Alcohol.* – 1996. – № 13. – P. 301–308.
155. Lewis D. F. Molecular modeling of CYP2E1 enzymes from rat, mouse and man: an explanation for species differences in butadiene metabolism and potential carcinogenicity, and rationalization of CYP2E substrate specificity / D.F. Lewis, M. G. Bird, D. V. Parke // *Toxicology.* – 1997. – № 118. – P. 93–113.
156. Сайфуллаева С. А. Активность монооксигеназной и нитрергической систем в микросомах печени при действии на организм индукторов и ингибиторов лекарственного метаболизма / С. А. Сайфуллаева, И. С. Саттаров, А. С. Комарин [Электронный ресурс] // *Врач–аспирант.ru.* – 2013. – Режим доступа : <http://vrach-aspirant.ru/articles/pharmacology/13185/>.

157. Di L. The role of drug metabolizing enzymes in clearance / L. Di // *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.* – 2014. – Vol. 10, № 3. – P. 379–393.
158. Relationship of tobacco smoking, CYP 1A1, GSTM1 gene polymorphism and esophageal cancer in Xi'an / A. H. Wang, C. S. Sun, L. S. Li [et al.] // *World J. Gastroenterol.* – 2002. – № 113. – P. 49–53.
159. Genetic polymorphism of CYP genes, alone or in combination, as a risk modifier of tobacco-related cancers / H. Bartsch, U. Nair, A. Risch [et al.] // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* – 2000. – № 9. – P. 3–28.
160. Gong P. Increased expression of cytochrome P450 2E1 induces heme oxygenase-1 through ERK MAPK pathway/ P. Cong, A. I. Cederbaum, N. Nieto // *J. Biol. Chem.* – 2003. – Vol. 278, № 32. – P. 29693–29700.
161. Bai J. Overexpression of CYP2E1 in mitochondria sensitizes HepG2 cells to the toxicity caused by depletion of glutathione / J. Bai, A. I. Cederbaum // *J. Biol. Chem.* – 2006. – Vol. 281, № 8. – P. 5128–5136.
162. Lu Y. CYP2E1 and oxidative liver injury by alcohol / Y. Lu, A. I. Cederbaum // *Free Radic. Biol. Med.* – 2008. – Vol. 44, № 5. – P. 723–738.
163. Cederbaum A. I. Role of oxidative stress in alcohol-induced liver injury / A. I. Cederbaum, Y. Lu, D. Wu // *Arch. Toxicol.* – 2009. – Vol. 83, № 6. – P. 519–548.
164. Окислительный стресс при алкогольной болезни печени / Л. Ф. Панченко, Б. В. Давыдов, Н. Н. Терехина // *Биомедицинская химия.* – 2013. – Т. 59, № 4. – С. 452–458.
165. High variability of nitrosamine metabolism among individuals: role of cytochromes P450 2A6 and 2E1 in the dealkylation of N-nitrosodimethylamine and N-nitrosodiethylamine in mice and humans / A. M. Camus, O. Geneste, P. Honkakoski [et al.] // *Mol. Carcinog* – 1993. – № 7. – P. 268–275.
166. Cytochrome P450 2E1 activity in diabetic and obese patients as assessed by chlorzoxazone hydroxylation / D. Lucas, C. Farez, L. G. Bardou [et al.] // *Fundam. Clin. Pharmacol.* – 1998. – № 12. – P. 553–558.

167. A genetic polymorphism in the regulatory sequences of human CYP2E1: association with increased chlorzoxazone hydroxylation in the presence of obesity and ethanol intake / D. G. McCarver, R. Byun, R. N. Hines [et al.] // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* – 1998. – № 152. – P. 276–281.
168. Translational activation of ethanol-inducible cytochrome P450 (CYP2E1) by isoniazid / K. S. Park, D. H. Sohn, R. L. Veech, B. J. Song // *Eur. J. Pharmacol.* – 1993. – № 248. – P. 7–14.
169. Chlormethiazole inhibition of cytochrome P450 2E1 as assessed by chlorzoxazone hydroxylation in humans / A. C. Gebhardt, D. Lucas, J. F. Menez, H. K. Seitz // *Hepatology.* – 1997. – № 26. – P. 957–961.
170. Genetic polymorphisms of aldehyde dehydrogenase 2, cytochrome p450 2E1 for liver cancer risk in HCV antibody-positive japanese patients and the variations of CYP2E1 mRNA expression levels in the liver due to its polymorphism / S. Kato, T. Tajiri, N. Matsukura [et al.] // *Scand. J. Gastroenterol.* – 2003. – № 38. – P. 886–893.
171. Human cytochrome P-450 (CYP) genes: a web page for the nomenclature of alleles / M. Ingelman-Sundberg, M. Oscarson, A. K. Daly [et al.] // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* – 2001. – № 10. – P. 1307–1308.
172. Hayashi S. Genetic polymorphisms in the 5-flanking region change transcriptional regulation of the human cytochrome P450IIE1 gene / S. Hayashi, J. Watanabe, K. Kawajiri // *J. Biochem.* – 1991. – № 110. – P. 559–565.
173. PstI and RsaI RFLPs in complete linkage disequilibrium at the *CYP2E* gene / J. Watanabe, S. Hayashi, K. [et al.] // *Nucleic Acids Res.* – 1990. – № 18. – P. 71–89.
174. Cytochrome P450IIE1 genetic polymorphisms, racial variation, and lung cancer risk / S. Kato, P. G. Shields, N. E. Caporaso [et al.] // *Cancer Res.* – 1992. – № 52. – P. 6712–6715.
175. Impact of genetic polymorphisms in cytochrome P450 2E1 and glutathione S-transferases M1, T1, and P1 on susceptibility to esophageal cancer among

- high-risk individuals in China / W. Tan, N. Song, G. Q. Wang [et al.] // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* – 2000. – № 9. – P. 551–556.
176. Human cytochrome P450 2E1 (CYP2E1): from genotype to phenotype / V. Carriere, F. Berthou, S. Baird [et al.] // *Pharmacogenetics.* – 1996. – № 6. – P. 203–211.
177. Associations between cytochrome P4502E1 genotype, mutagen sensitivity, cigarette smoking and susceptibility to lung cancer / X. Wu, H. Shi, H. Jiang [et al.] // *Carcinogenesis.* – 1997. – № 18. – P. 967–973.
178. Lung cancer risk in relation to the CYP2E1 Rsa I genetic polymorphism among African-Americans and Caucasians in Los Angeles County / S. J. London, A. K. Daly, J. Cooper [et al.] // *Pharmacogenetics.* – 1996. – № 6. – P. 151–158.
179. Cytochrome P4502E1 genetic polymorphisms and risk of nasopharyngeal carcinoma: results from a case-control study conducted in Taiwan / A. Hildesheim, C. J. Chen, N. E. Caporaso [et al.] // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* – 1995. – № 4. – P. 607–610.
180. Watanabe J. Different regulation and expression of the human CYP2E1 gene due to the RsaI polymorphism in the 5-flanking region / J. Watanabe, S. Hayashi, K. Kawajiri // *J. Biochem.* – 1994. – № 116. – P. 321–326.
181. Transcriptional activity of the tandem repeat polymorphism in the 5-flanking region of the human CYP2E1 gene / F. Nomura, S. Itoga, T. Uchimoto [et al.] // *Alcohol Clin. Exp. Res.* – 2003. – № 27. – P. 42–46.
182. Red meat intake, CYP2E1 genetic polymorphisms, and colorectal cancer risk / L. Le Marchand, T. Donlon, A. Seifried, L. R. Wilkens // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* – 2002. – № 11. – P. 1019–1024.
183. Cytochrome P450 2E1 polymorphism in gastric cancer in Brazil: case-control studies of Japanese Brazilians and non-Japanese Brazilians / I. N. Nishimoto, T. Hanaoka, H. Sugimura [et al.] // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* – 2000. – № 9. – P. 675–680.

184. Genetic polymorphism of cytochrome P4502E1 in a Swedish population. Relationship to incidence of lung cancer / I. Persson, I. Johansson, H. Bergling [et al.] // FEBS Lett. – 1993. – № 319. – P. 207–211.
185. Association between restriction fragment length polymorphism of the human cytochrome P45011E1 gene and susceptibility to lung cancer / F. Uematsu, H. Kikuchi, M. Motomiya [et al.] // Jpn. J.Cancer Res. – 1991. – № 82. – P. 254–256.
186. Ethnic variation in the CYP2E1 gene: polymorphism analysis of 695 African–Americans, European–Americans and Taiwanese / E. A. Stephens, J. A. Taylor, N. Kaplan [et al.] // Pharmacogenetics. – 1994. – № 4. – P. 185–192.
187. Bolt H. M. The cytochrome P–450 isoenzyme CYP2E1 in the biological processing of industrial chemicals: consequences for occupational and environmental medicine / H. M. Bolt, P. H. Roos, R. Thier // Int. Arch. Occup. Environ. Health. – 2003. – Vol. 76, № 3. – P. 174–185.
188. Association between aldehyde dehydrogenase–2/cytochrome P450 2E1 genetic polymorphism and habit of alcohol drinking and the susceptibility of hepatocellular carcinoma / X. Ye, T. Peng, T. Liu [et al.] // Wei Sheng Yan Jiu. – 2010. – Vol. 39, № 1. – P. 42–45.
189. Functional PstI/RsaI polymorphisms in the CYP2E1 gene among south Indian populations / S. Lakkakula, R. Maram, A. K. Munirajan [et al.] // Asian Pac. J. Cancer Prev. – 2013. – Vol. 14, № 1. – P. 179–182.
190. Hepatic cytochrome P450 enzyme alterations in humans with progressive stages of nonalcoholic fatty liver disease / C. D. Fisher, A. J. Lickteig, L. M. Augustine [et al.] // Drug Metab Dispos. – 2009. – Vol. 37, № 10. – P. 2087–2094.
191. Cytochrome P450 2E1 genotype and the susceptibility to antituberculosis drug–induced hepatitis / Y. S. Huang, H. D. Chern, W. J. Su [et al.] // Hepatology. – 2003. – Vol. 37, № 4. – P. 924–930.

192. Polymorphisms and susceptibility to first-line anti-tuberculosis drug-induced hepatitis NAT2 and CYP2E1 / S. W. Lee, L. S. Chung, H. H. Huang [et al.] // *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* – 2010. – Vol. 14, № 5. – P. 622–626.
193. CYP2E1 RsaI/PstI polymorphism and risk of anti-tuberculosis drug-induced liver injury: a meta-analysis / R. Deng, T. Yang, Y. Wang, N. Tang // *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* – 2012. – Vol. 16, № 12. – P. 1574–1581.
194. CYP2E1 RsaI/PstI polymorphism and liver cancer risk among east Asians: a HuGE review and meta-analysis / Z. Tian, Y. L. Li, L. Zhao, C. L. Zhang // *Asian Pac. J. Cancer Prev.* – 2012. – Vol. 13, № 10. – P. 4915–4921.
195. CYP2E1 PstI/RsaI polymorphism and interaction with alcohol consumption in hepatocellular carcinoma susceptibility: evidence from 1,661 cases and 2,317 controls / C. Liu, H. Wang, C. Pan [et al.] // *Tumour Biol.* – 2012. – Vol. 33, № 4. – P. 979–984.
196. Cytochrome P450 2E1 (CYP2E1) genetic polymorphisms in a Lebanese population: frequency distribution and association with morbid diseases / N. K. Zgheib, Z. Mitri, E. Geryess, P. Noutsi // *Genet. Test Mol. Biomarkers.* – 2010. – Vol. 14, № 3. – P. 393–397.
197. Genetic polymorphisms of genes coding to alcohol-metabolizing enzymes in western Mexicans: association of CYP2E1*c2/CYP2E1*5B allele with cirrhosis and liver function / J. García-Bañuelos, A. Panduro, D. Gordillo-Bastidas [et al.] // *Alcohol Clin. Exp. Res.* – 2012. – Vol. 36, № 3. – P. 425–431.
198. The influence of genetic polymorphism of CYP2E1 on the development of alcohol liver cirrhosis / H. Cichoz-Lach, J. Partycka, I. Nesina [et al.] // *Wiad. Lek.* – 2006. – Vol. 59, № 11–12. – P. 757–761.
199. Genetic polymorphism of CYP2E1 and digestive tract alcohol damage among Polish individuals / H. Cichoz-Lach, J. Partycka, I. Nesina [et al.] // *Alcohol Clin. Exp. Res.* – 2006. – Vol. 30, № 5. – P. 878–882.
200. Polymorphism in cytochrome P450 2E1 and interaction with other genetic risk factors and susceptibility to alcoholic liver cirrhosis / A. J. Khan, M. Ruwali, G. Choudhuri [et al.] // *Mutat. Res.* – 2009. – Vol. 664, № 1–2. – P. 55–63.

201. Genetic polymorphisms of alcohol–metabolizing enzymes and cytokines in patients with alcohol induced pancreatitis and alcoholic liver cirrhosis / M. S. Kim, D. H. Lee, H. S. Kang [et al.] // *Korean J. Gastroenterol.* – 2004. – Vol. 43, № 6. – P. 355–363.
202. Molecular Interactions between NAFLD and Xenobiotic Metabolism / A. Naik, A. Belič, U. M. Zanger, D. Rozman // *Front. Genet.* – 2013. – № 4. – P. 22–29.
203. Inhibiting triglyceride synthesis improves hepatic steatosis but exacerbates liver damage and fibrosis in obese mice with nonalcoholic steatohepatitis / K. Yamaguchi, L. Yang, S. McCall [et al.] // *Hepatology.* – 2007. – № 45. – P. 1366–1374.
204. Study of cytochrome P450 2E1 and its allele variants in liver injury of nondiabetic, nonalcoholic steatohepatitis obese women / N. M. Varela, L. A. Quinones, M. Orellana [et al.]. – *Biol. Res.* – 2008. – № 41. – P. 81–92.
205. 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. 16, № 38. – P. 4800–4808.
206. Genetic polymorphisms of CYP2E1 and DNA repair genes HOGG1 and XRCC1: association with hepatitis B related advanced liver disease and cancer / S. Bose, D. M. Tripathi, Sukriti [et al.] // *Gene.* – 2013. – Vol. 519, № 2. – P. 231–237.
207. Genome–wide analysis of gene expression in human hepatocellular carcinomas using cDNA microarray: identification of genes involved in viral carcinogenesis and tumor progression / H. Okabe, S. Satoh, T. Kato [et al.] // *Cancer Res.* – 2001. – Vol. 61, № 5. – P. 2129–2137.
208. Comparison of gene expression profiles between hepatitis B virus– and hepatitis C virus–infected hepatocellular carcinoma by oligonucleotide microarray data on the basis of a supervised learning method / N. Iizuka, M. Oka, H. Yamada–Okabe [et al.] // *Cancer Res.* – 2002. – Vol. 62, № 14. – P. 3939–3944.

209. Glutathione S-transferase, MU-1; GSTM1 / The National Center for Biotechnology Information advances science and health by providing access to biomedical and genomic information [Electronic resource]. – Access mode : <http://www.omim.org/entry/138350>.
210. Electrochemical detection of glutathione s-transferase: an important enzyme in the cell protective mechanism against oxidative stress / M. C. Martos-Maldonado, J. M. Casas-Solvas, A. Vargas-Berenguel, L. García-Fuentes // *Methods Mol. Biol.* – 2014. – Vol. 1208. – P. 123–138.
211. Antioxidant role of glutathione S-transferases: protection against oxidant toxicity and regulation of stress-mediated apoptosis / R. Sharma, Y. Yang, A. Sharma [et al.] // *Antioxid. Redox Signal.* – 2004. – Vol. 6, № 2. – P. 289–300.
212. Lin E. W. Protein-Polymer Conjugation via Ligand Affinity and Photoactivation of Glutathione S-Transferas / E. W. Lin, N. Boehnke, H. D. Maynarde // *Bioconjug. Chem.* – 2014. – Vol. 25, № 10. – P. 1902–1909.
213. Hayes J. D. The glutathione S-transferase supergene family: regulation of GST and the contribution of the isoenzymes to cancer chemoprotection and drug resistance / J. D. Hayes, D. J. Pulford // *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* – 1995. – Vol. 30, № 6. – P. 445–600.
214. Kim E. H. 15-Deoxy- Δ 12,14-prostaglandin J2 as a potential endogenous regulator of redox-sensitive transcription factors / E. H. Kim, Y. J. Surh // *Biochem. Pharmacology.* – 2006. – Vol. 72, № 11. – P. 1516–1528.
215. Troglitazone inhibits tumor growth in hepatocellular carcinoma in vitro and in vivo / J. Yu, L. Qiao, L. Zimmermann [et al.] // *Hepatology.* – 2006. – Vol. 43, № 1. – P. 134–143.
216. PPARgamma inhibits hepatocellular carcinoma metastases in vitro and in mice / B. Shen, E. S. Chu, G. Zhao [et al.] // *Br. J. Cancer.* – 2012. – Vol. 106, № 9. – P. 1486–1494.
217. Direct evidence for the covalent modification of glutathione-S-transferase P1-1 by electrophilic prostaglandins: implications for enzyme inactivation and cell

- survival / F. J. Sánchez-Gómez, J. Gayarre, M. I. Avellano, D. Pérez-Sala // Arch. Biochem. Biophys. – 2007. – Vol. 457, № 2. – P. 150–159.
218. Glutathione S-transferases (GSTs) inhibit transcriptional activation by the peroxisomal proliferator-activated receptor gamma (PPAR gamma) ligand, 15-deoxy-delta 12,14prostaglandin J2 (15-d-PGJ2) / C. M. Paumi, P. K. Smitherman, A. J. Townsend, C. S. Morrow // Biochemistry. – 2004. – Vol. 43, № 8. – P. 2345–2352.
219. Regulation of JNK signaling by GSTp / V. Adler, Z. Yin, S. Y. Fuchs [et al.] // Embo J. – 1999. – Vol. 18, № 5. – P. 1321–1334.
220. The stress-activated protein kinase subfamily of c-Jun-kinasis / J. M. Kyriakis, P. Banerjee, E. Nicolakaki [et. al.] // Nature. – 1994. – № 369. – P. 156–160.
221. An osmosensing signal transducing pathway in mammalian cells / Z. Galcheva-Gargova, B. Derijard, I.-H. Wu, R.J. Davis // Science. – 1994. – № 265. – P. 806–808.
222. Sato K. Glutathione transferases as markers of preneoplasia and neoplasia / K. Sato // Adv. cancer. Res. – 1989. – № 52. – P. 205–255.
223. Tew K. D. Glutathione associated enzymes in anticancer drug resistance / K. D. Tew // Cancer res. – 1994. – № 54. – P. 4313–4320.
224. Кулинский В. Система глутатиона I. Синтез, транспорт, глутатионтрансферазы, глутатионпероксидазы / В. Кулинский, Л. Колесниченко // Биомедицинская химия. – 2009. – Т. 55, № 3. – С. 255–277.
225. Glutathione S-transferase, MU-1; GSTM1 / The National Center for Biotechnology Information advances science and health by providing access to biomedical and genomic information [Electronic resource]. – Access mode : <http://www.omim.org/entry/138350>.
226. Glutathione S-transferase, THETA-1; GSTT1 / The National Center for Biotechnology Information advances science and health by providing access to biomedical and genomic information [Electronic resource]. – Access mode : <http://omim.org/entry/600436>

227. PharmGKB summary: very important pharmacogene information for GSTT1 / C. F. Thorn, Y. Ji, R. M. Weinshilboum [et al.] // *Pharmacogenet. Genomics.* – 2012. – Vol. 22, № 8. – P. 646–651.
228. Bolt H. M. Relevance of the deletion polymorphisms of the glutathione S-transferases GSTT1 and GSTM1 in pharmacology and toxicology / H. M. Bolt, R. Thier // *Curr. Drug Metab.* – 2006. – Vol. 7, № 6. – P. 613–628.
229. Metabolic gene polymorphism frequencies in control populations / S. Garte, L. Gaspari, A. K. Alexandrie, C. Ambrosone [et al.] // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* – 2001. – Vol. 10, № 12. – P. 1239–1248.
230. Association of homozygous wild-type glutathione S-transferase M1 genotype with increased breast cancer risk / N. Roodi, W. D. Dupont, J. H. Moore, F. F. Parl // *Cancer Res.* – 2004. – Vol. 64, № 4. – P. 1233–1236.
231. Полиморфизм генов системы детоксикации и предрасположенность к болезни двигательного нейрона в российской популяции / В. И. Скворцова, П. А. Слонимский, М. И. Шадрина [и др.] // *Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова.* – 2006. – № 106. – С. 4–13.
232. Increased risk of antituberculosis drug-induced hepatotoxicity in individuals with glutathione S-transferase M1 'null' mutation / B. Roy, A. Chowdhury, S. Kundu [et al.] // *J. Gastroenterol. Hepatol.* – 2001. – Vol. 16, № 9. – P. 1033–1037.
233. Drug-metabolising enzyme polymorphisms and predisposition to anti-tuberculosis drug-induced liver injury: a meta-analysis / F. Sun, Y. Chen, Y. Xiang, S. Zhan // *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* – 2008. – Vol. 12, № 9. – P. 994–1002.
234. Effects of N-acetyltransferase 2 (NAT2), CYP2E1 and Glutathione-S-transferase (GST) genotypes on the serum concentrations of isoniazid and metabolites in tuberculosis patients / K. Fukino, Y. Sasaki, S. Hirai [et al.] // *J. Toxicol. Sci.* – 2008. – Vol. 33, № 2. – P. 187–195.
235. Influence of glutathione S-transferase M1 and T1 homozygous null mutations on the risk of antituberculosis drug-induced hepatotoxicity in a Caucasian

- population / V. Leiro, A. Fernández-Villar, D. Valverde [et al.] // *Liver Int.* – 2008. – Vol. 28, № 6. – P. 835–839.
236. A meta-analysis of the relationship between glutathione S-transferases gene polymorphism and hepatocellular carcinoma in Asian population / J. Chen, L. Ma, N. F. Peng [et al.] // *Mol. Biol. Rep.* – 2012. – Vol. 39, № 12. – P. 10383–10393.
237. Genetic polymorphisms of tobacco- and alcohol-related metabolizing enzymes and the risk of hepatocellular carcinoma / M. Munaka, K. Kohshi, T. Kawamoto [et al.] // *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* – 2003. – Vol. 129, № 6. – P. 355–360.
238. N-Acetyltransferase-2, glutathione S-transferase M1 and T1 genetic polymorphisms, cigarette smoking and hepatocellular carcinoma: a case-control study / U. Gelatti, L. Covolo, R. Talamini [et al.] // *Int. J. Cancer.* – 2005. – Vol. 115, № 2. – P. 301–306.
239. Genetic polymorphisms of glutathione S-transferase genes GSTM1, GSTT1 and risk of hepatocellular carcinoma / K. Song, J. Yi, X. Shen, Y. Cai // *PLoS One.* – 2012. – Vol. 7, № 11. – e 48924.
240. Glutathione-S-transferase GST M1 "null" genotype and the risk of alcoholic liver disease / V. T. Savolainen, J. Pjarinen, M. Perola [et al.] // *Alcohol. Clin. Exp. Res.* – 1996. – Vol. 20, № 8. – P. 1340–1345.
241. The role of polymorphisms of glutathione S-transferases GSTM1, M3, P1, T1 and A1 in susceptibility to alcoholic liver disease / A. M. Brind, A. Hurlstone, D. Edrington [et al.] // *Alcohol.* – 2004. – Vol. 39, № 6. – P. 478–483.
242. Association of genetic polymorphisms of glutathione-S-transferase genes (GSTT1, GSTM1, and GSTP1) and susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease in Zahedan, Southeast Iran / M. Hashemi, E. Eskandari-Nasab, A. Fazaeli [et al.] // *DNA Cell Biol.* – 2012. – Vol. 31, № 5. – P. 672–677.
243. Polymorphisms of glutathione S-transferase M1, T1, and P1 in patients with HBV-related liver cirrhosis, chronic hepatitis, and normal carriers / G. S.

- Mohammadzadeh, B. Yaghmaei, A. Allameh [et al.] // *Free PMC A. Clin. Biochem.* – 2006. – Vol. 39, № 1. – P. 46–49.
244. Патогенетика цирроза печени: полиморфизм генов глутатион-S-трансфераз / И. А. Гончарова, М. И. Рачковский, Е. В. Белобородова [и др.] // *Молекулярная биология.* – 2010. – Т. 44, № 3. – С. 431–438.
245. Изучение полиморфизмов генов GSTT1 и GSTM1 у больных раком легких / А. И. Дмитриева, В. В. Новицкий, Н. В. Севостьянова [и др.] // *Бюллетень СО РАМН.* – 2004. – № 1. – С. 60–62.
246. Kandemir O. Effects of gstt1, gstm1 and gstp1 gene polymorphism on the course of hepatitis B virus infection / O. Kandemir, I. Tamer, B. Tasdelen // *Hepatogastroenterology.* – 2008. – Vol. 55, № 86–87. – P. 1729–1733.
247. Polymorphisms in XRCC1 and glutathione S-transferase genes and hepatitis B-related hepatocellular carcinoma / M. W. Yu, S. Y. Yang, I. J. Pan [et al.] // *J. Nat. Cancer Inst.* – 2003. – Vol. 95, № 19. – P. 1485–1488.
248. GSTT1 and GSTM1 null genotypes may facilitate hepatitis C virus infection becoming chronic / C. Martínez, E. García-Martín, J. M. Ladero [et al.] // *J. Infect. Dis.* – 2007. – Vol. 195, № 9. – P. 1320–1323.
249. Board P. G. Isolation of a cDNA clone and localization of the human glutathione S-transferase 3 genes to chromosome bands 11q13 and 12q13–14 / P. G. Board, G. C. Webb, M. Coggan // *Ann. Hum. Genet.* – 1989. – № 53. – P. 205–213.
250. Chromosomal localization of human glutathione transferase genes of classes alpha, mu and pi / M. Q. Islam, A. Platz, J. Szpirer [et al.] // *Hum. Genet.* – 1989. – № 82. – P. 338–342.
251. Morrow C. S. Structure of the human genomic glutathione S-transferase-pi gene / C. S. Morrow, K. H. Cowan, M. E. Goldsmith // *Gene.* – 1989. – Vol. 75, № 1. – P. 3–11.
252. Molecular cloning, characterization, and expression in *Escherichia coli* of full-length cDNAs of three human glutathione S-transferase Pi gene variants: evidence for differential catalytic activity of the encoded proteins / F. Ali-

- Osman, O. Akande, G. Antoun [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 1997. – № 272. – P. 10004–10012.
253. The glutathione S-transferase GSTP1 polymorphism: effects on susceptibility to oral/pharyngeal and laryngeal carcinomas / C. Matthias, U. Bockmuhl, V. Jahnke [et al.] // *Pharmacogenetics.* – 1998. – № 8. – P. 1–6.
254. Genetic polymorphisms of drug-metabolizing enzymes and susceptibility to head-and-neck squamous-cell carcinoma / S. Morita, M. Yano, T. Tsujinaka [et al.] // *Int. J. Cancer.* – 1999. – № 80. – P. 685–688.
255. Genotypes of glutathione transferase M1 and P1 and their significance for lung DNA adduct levels and cancer risk / D. Ryberg, V. Skaug, A. Hewer [et al.] // *Carcinogenesis.* – 1997. – № 18. – P. 1285–1289.
256. Human glutathione S-transferase P1 polymorphisms: relationship to lung tissue enzyme activity and population frequency distribution / M. A. Watson, R. K. Stewart, G. B. J. Smith [et al.] // *Carcinogenesis.* – 1998. – Vol. 19, № 2. – P. 275–280.
257. Susceptibility to esophageal cancer and genetic polymorphisms in glutathione S-transferases T1, P1, and M1 and cytochrome P450 2E1 / D. X. Lin, Y. M. Tang, Q. Peng [et al.] // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* – 1998. № 7. – P. 1013–1018.
258. Structure-activity relationships and thermal stability of human glutathione transferase P1-1 governed by the H-site residue 105 / A.-S. Johansson, G. Stenberg, M. Widersten, B. Mannervik // *J. Mol. Biol.* – 1998. – № 278. – P. 687–798.
259. Natural occurring human glutathione S-transferase GSTP1-1 isoforms with isoleucine and valine in position 104 differ in enzymic properties / P. Zimniak, B. Nanduri, S. Hiruta [et al.] // *Eur. J. Biochem.* – 1994. – Vol. 224, № 3. – P. 893–899.
260. Relationship between genotype and enzyme activity of glutathione S-transferases M1 and P1 in Chinese / S. L. Zhong, S. F. Zhou, X. [et al.] // *J. Pharm. Sci.* – 2006. – Vol. 28, № 1–2. – P. 77–85.

261. Genotypes of glutathione transferase M1 and P1 and their significance for lung DNA adduct levels and cancer risk / D. Ryberg, V. Skaug, A. Hewer [et al.] // *Carcinogenesis*. – 1997. – Vol. 18, № 7. – P. 1285–1289.
262. Wlodarczyk M. Common polymorphisms in CYP1A1, GSTM1, GSTT1, GSTP1 and XPD genes and endogenous DNA damage / M. Wlodarczyk, G. Nowicka // *Mol. Biol. Rep.* – 2012. – Vol. 39, № 5. – P. 5699–5704.
263. GSTP1, GSTM1, and GSTT1 genetic polymorphisms in patients with cryptogenic liver cirrhosis / S. M. Ghobadloo, B. Yaghmaei, V. Bakayev [et al.] // *J. Gastrointest. Surg.* – 2004. – Vol. 8, № 4. – P. 423–427.
264. Анализ ассоциации полиморфных вариантов генов *GSTP1* и *GSTM1* с выживаемостью больных циррозом печени вирусной и алкогольной этиологии / М. И. Рачковский, И. А. Гончарова, Э. И. Белобородова [и др.] // *Бюллетень сибирской медицины*. – 2009. – № 2. – С. 45–49.
265. Liu Y. Genetic polymorphism of two enzymes with alcoholic liver disease in Northeast China / Y. Liu, L. Y. Zhou, X. W. Meng // *Hepatogastroenterology*. – 2012. – Vol. 59, № 113. – P. 204–207.
266. Association of genetic polymorphisms of glutathione-S-transferase genes (GSTM1, GSTT1 and GSTP1) with familial prostate cancer risk in a Japanese population / H. Nakazato, K. Suzuki, H. Matsui [et al.] // *Anticancer Res.* – 2003. – Vol. 23. – P. 2897–2902.
267. Genetic variants of glutathione S-transferase as possible risk factors for hepatocellular carcinoma: a HuGE systematic review and meta-analysis / D. L. White, D. Li, Z. Nurgalieva, H. B. El-Serag // *Am. J. Epidemiol.* – 2008. – Vol. 167, № 4. – P. 377–389.
268. Glutathione S-transferase P1 correlated with oxidative stress in hepatocellular carcinoma / T. Li, X. P. Zhao, L. Y. Wang [et al.] // *Int. J. Med. Sci.* – 2013. – Vol. 10, № 6. – P. 683–690.
269. Identification of genetic polymorphisms at the glutathione S-transferase Pi locus and association with susceptibility to bladder, testicular and prostate

- cancer / L. W. Harries, M. J. Stubbins, D. Forman [et al.] // *Carcinogenesis*. – 1997. – № 18. – P. 641–644.
270. Зупанец И А. Клиническая лабораторная диагностика: методы исследования / И. А. Зупанец. – Харьков : НФаУ«Золотые страницы», 2005. – 200с.
271. A Multiplex Polymerase Chain Reaction Protocol for the Simultaneous Analysis of the Glutathione S-Transferase GSTM1 and GSTT1 Polymorphisms / M. Arand, R. Muhlbauer, J. Hengstler [et al.] // *Analytical biochemistry* – 1996. – Vol. 236, № 1. – P. 184–186.
272. Glutathione S-transferase P1 (GSTP1) polymorphism in patients with chronic obstructive pulmonary disease / T. Ishii, T. Matsuse, S. Teramoto [et al.] // *Thorax*. – 1999. – № 54. – P. 693–696.
273. 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.
274. Новик А.А. Руководство по исследованию качества жизни в медицине / А.А. Новик, Т.И. Ионова / Под ред. Ю.Л. Шевченко. – М. : ОЛМА-пресс, 2007. – 313 с.
275. Ware J. E. The MOS 36 item short form health survey (SF 36) / J. E. Ware, C. D. Sherbourne // *Medical Care*. – 1992. – Vol. 30. – P. 473–483.
276. Процедура адаптації міжнародного опитувальника оцінки якості життя в Україні. Досвід застосування у хворих на бронхіальну астму / Ю. І. Фещенко, Ю. М. Мостовой, Ю. В. Бабійчук // *Укр. пульмонол. журн.* – 2002. – № 3. – С. 9–11.
277. Лапач С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. – Киев: МОРИОН, 2000. – 319 с.
278. Фогель Ф. Генетика человека / Ф. Фогель, А. Мотульски. – М. : Мир, 1990. – 378 с.

279. Гусейнзаде М. Г. Оценка качества жизни больных язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки / М. Г. Гусейнзаде // Терапевтический архив. – 2006. – № 2. – С. 38–42.
280. Применение индикаторных показателей для комплексной оценки качества жизни населения / А. В. Иванов, О. А. Фролова, Е. А. Тафеева [и др.] // Гигиена и санитария. – 2006. – № 5. – С. 44–46.
281. Impact of hepatitis C on health related quality of life: a systematic review and quantitative assessment / B. M Spiegel, Z. M. Younossi, R. D. Hays [et al.] // Hepatology. – 2005. – Vol. 41, № 4. – P. 790–800.
282. Quality of life in hepatitis C / E. Strauss, M. C. // Dias Teixeira Liver Int. – 2006. – Vol. 26, № 7. – P. 755–765.
283. Quality of life considerations for patients with chronic hepatitis C / G. R. Foster // J. Viral. Hepat. – 2009. – Vol. 16, № 9. – P. 605–611.
284. Impact of sustained virologic response on quality of life in chronic HVC carriers / R. Daltro-Oliveira, M. Morais-de-Jesus, K. M. Pettersen [et al.] // Ann Hepatol. – 2013. – Vol. 12, № 3. – P. 399–407.
285. Health-related quality of life in patients with chronic hepatitis C and advanced fibrosis / H. L. Bonkovsky, K. K. Snow, P. F. Malet [et al.] // J. Hepatol. – 2007. – Vol. 46, № 3. – P. 420–431.
286. The effect of early virological response in health-related quality of life in HCV-infected patients // L. C. Quarantini, A. Miranda-Scippa, S. Batista-Neves [et al.] // J. Med. Virol. – 2008. – Vol. 80, № 3. – 419–423.
287. Factors influencing health related quality of life in chronic liver disease // A. Soblonslidsuk, C. Silkapit, R. Konqsakon [et al.] // World J. Gastroenterol. – 2006. – Vol. 12, № 48. – P. 7786–7791.