

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
ім. М. І. ПИРОГОВА

Кваліфікаційна наукова праця  
на правах рукопису

**БЕВЗ ТЕТЯНА ІГОРІВНА**

УДК616-037:616.36-002:575.1

**ДИСЕРТАЦІЯ**  
**ОСОБЛИВОСТІ КЛІНІЧНОГО ПЕРЕБІГУ ТА ПРОГНОЗУ**  
**ХРОНІЧНОГО ГЕПАТИТУ С ПРИ ПОЛІМОРФІЗМІ ГЕНУ TLR-4**

222 – «Медицина»

Галузь знань 22 «Охорона здоров'я»

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і/текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

  
Бевз Т. І.

Науковий керівник: Мороз Лариса Василівна, доктор медичних наук,  
професор

Вінниця - 2021

## АНОТАЦІЯ

*Бевз Т. І.* Особливості клінічного перебігу та прогнозу хронічного гепатиту С при поліморфізмі гену TLR-4. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за галузі знань 22 – «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 – «Медицина». – Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова МОЗ України, Вінниця, 2021.

Дисертацію присвячено вирішенню актуальної задачі сучасної медицини та інфектології – підвищенню ефективності діагностики, прогнозування перебігу та лікування хронічного гепатиту С шляхом встановлення особливостей клінічного перебігу захворювання, визначення залежності рівнів біохімічних маркерів від поліморфних варіантів гену TLR4 та їх зв'язку з важкістю захворювання та ефективністю фармакотерапії.

Вірусний гепатит С продовжує активно привертати до себе увагу світової спільноти. Кількість людей, що живуть з вірусом гепатиту С, досі неухильно збільшується, незважаючи на наявність ефективних методів лікування. Протягом тривалого часу у більшості інфікованих пацієнтів відсутні будь-які симптоми захворювання, що і призводить до розвитку хронічного гепатиту С (ХГС) у 70-80% людей інфікованих вірусом гепатиту С. Основний шлях прогресування хронічного ураження печінки - розвиток послідовних стадій фіброзу печінки з формуванням в кінцевому підсумку цирозу і раку печінки, що багато в чому зумовлює поганий життєвий прогноз і короткі терміни виживання цієї категорії пацієнтів. Проводиться багато досліджень, щодо діагностичної значущості сироваткових маркерів фіброзу, які дозволяють оцінити не тільки стадію ХГС, а й активність фібrogенеза в печінці. В останні роки особливу увагу приділяють вивченню генетичних факторів при хронічному гепатиті С (ХГС), які, з одного боку, можуть

визначати індивідуальні особливості перебігу захворювання, а з іншого - служити маркером для оцінки прогнозу хвороби і відповіді на терапію.

В основі роботи лежить досвід спостереження за 131 хворими з хронічним гепатитом С (основна група) у віці від 26 років до 72 років (середній вік  $(43,8 \pm 0,8)$  роки), які перебували на диспансерному спостереженні у Рівненському обласному лікувально-діагностичному гепатологічному центрі протягом 2015-2018 рр. Контрольну групу склали 48 практично здорових осіб, які були репрезентативні до основної групи за віком та статтю.

Обстеження хворих та осіб контрольної групи проводилося за допомогою загальноклінічних (лабораторних та інструментальних) методів, проводили збір епідеміологічного анамнезу, анкетування хворих, серологічний аналіз на визначення antiHCV IgM, IgG cor, IgG NS3, IgG NS4, IgG NS5, генотипування, молекулярну гібридизацію (полімеразну ланцюгову реакцію (ПЛР)) вірусу та індивіда з подальшим генотипуванням TLR4 з мононуклеотидною заміною +3725 G/C та статистичний аналіз.

Наукова новизна дослідження полягає в тому, що досліджена розповсюдженість алельного поліморфізму rs11536889 +3725G/C гена TLR4 в популяційній вибірці індивідів з Північно-Західного регіону України, визначені особливості його впливу на клінічні та лабораторно-інструментальні показники перебігу захворювання, досліджена його асоціація з тяжкістю перебігу хронічного гепатиту С та ефективністю лікування, що дозволяє встановити ряд факторів, які мають прогностично несприятливий вплив на перебіг даного захворювання.

Встановлено, що особи, які є носіями алелю С (генотипи CC і GC) мають більш виражені клінічні прояви астено-вегетативного (1,5 рази;  $p < 0,05$ ), диспептичного (2,5 рази;  $p < 0,05$ ), холестатичного (1,5 рази;  $p < 0,05$ ) та геморагічного синдромів (2,1 рази;  $p < 0,05$ ). Індивіди носії генотипів CC і GC rs11536889 +3725G/C гена TLR4 мають достовірно важчий перебіг ХГС ніж індивіди носії генотипу GG за основними показниками цитолітичного (1,8

рази;  $p < 0,05$ ), холестатичного синдромів (1,6 рази;  $p < 0,05$ ) та синдрому печінково- клітинної недостатності (1,2 рази;  $p < 0,05$ ). При багатофакторному кореляційному аналізі визначений сильний кореляційний зв'язок між основними біохімічними маркерами ураження печінки та наявністю мінорного алелю C rs11536889 +3725G/C гена TLR4 ( $r$  (Спірмена) = 0,41-0,56).

Вперше описано, що хворі індивіди-носії алеля +3725 C гена TLR4 (генотипи GC та CC) мають більше ніж в чотири рази вищий показник вірусологічного навантаження (OR = 4,16; ДІ 95%: 1,701 - 10,172) ніж монозиготні носії алелю +3725 G (генотип GG). Алель C +3725 G/C гена TLR4 в моно- і гетерозиготних варіантах генотипів асоціюється з виникненням вираженого фіброзу (F 3-4) у хворих на ХГС ( $r$ (Spearman)=0.97;  $p < 0,0001$ ). Встановлено, що індивіди-носії алеля +3725 C гена TLR4 (генотипи GC та CC) мають в 4 рази вищий ризик розвитку важкого ступеню фіброзу (OR = 4,053; ДІ 95%: 1,691 - 9,717) ніж монозиготні носії алелю +3725 G (генотип GG).

Практична цінність результатів дослідження полягає в оптимізації диференційованого підходу до діагностики та вибору тактики лікування хронічного гепатиту С з урахуванням генетичних факторів, що в комплексі дає змогу спрогнозувати ризик важкого перебігу захворювання.

**Ключові слова:** хронічний гепатит С, фіброз, вірусне навантаження, біохімічні показники, алельний поліморфізм, Toll-подібний рецептор 4, клінічний перебіг, прогнозування.

## ANNOTATION

*Bevz T. I.* Features of the clinical course and prognosis of chronic hepatitis C with polymorphism of the TLR gene 4. - Qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

Dissertation for the Philosophy Doctor degree in 22 – “Health Care” in speciality 222 – “Medicine”. – National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsya, Ministry of Health of Ukraine, 2021.

The dissertation is devoted to solving the urgent problem of modern medicine and infectology - improving the diagnosis, prediction and treatment of chronic hepatitis C by establishing the clinical course of the disease, determining the dependence of biochemical markers on polymorphic TLR4 genes and their relationship to disease severity and effects.

Viral hepatitis C continues to actively attract the attention of the world community. The number of people living with the hepatitis C virus is still steadily increasing, despite the availability of effective treatments. For a long time, most infected patients do not have any symptoms of the disease, which leads to the development of chronic hepatitis C (CHC) in 70-80% of people infected with hepatitis C. eventually cirrhosis and liver cancer, which largely leads to poor prognosis and short survival of this category of patients. Many studies have been conducted on the diagnostic value of serum markers of fibrosis, which allow to assess not only the stage of CHC, but also the activity of fibrogenesis in the liver. In recent years, special attention has been paid to the study of genetic factors in chronic hepatitis C (CHC), which, on the one hand, can determine individual characteristics of the disease, and on the other - serve as a marker to assess disease prognosis and response to therapy.

The work is based on the experience of monitoring 131 patients with chronic hepatitis C (main group) aged 26 to 72 years (mean age  $(43.8 \pm 0.8)$  years), who were on dispensary observation at the Rivne Regional Medical Center. diagnostic hepatological center during 2015-2018. The control group consisted of 48 healthy individuals who were representative of the main group by age and sex.

Examination of patients and individuals of the control group was carried out using general clinical (laboratory and instrumental) methods, collected epidemiological history, questionnaires, serological analysis to determine antiHCV IgM, IgG cor, IgG NS3, IgG NS4, IgG NS5, genotyping, molecular polybridism

chain reaction (PCR)) of virus and individual followed by genotyping of TLR4 with +3725 G / C mononucleotide substitution and statistical analysis.

The scientific novelty of the study is that the prevalence of allelic polymorphism rs11536889 + 3725G / C gene TLR4 in a population sample of individuals from the North-Western region of Ukraine, identified features of its impact on clinical and laboratory-instrumental indicators of the disease, its association chronic hepatitis C and the effectiveness of treatment, which allows to identify a number of factors that have a prognostic adverse effect on the course of the disease.

It was found that individuals who are carriers of the C allele (genotypes SS and GC) have more pronounced clinical manifestations of astheno-vegetative (1.5 times;  $p < 0.05$ ), dyspeptic (2.5 times;  $p < 0.05$ ), cholestatic (1.5 times;  $p < 0.05$ ) and hemorrhagic syndromes (2.1 times;  $p < 0.05$ ). Individuals carrying the SS and GC genotypes rs11536889 + 3725G / C of the TLR4 gene have a significantly more severe course of CHC than individuals carrying the GG genotype on the main indicators of cytolytic (1.8 times;  $p < 0.05$ ), cholestatic syndromes (1.6 times;  $p < 0.05$ ) and hepatocellular insufficiency syndrome (1.2 times;  $p < 0.05$ ). Multivariate correlation analysis revealed a strong correlation between the main biochemical markers of liver damage and the presence of the minor allele C rs11536889 + 3725G / C gene TLR4 ( $r$  (Spearman) = 0.41-0.56).

For the first time, it was described that sick individuals carrying the +3725 C allele of the TLR4 gene (genotypes GC and CC) have more than four times higher virological load (OR = 4.16; CI 95%: 1.701 - 10.172) than monozygotic allele carriers + 3725 G (genotype GG). The C +3725 G / C allele of the TLR4 gene in mono- and heterozygous variants of genotypes is associated with the development of severe fibrosis (F 3-4) in patients with CHC ( $r$  (Spearman) = 0.97;  $p < 0.0001$ ). Individuals carrying the +3725 C allele of the TLR4 gene (genotypes GC and CC) were found to be 4 times more likely to develop severe fibrosis (OR = 4.053; CI 95%: 1.691 - 9.717) than monozygotic carriers of the +3725 G allele (genotype GG).

The practical value of the results of the study is to optimize a differentiated approach to the diagnosis and choice of tactics for the treatment of chronic hepatitis C taking into account genetic factors, which in combination allows to predict the risk of severe disease.

**Key words:** chronic hepatitis C, fibrosis, viral load, biochemical parameters, allelic polymorphism, Toll-like receptor 4, clinical course, prognosis.

### **Список публікацій здобувача:**

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Кучеренко, А. М., Мороз, Л. В., Бевз, Т. І., Булавенко, В. І., Антипкін, Ю. Г., Березенко, В. С., Диба, М. Б., Городна, О. В., & Лівшиць, Л. А. (2019). Дослідження поліморфізму rs11536889+ 3725G/C гена TLR4 у пацієнтів з автоімунним та хронічним вірусним гепатитом. *Цитология и генетика*, 53(4), 41-49. (Дисертанту належить статистична обробка отриманих даних, описання отриманих результатів, приймав участь в аналізі результатів і формулюванні висновків).

2. Bevz, T. I., Kyrychenko, D. F., & Martynyuk, G. A. (2019). The value of polymorphism+ 3725G/C TLR4 gene as a marker of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. *Journal of Education, Health and Sport*, 9(10), 328- 336. (Дисертанту належить узагальнення літературних джерел, статистична обробка отриманих даних, описання отриманих результатів, приймав участь в аналізі результатів і формулюванні висновків, технічне оформлення роботи).

3. Bevz, T. I. (2020). Clinical and epidemiological features of chronic hepatitis C in the North-Western region of Ukraine. *Journal of Education, Health and Sport*, 10(2), 281-290. (Дисертанту належить аналіз літературних джерел, статистична обробка отриманих даних, описання отриманих результатів, аналіз результатів і формулювання висновків, технічне оформлення роботи).

4. Bevz, T. I., Martynyuk, G. A., Livshits, L. A., & Demchyshyn, Y. M. (2020). Laboratory-biochemical features of the course of chronic hepatitis C with polymorphism rs11536889 + 3725G/C of TLR-4 gene. *Journal of Education, Health and Sport*, 10(4), 254-261. *(Дисертанту належить узагальнення літературних джерел, описання отриманих результатів, приймав участь в аналізі результатів і формулюванні висновків, технічне оформлення роботи).*

#### **Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:**

5. Бевз, Т. І., & Мороз, Л. В. (2017). Особливості клінічного перебігу хронічного гепатиту С при поліморфізмі гену TLR4. Програма та тези терапевтичної конференції молодих вчених ВНМУ імені М. І. Пирогова клініки МКЛ №1 м. Вінниці, м. Вінниця, 10 лютого 2017 р. – С. 2. *(Дисертанту належить узагальнення літературних джерел, статистична обробка отриманих даних, описання отриманих результатів, приймав участь в аналізі результатів і формулюванні висновків).*

6. Бевз, Т., Мартинюк, Г., Куляс, С., Попович, О., & Медведєва, Л. (2017). Особливості клінічного перебігу та прогнозу хронічного гепатиту С при поліморфізмі гену TLR4. Інфекційні хвороби в практиці лікаря-інтерніста: сучасні аспекти: матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції, м. Суми, 25-26 травня 2017 р. Редакційна колегія: Чемич М. Д., Ільїна В. В., Мороз Л. В. та ін. - Суми: СумДУ, 2017. - С. 29-31. *(Дисертанту належить статистична обробка отриманих даних, описання отриманих результатів, технічне оформлення роботи).*

7. Bevz, T. I. (2018). Clinical course of chronic hepatitis C with TLR4 gene polymorphism. Матеріали XV Міжнародної наукової конференції студентів та молодих вчених «Перший крок в науку – 2018», м. Вінниця, 18-20 квітня 2018 р. Члени редколегії: Білик О. О., Повshedна Т. Ю., Басінських О. Г. та ін. – С. 291. *(Дисертанту належить аналіз літературних джерел, статистична обробка отриманих даних, описання отриманих результатів, аналіз результатів і формулювання висновків, технічне оформлення роботи).*



8. Хоронжевська, І. С., Бевз, Т. І., & Мартинюк, Г. А. (2018). Молекулярно-генетичний моніторинг за циркуляцією вірусу гепатиту С серед населення Рівненської області. Збірник матеріалів тез науково-практичної конференції (з міжнародною участю) «Громадське здоров'я: проблеми та перспективи розвитку», м. Острог, 29 листопада 2018 р. Члени редколегії: Гущук І. В., Гільман А. Ю., Крайчинська Г. В. та ін. – С. 62-63. *(Дисертанту належить узагальнення літературних джерел, приймав участь в аналізі результатів і формулюванні висновків).*

9. Бевз, Т. І., Мороз, Л. В., & Мартинюк, Г. А. (2019). Значення поліморфізму гена TLR4 як предиктора розвитку тяжкого фіброзу у хворих на хронічний гепатит С. Актуальна інфектологія, 7(2), 40-41. *(Дисертанту належить статистична обробка отриманих даних, участь в аналізі результатів і формулюванні висновків, технічне оформлення роботи).*

10. Бевз, Т. І., Мороз, Л. В., & Мартинюк, Г. А. (2019). Залежність прогресування хронічного гепатиту С від поліморфізму гену TLR4. Всеукраїнська науково-практична конференція інфекціоністів і пленум ГО «Всеукраїнська асоціація інфекціоністів» «Діагностика, лікування і профілактика інфекційних хвороб у період медичної реформи», м. Кропивницький, 3-4 жовтня 2019 р. Члени редколегії: Андрейчин М. А., Васильєва Н. А., Голубовська О. А. та ін. – С. 9-11. *(Дисертанту належить узагальнення літературних джерел, статистична обробка отриманих даних, участь в аналізі результатів і формулюванні висновків, технічне оформлення роботи).*

## ЗМІСТ

АНОТАЦІЯ .....	2
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ .....	12
ВСТУП .....	14
РОЗДІЛ 1. ОСОБЛИВОСТІ ІМУНО-ПАТОГЕНЕЗУ ТА КЛІНІЧНОГО	
ПЕРЕБІГУ ХРОНІЧНОГО ГЕПАТИТУ С. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ .....	
20	
1.1. Сучасний стан епідемічного процесу вірусного гепатиту С в світі та Україні .....	20
1.2. Особливості імунопатогенезу вірусного гепатиту С .....	22
1.3. Характеристика родини Толл-подібних рецепторів .....	26
1.4. Патогенетичні особливості фіброгенезу при хронічному гепатиті С .....	31
1.5. Особливості сучасної протівірусної терапії хронічного гепатиту С .....	36
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ .....	
43	
2.1. Комплексна клінічна характеристика хворих на хронічний гепатит С та осіб контрольної групи .....	43
2.2. Методи дослідження .....	55
2.3. Методи статистичного аналізу результатів дослідження .....	61
РОЗДІЛ 3. СУЧАСНА ХАРАКТЕРИСТИКА ЕПІДЕМІЧНОГО ПРОЦЕСУ	
ХРОНІЧНОГО ГЕПАТИТУ С У РІВНЕНСЬКІЙ ОБЛАСТІ .....	
63	
РОЗДІЛ 4. КЛІНІКО-ЛАБОРАТОРНІ ОСОБЛИВОСТІ ПЕРЕБІГУ ХГС ПРИ	
ПОЛІМОРФІЗМІ rs11536889 +3725G/C ГЕНУ TLR4 .....	
77	
4.1. Поширеність носійства алелей rs11536889 +3725G/C гену TLR4 .....	78
4.2. Клінічні особливості перебігу хронічного гепатиту С при наявності різних комбінацій алельних варіантів +3725 G/C гену TLR-4 .....	79

4.3. Характеристика лабораторних показників у хворих на хронічний гепатит С при наявності різних комбінацій алельних варіантів +3725 G/C гену TLR-4 .....	84
4.4. Визначення предикторів та встановлення ризиків розвитку різних ступенів активності запального процесу у хворих з ХГС при поліморфізмі rs11536889 +3725G/C гену TLR4 .....	87
РОЗДІЛ 5. ДОСЛІДЖЕННЯ ВЗАЄМОЗВ'ЯЗКУ МІЖ КЛІНІКО-ЛАБОРАТОРНИМИ, ВІРУСОЛОГІЧНИМИ, ГЕНЕТИЧНИМИ ПОКАЗНИКАМИ ТА ЕФЕКТИВНІСТЮ ПРОТИВІРУСНОГО ЛІКУВАННЯ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ ГЕПАТИТ С .....	91
5.1. Визначення рівня віремії у хворих з ХГС залежно від поліморфізму +3725 G/C гену TLR-4 .....	92
5.2. Особливості фіброзу печінки у хворих на хронічний гепатит С залежно від поліморфізму +3725 G/C гену TLR-4 .....	94
5.3. Ефективність противірусної терапії у хворих на хронічний гепатит С з різними поліморфними варіантами +3725 G/C гену TLR4 .....	97
АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ .....	107
ВИСНОВКИ .....	115
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ .....	118
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ЛІТЕРАТУРИ .....	119
ДОДАТКИ .....	135

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ**

АЛТ – аланінамінотрансфераза  
АСТ – аспартатамінотрансфераза  
ВГС – вірусний гепатит С  
ГС – гепатит С  
ГЦК – гепатоцелюлярна карцинома  
ДНК – дезоксирибонуклеїнова кислота  
ЗКП – зірчасті клітини печінки  
ІЛ – інтерлейкін  
ІНФ – інтерферон  
ІФА – імуноферментний аналіз  
ЛДГ – лактатдегідрогеназа  
ЛФ – лужна фосфатаза  
ПЛР – полімеразна ланцюгова реакція  
ПВТ – противірусна терапія  
РНК – рибонуклеїнова кислота  
СВВ – стійка вірусологічна відповідь  
ХГС – хронічний гепатит С  
ANA – антинуклеарні антитіла  
CD – cell differentiation  
HBV – вірус гепатиту В  
HCV – вірус гепатиту С  
HIV – вірус імунодефіциту людини  
Ig – імуноглобулін  
IL – інтерфлейкін  
mRNA – матриксна рибонуклеїнова кислота  
RLRs – RIG-I – подібні рецептори  
SNP – поліморфізм одиничних нуклеотидів  
TGF-b1 – трансформуючий фактор росту -b1

Th1 – Т-лімфоцити хелпери 1-го типу

Th2 – Т-лімфоцити хелпери 2-го типу

TLRs – Toll-подібні рецептори

TLR-4 – Toll-подібний рецептор 4-го типу

TNF $\alpha$  – тумор некротичний фактор  $\alpha$

## ВСТУП

**Актуальність теми.** Вірусний гепатит С як глобальна медико-соціальна проблема досі не втрачає своєї актуальності. Щороку кількість нових випадків збільшується на 3-5 млн. чоловік, незважаючи на посилення діагностичних заходів та наявність ефективних методів лікування. За даними ВОЗ в світі зареєстровано понад 170 млн. осіб інфікованих вірусом гепатиту С (HCV) з яких більш як 80 млн. мають хронічний гепатит С (ХГС) при цьому велика кількість носіїв цього вірусу досі не виявлені. Україна належить до країн з високим ступенем захворюваності на вірусний гепатит С, за офіційними даними на сьогодні вірусом гепатиту С інфіковано близько 5% населення, однак враховуючи що в країні не достатньо розвинена служба епідеміологічного нагляду кількість хворих може суттєво перевищувати офіційну статистику [8, 29, 76, 101].

Протягом тривалого часу вірусний гепатит С у більшості інфікованих пацієнтів перебігає латентно без будь-яких ознак захворювання та у 70-80% інфікованих HCV виявляється вже на стадії хронічного гепатиту С. В подальшому протягом 10-30 років майже у 20% хворих на хронічний гепатит С розвивається цироз печінки залежно від статі та віку на момент інфікування, летальність протягом 5-7 років і після постановки діагнозу цирозу печінки (ЦП) становить 40-80% [11, 80, 117].

На природній перебіг ВГС –інфекції впливає низка факторів, таких як фактори вірусу, навколишнього середовища та самого «хазяїну». Серед факторів макроорганізму останнім часом почали активно досліджуватися генетичні, роль яких, з огляду на вже отримані науковцями дані, важко переоцінити.

Розвиток природної імунної відповіді на проникнення вірусу гепатиту С тісно пов'язаний з функцією моноцитоїдних і -плазмоцитоїдних дендритних клітин, що отримують сигнали від Toll-подібних рецепторів (TLR). Взаємодія між HCV і TLR4 створює достатньо сильний комплекс:

вірус гепатиту С може безпосередньо індукувати експресію TLR4, а також втрату толерантності до TLR лігандів моноцитів/макрофагів. Крім того, сигнали TLR4 можуть регулювати реплікацію HCV [103, 126, 135].

TLR4 є рецептором розпізнавання ліпополісахариду клітинної стінки грам-негативних бактерій, що відіграє ключову роль у вродженому імунітеті шляхом активації запальних реакцій. Печінка піддається впливу надзвичайно високих концентрацій ендотоксину і є основним органом, що очищує організм від ліпополісахариду, який захоплюється з портальної крові клітинами Купфера і гепатоцитами, і виводиться у великій кількості через жовч. Таким чином, не дивно, що TLR4 був залучений в патогенез багатьох захворювань печінки [91, 92, 104].

Вивчення патогенезу, вдосконалення діагностики та підвищення ефективності терапії хронічного гепатиту С (ХГС) є досить актуальними проблемами сучасної гепатології.

В останні роки особливу увагу приділяють вивченню генетичних факторів при хронічному гепатиті С (ХГС), які, з одного боку, можуть визначати індивідуальні особливості перебігу захворювання, а з іншого - служити маркером для оцінки прогнозу хвороби і відповіді на терапію.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційна робота виконана згідно плану науково-дослідних робіт Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова і є фрагментом наукової роботи кафедри інфекційних хвороб "Вивчення взаємозв'язку вірусних, метаболічних та генетичних факторів з особливостями перебігу хронічних вірусних гепатитів В та С", № державної реєстрації – 0104U003552. Дисертант є співвиконавцем теми.

**Мета.** Підвищити ефективність діагностики та лікування ХГС шляхом визначення поліморфізму гену TLR-4.

**Завдання:**

1. Визначити епідеміологічні особливості поширення ХГС у Рівненській області.

2. Визначити частоту поліморфізму гену TLR-4 у здорових осіб та хворих на ХГС.
3. Встановити клінічні особливості перебігу ХГС та зміни основних біохімічних показників при поліморфізмі гену TLR-4.
4. Дослідити наявність зв'язку між поліморфізмом гену TLR-4 та розвитком фіброзних змін печінки у хворих на ХГС.
5. Оцінити ефективність протівірусної терапії ХГС при поліморфізмі гену TLR-4.
6. Прогнозувати перебіг ХГС при поліморфізмі гену TLR-4.

**Об'єкт дослідження** – хронічний гепатит С.

**Предмет дослідження** - клініко-біохімічні показники, серологічні та вірусологічні тести, поліморфні варіанти гену TLR-4, показники активності запального процесу та ступеню фіброзу печінки у хворих на хронічний гепатит С.

**Основні методи дослідження.** Епідеміологічні (збір епідеміологічного анамнезу), клініко-анамнестичні (збір скарг, визначення анамнезу захворювання, проведення загального огляду), біохімічні (визначення активності аланінамінотрансферази (АЛТ), аспартатамінотрансферази (АСТ), лактатдегідрогенази (ЛДГ), загального білірубіну, лужної фосфатази (ЛФ), гамаглутамілтранспептидази (ГГТ), вмісту загально білку, альбуміну, холестерину), серологічні (anti-HCV сумарні, anti-HCV IgGcor, anti-HCV IgG NS3, anti-HCV IgG NS4, anti-HCV IgG NS5), молекулярно-генетичні (RNA HCV кількісним методом, генотипування HCV, визначення поліморфізму +3725 G\C (rs11536889) гену TLR-4) та інструментальні методи дослідження (УЗ-дослідження, еластографія). Статистична обробка отриманих результатів проводилась з використанням пакету програм Statistica 6.1; IBM SPSS12 Statistic.

**Наукова новизна.** Вперше встановлені дані про залежність комбінацій алельних варіантів rs11536889 +3725 G/C гену TLR-4 у хворих на хронічний гепатит С від віку, статі, тривалості захворювання та клініко-лабораторних



особливостей перебігу ХГС, також було визначено характер фіброзних змін тканини печінки при певних комбінаціях алельних варіантів гену TLR-4, що дозволило прогнозувати розвиток віддалених наслідків хронічного гепатиту С та його клінічний перебіг. Узагальнюючи отримані результати дисертаційного дослідження були розроблені прогностичні критерії перебігу хронічного гепатиту С в залежності від комбінацій алельних варіантів rs11536889 +3725 G/C гену TLR-4.

В ході проведених досліджень були доповнені та уточнені дані щодо епідеміологічних особливостей поширення хронічного гепатиту С у мешканців Рівненської області.

Проведене дослідження дозволить покращити профілактичну, протиепідемічну, діагностичну, лікувальну, диспансерну та медико-експертну роботу.

**Практичне значення результатів дослідження.** Важливе практичне значення одержаних результатів відзначає той факт, що отримані результати дають більш поглиблену оцінку факторів важкого перебігу хронічного гепатиту С залежно від поліморфізму rs11536889+ 3725G/C гена TLR4, що дозволило більш конкретизовано підійти до формування груп ризику щодо ускладненого перебігу хронічного гепатиту С. Проаналізована залежність ефективності противірусної терапії від поліморфізму rs11536889+ 3725G/C гена TLR4 у пацієнтів з хронічним гепатитом С допомагає прогнозувати результат призначеної терапії.

Результати проведеного дослідження в перспективі можуть бути використані і впроваджені в практичну охорону здоров'я України і для подальших наукових досліджень.

**Особистий внесок дисертанта** під час виконання наукової роботи включає самостійно виконаний патентно-інформаційний пошук, знайдені та опрацьовані вітчизняні та зарубіжні літературні джерела з проблематики, що вивчається. Була розроблена реєстраційна карта пацієнтів з хронічним гепатитом С та практично здорових осіб контрольної групи. Отримані

епідеміологічні, клініко-лабораторні, серологічні, молекулярно-генетичні та інструментальні показники було систематизовано, інтерпретовано, проаналізовано, статистично оброблено. Автором самостійно написано всі розділи дисертації. Разом з науковим керівником здійснено аналіз та узагальнення результатів дослідження, сформульовані висновки і надані практичні рекомендації. Дисертант у повному обсязі оволодів методиками дослідження, самостійно проводив забір матеріалу і брав участь у проведенні клінічних, біохімічних, молекулярно–генетичних та серологічних досліджень в рамках даної роботи.

**Публікації.** Матеріали дисертації висвітлені в 10 публікаціях (з них 2 роботи є самостійними) у наукових періодичних виданнях та представлені у 4 статтях в наукових фахових журналах, 1 з яких включений до міжнародних наукометричної бази Scopus, 3 статті опубліковані в закордонному науковому журналі (Польща). Крім того надруковані 6 тез у збірниках матеріалів фахових науково-практичних конференцій.

**Апробація результатів дисертації.** Основні положення дисертаційної роботи пройшли апробацію на фахових науково-практичних конференціях, зокрема, основні положення роботи викладені та обговорені на терапевтичній конференції молодих вчених ВНМУ імені М. І. Пирогова клініки МКЛ №1 м. Вінниці (м. Вінниця, 10 лютого 2017 р.); XV Міжнародній студентській науковій конференції «Перший крок в науку» (м. Вінниця, 18-20 квітня 2018 р.); Всеукраїнській науково-практичній конференції інфекціоністів і пленумі ГО «Всеукраїнська асоціація інфекціоністів» « Сучасні діагностичні, лікувальні і профілактичні технології у практиці інфекціоніста» (м. Чернівці, 4-5 жовтня 2018 р.); XVI Міжнародній студентській науковій конференції «Перший крок в науку» (м. Вінниця, 18-19 квітня 2019 р.); науково-практичній конференції з міжнародною участю «Актуальні інфекційні захворювання в практиці сімейного лікаря» (м. Київ, 4–5 квітня 2019 р.); Всеукраїнській науково-практичній конференції інфекціоністів «Інфекційні хвороби і біобезпека» (м. Хмельницькій, 16-17 травня 2019 р.).

**Структура і обсяг дисертації.** Дисертація викладена українською мовою на 143 сторінках друкованого тексту і складається з анотації, вступу, огляду літератури, опису матеріалів та методів дослідження, 3 розділів власних досліджень, розділу, присвяченого аналізу і узагальненню одержаних результатів, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних літературних джерел, що включає 136 найменування (54 кирилицею, 82 латиницею), додатків. Робота містить 16 рисунків, 37 таблиць.

## РОЗДІЛ 1

### ОСОБЛИВОСТІ ІМУНО-ПАТОГЕНЕЗУ ТА КЛІНІЧНОГО ПЕРЕБІГУ ХРОНІЧНОГО ГЕПАТИТУ С. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

#### 1.1 Сучасний стан епідемічного процесу вірусного гепатиту С в світі та Україні.

Вірусний гепатит С все ще залишається актуальною проблемою сучасної медицини. Медичне і соціальне значення ХГС визначається значним поширенням, інтенсивним зростанням рівня інфікованості, різноманітністю клінічних проявів.

На сьогодні зареєстровано понад 170 мільйонів людей, заражених вірусом гепатиту С, що становить близько 2-3% загальносвітової популяції [80, 108, 128]. Щороку фіксується 3-4 мільйони нових випадків зараження гепатитом С, і майже 500 000 людей помирають від причин, пов'язаних із ХГС [89,117]. Смертність, обумовлена вірусним гепатитом С та його ускладненнями останнім часом перевершила смертність, пов'язану з ВІЛ-інфекцією [128]. Найчастіше гепатит С (ГС) перебігає безсимптомно, з розвитком безжовтяничних, субклінічних та інаппарантних форм, які зазвичай завершуються самостійно та не потребують стаціонарного лікування, однак у 70–80% випадків переходять у хронічний гепатит та у 20–30% хворих – у цироз печінки [8,10,77,131].

Захворюваність на вірусний гепатит С реєструється в усіх країнах світу, однак її інтенсивність є нерівномірною. Близько 75 % випадків вірусного гепатиту С припадає на країни з низьким і середнім рівнями доходу. Найбільший рівень захворюваності HCV фіксують серед населення Східного Середземноморського та Європейського регіонів який складає 2,3% (15 млн) та 1,5% (14 млн) відповідно. У Північній Європі відповідний показник складає менше 1 % населення. Більш високі рівні захворюваності реєструються на півдні та сході [90, 113, 117, 128]. Найнижчи показники поширеності HCV-інфекції визначаються у Великобританії та країнах

Скандинавії [24]. Найбільша кількість хворих на ГС була зареєстрована у Китаї (10 млн. осіб), Пакистані (7,2 млн. осіб), Індії (6,2 млн осіб) та Єгипті (5,6 млн. осіб), що складає майже 40 % від всіх людей, які живуть з вірусом ГС [11, 29].

За даним ВООЗ, Україна належить до країн із високою інтенсивністю поширення вірусного гепатиту С. Станом на січень 2020-го року в Україні зареєстровано 2 107 660 осіб ( $\approx 5\%$  населення) інфікованих ВГС і лише 6,5% з них (87 269 осіб) перебуває під медичним наглядом. Однак данні статистики не висвітлюють реальний стан проблеми поширення HCV-інфекції на території України, оскільки офіційна реєстрація гострого гепатиту С в Україні ведеться лише з січня 2003 р., а реєстрація захворюваності на хронічний гепатит С з січня 2010 р. Відповідно даних офіційної статистики визначається тенденція до збільшення кількості осіб у яких було виявлено маркери HCV [8, 10, 48]. В Україні на наявність маркерів HCV за 2013 – 2016 рр. було протестовано 4976448 осіб, з них 784485 – з діагностичною метою (15,76%), 4191963 – з метою епіднагляду (84,24%). Позитивні результати тестування були встановлені у 205449 осіб, отже, кількість серопозитивних осіб майже в 4 рази вища, ніж кількість хворих з HCV-інфекцією, які знаходяться під медичним наглядом. Звичайно, частина таких результатів належить хворим на ВГС що протягом року тестуються декілька разів, в деяких осіб виявляються ретроспективні маркери (у разі перенесеного HCV), але цим не можна пояснити таку значну різницю [24, 43, 48]. Суттєва невідповідність між кількістю осіб з позитивними маркерами інфікування HCV та числом офіційно зареєстрованих хворих на ГС може свідчити про те, що велика частина інфікованих осіб не «доходять» до системи медичного диспансерного спостереження, залишаються поза увагою лікарів-інфекціоністів та не реєструються в матеріалах офіційної звітності. Отже така різниця яскраво демонструє, що дані офіційної статистики захворюваності на ВГС відображають далеко не повну картину щодо

епідемічної ситуації в Україні, що оцінюється за показниками захворюваності та поширеності HCV-інфекції [8, 10, 11, 24, 29].

## 1.2. Особливості імунно-патогенезу вірусного гепатиту С

Перші згадки про існування посттрансфузійного гепатиту «ні А, ні В» з'явилися вже у 70-х роках ХХ століття, однак існуючі на той момент вірусологічні методи не дозволяли ідентифікувати та охарактеризувати збудник [41, 78, 84]. Завдяки появі нових молекулярно-біологічних методів дослідження в 1988 році вченим вдалося секвенувати геном HCV. В 1989 було проведено клонування РНК ВГС і отримано імунореактивні олігопептиди, які стали основою діагностичних препаратів для виявлення антитіл до HCV [14, 39, 53, 108].

Вірус гепатиту С це дрібний вірус, що належить до роду *Hepacivirus* сімейства флавівірусів (*Flaviviridae*), розміри вірусної частки становлять в діаметрі близько 50 нм,. Вірус складається з одониткової лінійної РНК (позитивної полярності протяжністю біля 9400-9600 нуклеотидів), нуклеокапсиду та білково-ліпідної оболонки. Геном має одну відкриту рамку зчитування, що кодує поліпротеїн, по краях якої розташовані 5'- та 3'-кінці нетранслюючої ділянки (UTR). Поліпротеїн розщеплюється вірусними протеїназами на структурні та неструктурні білки [18, 19, 41, 118, 128]. До структурних білків відносять серцевинний (C-core protein) та два оболонкові глікопротеїни (E1- та E2-envelope protein), а P7-віропориновий іонний канал [23] та 6 інших (NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A, NS5B) – ферменти та регуляторні пептиди, є не структурними білками [38, 76, 84].

Особливістю геному HCV є його генетична неоднорідність, що характеризується швидкою заміною нуклеотидів. Висока частота мутацій ВГС ( $10^3$  в розрахунку на нуклеокапсид в кожній генерації) наряду зі швидкістю репродукції (приблизно  $10^{12}$  за добу у людини) обумовлюють еволюцію вірусу у комплекс генетично близьких, але імунологічно відмінних варіантів – так званих квазивидів [19, 39, 53, 78, 108, 131].

Структурні білки (E1 і E2 / NS1) входять до складу зовнішньої оболонки вірусу і несуть на своїй поверхні антигенні детермінанти вірусу. Вони характеризуються високою нестабільністю, найбільш часто мутують, що призводить до неефективності гуморальної ланки імунної відповіді. Важливою структурною особливістю протеїнів оболонки є присутність варіабельних та гіперваріабельних (HVR) доменів, з високою частотою заміни амінокислотних залишків. Двома найбільш варіабельними регіонами в E2 є HVR1 та HVR2, які локалізовані на N-кінцевій частині E2-протеїну. Було виявлено, що рекомбінантний E2-протеїн взаємодіє *in vitro* з CD81, який, можливо, є рецептором HCV [19, 41, 53, 113]. Неструктурний NS3-протеїн має протеазну активність і виявляє низьку імуногенність. NS4-регіон включає 2 протеїни, а саме – NS4A і NS4B. Перший протеїн діє як кофактор для NS3-протеази. Другий протеїн імовірно бере участь в утворенні HCV-реплікаційного комплексу. NS5-регіон складається з 2 протеїнів, NS5A та NS5B. NS5A-протеїн є компонентом РНК-реплікаційного комплексу, NS5B діє як РНК-залежна РНК-полімераза. Вірусна РНК-полімераза під час реплікації робить багато помилок через недостатню коригуючу 3'-5'-екзонуклеазну активність, що призводить до високої частоти мутацій [14, 41, 76, 118].

Виділяють щонайменше 8 основних генотипів вірусу (1-8), які у свою чергу поділяються на понад 100 субтипи. За географічним поширенням деякі генотипи зустрічаються повсюдно (1-3 генотипи), тоді як інші циркулюють лише певних регіонах (4-8 генотипи). Так, субтип 1a переважає у Північній Європі та Північній Америці, а субтип 1b – у Південній та Східній Європі, Азії. Субтипи 2a та 2b характерні для Північної Америки, Європи та Японії, а субтип 2c – для Італії. Генотип 3 найбільш ендемічний у Східній Європі, Південно-Східній Азії, Таїланді, Індії, Пакистані. Субтип 3a займає друге місце за частотою поширення на більшій частині Європи та США. Генотипи 4, 5, 6, 7 та 8 мають більш локальне поширення. Генотип 4 в основному зустрічається у Центральній та Північній Африці, на Середньому Сході.

Генотип 5 поширений виключно у Південній Африці. Це єдиний генотип, який містить лише один субтип 5a. Генотип 6 широко представлений у В'єтнамі, Гонконзі, Китаї. Генотипи 7 та 8 є найменш дослідженими та зустрічаються у Демократичній республіці Конго та у Індії відповідно [38, 53, 61, 78, 113]. В Україні переважають генотипи 1b та 3a [24, 45].

Висока мінливість ВГС, що призводить до утворення та одночасного існування великої кількості квазівидів вірусу (множинних варіантів вірусу з частково зміненим геномом) і тим самим сприяє тому, що імунна система не встигає продукувати віруснейтралізуючі антитіла. Відбувається «вислизання» вірусу від імунної відповіді, що викликає тривалу персистенцію вірусу в організмі хворого [14, 19, 84]. Для клініки хронічного вірусного гепатиту С характерна наявність печінкових та позапечінкових проявів. В печінці переважно спостерігають такі зміни як лімфоїдна інфільтрація порталних трактів з утворенням лімфоїдних фолікулів, лімфоїдна інфільтрація часточок, ступінчасті некрози, стеатоз, пошкодження дрібних печінкових проток, фіброз печінки, які зустрічаються в різній комбінації і які визначають ступінь гістологічної активності і стадію гепатиту. При ХГС встановлена позапечінкова реплікація в клітинах кісткового мозку, лімфатичних вузлів, селезінки, а також моноцитах та лімфоцитах, яка, безумовно, сприяє персистенції вірусу та розвитку різних позапечінкових проявів ГС [84, 113, 128, 131]. Позапечінкові прояви ВГС зустрічаються, за даними різних авторів, у 30-75% хворих. Вони можуть виходити на перший план в перебігу хвороби і визначати прогноз захворювання. Перебіг ХГС може супроводжуватися такими іммуноопосередкованими позапечінковими проявами, як змішана кріоглобулінемія, червоний плоский лишай, мезангіокапілярний гломерулонефрит, пізня шкірна порфірія, ревматоїдні симптоми [53, 78, 122].

У патогенезі ураження печінки при HCV-інфекції розглядаються як прямий цитопатичний ефект вірусу, так і імунно опосередковане пошкодження гепатоцитів, що реалізується не лише в цитотоксичній дії



лімфоцитів на інфіковані клітини-мішені, але і в розвитку перехресних аутоімунних реакцій вірусу та гепатоцитів [1, 20, 47]. Особливістю запальної інфільтрації при хронічній HCV- інфекції є наявність в порталних трактах і навколо вогнищ ураження та загибелі гепатоцитів переважають лімфоцити, що відображає участь імунної системи в патогенезі ураження печінки. Позапечінкові ураження, обумовлені іммунопатологічними реакціями імунокомпетентних клітин, які реалізуються або імуноклітинними (гранулематозом, лімфомакрофагальними інфільтратами), або імунокомплексними реакціями (васкулітами різної локалізації) [50, 86, 122].

Захист організму від вірусної інфекції включає послідовну взаємодію з прониклим збудником факторів вродженого і набутого імунітету, які складають єдиний функціональний комплекс. Серед факторів вродженого імунітету основну роль в елімінації вірусів відіграють дендритні клітини, макрофаги, натуральні кілери, інтерферони та інші цитокіни, а серед факторів набутого імунітету – субпопуляції специфічних Т- і В-клітин і специфічних антитіл – імуноглобулінів (Ig) [1, 27, 50, 86]. HCV розвинув багато чисельні стратегії уникнення і вродженої, і набутої імунної відповіді.

Реакція імунної системи при ГС має низку характерних рис. Насамперед, привертає увагу неефективність гуморального ланки. Антитіла до антигенів HCV з'являються досить пізно, циркулюють у низьких титрах та практично позбавлені віруснейтралізуючих властивостей. Слабка вираженість гуморальної відповіді пов'язана, мабуть, з вкрай низькою імуногенністю ВГС [14, 36, 73, 115].

Після інфікування, відповідь хазяїна на ВГС ініціюється гепатоцитами; стимуляція рецепторів розпізнавання, включаючи Toll-подібні рептори (TLRs) та RIG-I-подібні рецептори (RLRs) індукує продукцію інтерферон (ІНФ) 1 типу. Секретовані інтерферони викликають противірусний стан, який поширюється на неінфіковані сусідні клітини. Механізми, які застосовуються ВГС для уникнення вродженої імунної відповіді були висвітлені після відкриття рецепторів для патоген-асоційованих молекулярних патернів,

таких як TLRs і RLRs. Швидке розпізнавання патогенів такими рецепторами забезпечує необхідний бар'єр для проліферації мікроорганізмів [36, 47, 83, 111, 123].

У той же час Т-клітинної імунної відповіді відводиться одна з важливих ролей у патогенезі ураження печінки, клінічному перебігу та наслідках при HCV-інфекції. В даний час встановлено, що характер імунної відповіді безпосередньо залежить від переважної участі Т-хелперів 1 типу (Th1), або Т-хелперів 2 типу (Th2). Активація перших викликає продукцію ІФН- $\gamma$ , ІЛ-2 та ФНП- $\alpha$ , які відіграють провідну роль у розвитку імунної відповіді за клітинним типом. У свою чергу, другі секретують ІЛ-4, 5, 6, 9, 10, 13, що стимулюють головним чином гуморальну ланку імунітету. Так, переважання цитокінів Th2 асоціюється з тривалою персистенцією вірусу та хронізацією інфекційного процесу, тоді як одужання при ВГС поєднується з переважною участю цитокінів Th1 [20, 51, 79, 86, 126, 135]. Крім того, ВГС здатний самостійно пригнічувати хелперну та цитотоксичну активність Т-лімфоцитів, стимулюючи ряд пептидів, що є функціональними антагоністами Т-лімфоцитарних рецепторів. Виникаюча при цьому Т-клітинна анергія сприяє хронізації гепатиту С. Також вивчається можливість пригнічення клітинної ланки імунітету з боку HCV шляхом запуску апоптозу вірусспецифічних Т-клітин [83, 86, 120, 134].

### **1.3. Характеристика родини Толл-подібних рецепторів.**

Останнім часом при дослідженні вродженого неспецифічного імунітету були зроблені неймовірні відкриття, що допоможуть пояснити вроджену резистентність організмів до інфекційних захворювань, а саме у 1996 році Ж. Хоффман виявив, що білок Toll у дрозофіли відіграє важливу роль у неспецифічній резистентності – захищає мушку від грибкових інфекцій. При подальших дослідженнях у ссавців, тому числі у людини були виявлені білки зиподібною функцією, які отримали назву Toll-like (Toll-подібні) рецептори (TLR). У 1997 році Р. Меджитов и Ch. Janeway визначили у миші толл-

подібний гомологічний ген (тепер він має назву TLR4), лігандом для якого є ліпополісахарид (LPS). Вони помітили, що активна форма TLR4 була здатна стимулювати NF $\kappa$ B та NF $\kappa$ B-залежні запальні гени, а також що TLR4 індукує експресію CD80 [62, 65, 66, 91].

Родина Толл-подібних рецепторів – типові трансмембранні білки I-го типу. TLRs характеризуються наявністю трьох доменів: позаклітинного, трансмембранного, і цитоплазматичного, що містить консервативну ділянку, яка має високу спорідненість до рецепторів IL-1, тому отримала назву Toll/IL-1 рецепторний (TIR) домен. Вперше структуру позаклітинного домену було з'ясовано для TLR3 [71, 92, 93]. Рентгеноструктурний аналіз показав, що ектодомен являє собою підковоподібну структуру, що включає в себе лейцин-багаті повтори (LRR, leucine-rich repeats), ліганд-зв'язуючий сайт, C- та N- кінці [71, 91, 97, 104]. TLRs переважно експресуються в тканинах, що задіяні в імунних процесах, таких як селезінка, лейкоцити периферичної крові, дендритні клітини, а також тканинах, що контактують з навколишнім середовищем - тканинах легень, шлунково-кишкового тракту [94, 103, 109].

На сьогодні у людини виявлено 10 толл-подібних рецепторів (TLR1 – TLR10), що продукуються різними клітинами та зв'язують різні ліганди. Клітинна локалізація цих рецепторів має важливі вплив на доступність ліганда і також може вплинути на подальші ланки сигналізації. TLRs, що приймають участь в розпізнаванні нуклеїнових кислот (TLR3, TLR7, TLR8 і TLR9) знаходяться у ендосомах, тоді як інші члени родини TLR (TLR1, TLR2, TLR4, TLR5 та TLR6) знаходяться на поверхні клітин [91, 92]. TLRs – еволюційно консервативні рецептори, гомологи Toll-протеїну *Drosophila*, функція якого полягає в захисті проти мікробних (бактеріальних) інфекцій [97, 119]. TLRs розпізнають високо консервативні структурні мотиви, відомі як PAMPs, що властиві виключно мікробним патогенам, а також DAMPs, що являють собою ендogenous молекули, які вивільняються внаслідок пошкодження клітин та підчас апоптичних та некротичних процесів [94, 112, 116, 119]. PAMPs включають різноманітні компоненти бактеріальної

клітинної стінки, такі як ліпополісахариди (LPS), пептидоглікан і ліпопептиди, а також флагелін та бактеріальні і вірусні нуклеїнові кислоти[93, 94]. DAMPs представлені внутрішньоклітинними білками, такими як білки теплового шоку, а також білкові фрагменти позаклітинного матриксу[65, 66, 103, 125].

Можливість реагувати з різноманітними лігандами, здійснюється за рахунок формування гетеродимерів (наприклад, TLR1 асоціюється з TLR2 та TLR6), а також шляхом асоціації білків родини TLR з білками інших родин (наприклад, TLR4 впізнає LPS в асоціації з білками MD2 та CD14) [97, 126].

Сигналінг TLRs призводить до різноманітних клітинних відповідей, включаючи продукцію інтерферонів, прозапальних цитокінів, хемокінів, та ефекторних цитокінів, що направляють відповідь адаптивного імунітету [91].

#### **Характеристика TLR4.**

TLR4 являє собою трансмембранний білок I-го типу, та має 2 ізоформи - довжиною 839 і 799 амінокислотних залишків відповідно [62, 91, 92, 119]. Складається з 3-х доменів: довгого позаклітинного та коротких трансмембранного і внутрішньоклітинного. TLR4 локалізований на цитоплазматичній мембрані клітин селезінки, лейкоцитів периферичної крові, дендритних клітини, а також клітин тих тканин, що контактують з навколишнім середовищем - тканинах легень, шлунково-кишкового тракту [71, 115, 127].

Сигналізація TLR4 здійснює сигналізацію шляхом утворення мультирецепторного комплексу, до якого входять CD14, MD-2 та LBP (LPS binding protein, ЛПС-зв'язуючий протеїн). LBP плазми крові зв'язується з LPS, цей комплекс упізнається CD14 і зв'язується з ним, що призводить до формування гетеродимеру TLR4- MD-2, що розпізнає молекулярний паттерн, консервативний для структурно різноманітних LPS. Зв'язування LPS з гетеродимером TLR4-MD-2 призводить до утворення рецепторного мультимеру, що складається з двох симетрично розташованих копій TLR4-MD-2- LPS [91, 92, 104, 116]. Далі розпочинається сигнальна трансдукція

TRIF-залежним або MyD88-залежним шляхом. Передача сигналу TLR складається з двох різних шляхів: MyD88-залежного шляху, що призводить до утворення запальних цитокінів та MyD88-незалежного шляху, пов'язаного зі стимуляцією IFN- $\beta$  та дозріванням дендритних клітин. MyD88-залежний шлях є спільним для всіх TLRs, за виключенням TLR3. TLR4 унікальний тим, що він використовує обидва шляхи послідовно[65, 97, 112, 125].

Ген *TLR4* знаходиться в регіоні 9q33.1 і складає 13,3 т.п.н. у довжину, має 4 екзони, 3 інтрони, 3' і 5' UTRs та 4 альтернативні транскрипти (сплайс-варіанти). З них лише 2 довжиною 4844 і 3908 пар нуклеотидів кодують білки (839 та 799 амінокислот відповідно), а два інші сплайс-варіанти (2741 і 539 пар нуклеотидів) не мають відкритих рамок зчитування[92, 93, 94].

*TLR4* – ген вродженого захисту, що найбільш активно транскрибується в плаценті, селезінці та лейкоцитах перефіричної крові, а також в моноцитах, макрофагах, дендритних клітинах та деяких типах Т-клітин [135]. Він також експресується в ендотеліальних клітинах, епітелії бронхів, легень, тонкого кишечника та інших тканинах, що контактують із зовнішнім середовищем [119, 127].

На разі відомо 688 поліморфних варіантів, з яких більша частина припадає на 3'UTR. Є два добре вивчені поліморфізми, що ведуть до амінокислотних замін (Asp299Gly та Thr399Ile в третьому екзоні, [66]) і можуть бути асоційовані з ревматоїдним артритом, астмою та іншими мультифакторними патологіями [71, 91, 109]. Мононуклеотидна заміна +3725 розташована між першим і другим AREs, що впливає на стабільність мРНК, і відповідно, на кількість продукту [97]. Отже, дана мононуклеотидна заміна може мати вплив на перебіг мультифакторних процесів, пов'язаних зі здійсненням імунної відповіді (наприклад, бактеріальні інфекції, процесах, пов'язаних з пересадкою органів, онкологічних процесах, вагітності).

Shibuya, et al. показали, що вісім поліморфних варіантів *TLR4*, що знаходяться в одному гаплотипі, асоційовані з ризиком виникнення глаукоми з нормальним тиском. Припускається, що деякі ліганди TLR4, такі як білки

теплого шоку, і цитокіни, що індукуються рецептором, відіграють важливу роль в розвитку глаукоми з нормальним тиском [127].

Показано що мутантний алель поліморфного варіанту rs2149356 знижує ризик виникнення гепатоцелюлярної карциноми у пацієнтів, хворих на гепатит С [115].

Поліморфізм rs11536889 асоційований з тяжкою атрофією шлунку у пацієнтів, хворих на хелікобактерний гастрит, в Японській популяції [126].

Поліморфний варіант *TLR4* +896A/G асоційований з ризиком виникнення раку шлунку [125].

Оскільки *TLR4* відіграє визначальну роль в здійсненні відповіді на широкий спектр ендо- та екзогенних молекул, за його участю протікають різноманітні фізіологічні та патофізіологічні процеси. Так, показано його асоціацію з розвитком таких мультифакторних станів, як розвиток запалення мозку, викликаного внутрішньомозковим крововиливом, слабкій відповіді на ендотоксини, що потрапили з повітрям, розвитку запального та невропатичного болю, запалення після ішемічного інсульту, відторгнення трансплантату, септичних процесах, розвитку пост-травматичного шоку та інших процесах [16, 71, 112, 119, 135].

Розвиток природної імунної відповіді на проникнення ВГС тісно пов'язаний з функцією моноцитоїдних і -плазмоцитоїдних дендритних клітин, що отримують сигнали від Toll-подібних рецепторів (*TLR*). Взаємодія між HCV і *TLR4* створює достатньо сильний комплекс: ВГС може безпосередньо індукувати експресію *TLR4*, а також втрату толерантності до *TLR* лігандів моноцитів / макрофагів. Крім того, сигнали *TLR4* можуть регулювати реплікацію HCV. Дослідження показали, що *TLR4* може стимулюватися HCV NS5A неструктурним білком і тим самим призводити до секреції IFN, та IL-6 в гепатоцитах і В-клітинах [16, 86, 135]. Активація *TLR2* і *TLR4* сигналів в гепатоцитах призводить до посилення активності прозапальних цитокінів та хемокінів а також збільшення запальних клітин в печінці [98, 103, 112]. Відомо, що у ВГС- інфікованих пацієнтів рівень *TLR*-

індукції ІФН I типу - ІФН-альфа і ІФН-бета, а також фактора некрозу пухлин (ФНП-альфа) дендритними клітинами набагато нижче, ніж у здорових людей. Слід зазначити, що існують данні про вплив гену TLR4 на ризик розвитку фіброзу печінки у пацієнтів з хронічним ВГС.

#### **1.4. Патогенетичні особливості фіброгенезу при хронічному гепатиті С**

Дотепер не описані чіткі механізми, що сприяють хронізації вірусного гепатиту С, але серед найбільш ймовірніших виділяють генетично детерміновані чинники, що здатні індукувати імунну відповідь на вірус [40, 49, 110, 133].

Темпи прогресування ХГС можуть бути різними. Статистичні дані показують, що середня тривалість прогресування хронічного гепатиту С від початкового фіброзу до розвитку цирозу печінки становить близько 30 років залежно від статі та віку на момент інфікування. Доведено, що ризик розвитку цирозу печінки (при спостереженні протягом 20 років) був значно вищий у пацієнтів інфікованих після 50 років та становив 63 % у той час як у осіб інфікованих до 20 років такий ризик був усього 2 % [13, 35, 52, 85, 124].

Доведено, що на природний перебіг інфекційного процесу HCV негативно впливає ряд факторів господаря, зокрема чоловіча стать та зрілий вік, ожиріння, стеатоз печінки, інсулінорезистентність, важкий фіброз та цироз печінки, супутня патологія, рання менопауза, також важливими є фактори з боку вірусу (генотип, вірусне навантаження, антигенна мінливість) та фактори середовища (вживання алкоголю та тютюнопаління) [96, 107, 110, 13].

Фіброз печінки (ФП) – універсальний патофізіологічний процес, що розвивається у відповідь на пошкодження печінки та характеризується надлишковим відкладенням екстрацелюлярного матриксу (ЕЦМ) в наслідок збільшення синтезу його компонентів і зменшення швидкості їх руйнування [6, 23, 34, 74].

В основі формування фіброзу лежить порушення балансу між процесами синтезу і розпаду екстрацелюлярного матриксу (ЕЦМ). При фіброзі печінки збільшується кількість ЕЦМ та змінюється його будова (переважно наростає вміст колагену I, III, IV, V, VI типів, ламініну, еластину, фібронектину, гіалуронової кислоти та протеогліканів) [34, 35, 49, 82, 85]. Відбувається гістологічна перебудова з відкладанням матриксу переважно в перивенулярній зоні з ацинусів в просторі Діссе та призводить до утворення колагенової мембрани у внутрішньодолькових венозних капілярах, що обумовлює порушення процесів обміну між кров'ю, яка поступає через систему ворітної вени до гепатоцитів та призводить до виникнення гіпоксії і втягнення останніх в процес фіброгенезу [39, 46, 48, 67, 124, 132].

Основними фіброгенними клітинами є зірчасті клітини печінки (ЗКП). ЗКП (клітини Іто, перисинусоїдальні клітини, ліпоцити чи жирозапасаючі клітини) в нормальних умовах перебувають в стані спокою і являють собою депо ретиноїдів, секретують протизапальний цитокін інтерлейкін-10, що знижує рівень активності клітин Купфера [28]. В здоровій печінці їх міститься близько 5-8% від загальної кількості клітин печінки [32]. Саме активація ЗКП є основним механізмом запуску фіброгенезу. ВГС здатний безпосередньо контактувати із зірчастими клітинами печінки, стимулюючи їх проліферацію та вироблення ними прозапальних цитокінів [110]. У хворих на вірусний гепатит С також була виявлена експресія TGF-бета1, який виробляється ЗКП та може мати подвійний вплив на прогресування хвороб печінки, потенціюючи фіброгенез і знищуючи гепатоцити шляхом апоптозу за допомогою FAS-опосередкованого механізму [82, 133]. Цей імунopatологічний процес сприяє підтримці постійного пошкодження гепатоцитів, отже, і прогресуванню фіброзу.

На сьогодні існує значна кількість досліджень, що спрямовані на вивчення впливу різноманітних генетичних факторів на швидкість прогресування фіброзу печінки.



Відомо, що через ураження порталльної системи запускаються сигнальні шляхи, які активують TLR4. Порушення бар'єрної функції призводить до збільшення бактеріальної транслокації внаслідок чого бактеріальні продукти, включаючи липополисахарида (ЛПС), активують зірчасті клітини печінки через Toll-подібні рецептори. Активація TLR4 через зв'язування ЛПС ініціює численні сигнальні каскади, які досягають вищої точки в активації факторів транскрипції NF- $\kappa$ B і AP-1 і виробленні запальних цитокінів хемокінів та імунних медіаторів. Ця активація сенсibiliзує ЗКП до впливу трансформуючого фактору росту TGF-бета, який призводить до активації HSC і збільшенню утворення позаклітинного матриксу/колагену, в результаті виникає посилення фіброзоуворення в печінки [64, 82, 124, 135].

Оцінити фіброз печінки можна декількома методами діагностики: біопсією печінки, виконаної в рамках останньої каріометрії [40], еластографії, УЗД в режимі 3D+PD (трьохвимірна візуалізація + доплеровський режим) [64, 67], серологічними маркерами фіброзу. До останніх належать колаген I, III, IV типів, проколаген III, гіалуронова кислота, ламінін та його фрагменти, аполіпопротеїн A,  $\alpha$ 2-макроглобулін, гаптоглобін, YKL-40, металопротеїнази (ММП-2 та інш), тканьові інгібітори металопротеїназ, цитокіни (TNF $\alpha$ , TGF $\alpha$ , ИЛ-1, ИЛ-6), показники залізоіндукованої хемолюмінісценції [13, 23, 32, 54, 132].

На сучасному етапі розвитку діагностичних дослідженні в гепатології поступово відмовляються від традиційного «золотого стандарту» визначення фіброзу печінки - гістологічного методу дослідження тканини печінки, отриманої в результаті біопсії. Гістологічне визначення стадії фіброзу ґрунтується на оцінці кількох гістологічних ознак, включаючи оцінку ступеня розростань сполучної тканини всередині печінкових часточок та зміни архітекtonіки печінки. Ці параметри інтегровані в напівкількісну бальну систему. Серед систем класифікації морфологічних змін, що описують гістологічну активність хронічного гепатиту та ступінь фіброзу, найбільш відомі класифікація запропонована R.G. Knodell (1981), K.Ishak та

співавторами (1995), METAVIR (1996) та індекс гістологічної активності вірусних гепатитів В та С, запропонований В.В. Серовим (1996) [46, 85, 107]. Однак, враховуючи ряд обмежень щодо проведення цієї процедури (інвазивний характер процедури, необхідність створення специфічних умов для проведення процедури, потенційний ризик розвитку ускладнень, брак кваліфікованих морфологів) виникає потреба у пошуку та використанні альтернативних методів оцінки фіброзу.

Еластографія печінки (Фіброскан) оцінює ступінь фіброзу печінки, на основі ультразвукового вимірювання еластичності печінки. Система складається з ультразвукового перетворювача з зондом вібрації, який розміщується вздовж міжреберних проміжків і посилає хвилі з низькою та з помірною амплітудою (50 Гц) у праву частку печінки. Вібрація викликає хвилю, що поширюється через тканину печінки, її швидкість корелює з жорсткістю тканини печінки і, отже, ступенем фіброзу. Чим жорсткіша тканина, тим швидше поширюється хвиля пружного зсуву. Значення записуються в кілопаскалях (кПа). Діагностичний показник встановлюється як середнє значення із десяти дійсних вимірів [28, 46, 48, 74].

Технічними обмеженнями щодо використання методу еластографії є асцит (хвилі не поширюються через рідину), абдомінальне ожиріння, вузькі міжреберні проміжки (неможливо правильно встановити датчик). На теперішній час нові еластографічні датчики здатні проникати крізь досить масивний шар жиру, що дозволяє обстежувати й пацієнтів з ожирінням. Сучасні дослідження показали досить високу достовірність результатів одержаних за допомогою еластометрії печінки [46, 48, 133]. Однак відомо, що діагностична значимість методу знижується при низьких стадіях фіброзу (F-1, F-2 по METAVIR), на відміну від більш прогресуючих стадій фіброзу (F-3, F-4 по METAVIR) [35, 39, 107, 52, 64, 133].

Останім часом проводиться все більше досліджень, спрямованих на пошук нових високочутливих та специфічних методів лабораторної

неінвазивної діагностики фіброзу печінки. Більшість авторів біомаркери фіброзу умовно поділяють на прямі та непрямі.

Непрямі сироваткові маркери - це молекули, які вивільняються в кров через запальний процес, що протікає в печінці, однак не обов'язково відображають зміни у клітинному матриксі або у профіброзних клітинах. До них належать амінотрансферази (АЛТ і АСТ), молекули, синтезовані, регульовані або секретовані печінкою (гаптоглобін, аполіпопротеїн А1, феритин, альфа-2-макроглобулін (А2М), гаммаглутамілтранспептидаза), фактори згортання крові, кількість тромбоцитів, холестерин та білірубін [6].

Розроблено різні шкали, які враховують різні клітинні та біохімічні параметри, що опосередковано свідчать про інтенсивність фіброзоутворення в печінці. Найбільш поширені з них це APRI (оцінку параметрів АСТ та тромбоцитів), AAR (визначає співвідношення рівнів АЛТ до АСТ), індекс FIB-4 (включає оцінку наступних параметрів: АЛТ, АСТ, тромбоцитів і віку пацієнтів) [34, 39, 49, 96]. Тест Forns був створений Xavier Forns на основі обстеження 476 пацієнтів із ХГС, яким проводилася біопсія печінки. У розрахунку Forns використовуються такі параметри, як холестерин, тромбоцити, вік, ГГТ. [82, 133].

Тести Fibrotest та Fibrosure показали чутливість та специфічність при виявленні вираженого фіброзу 75% та 85% відповідно. Вони включають такі значення як вік, стать пацієнта, результати сироваткового гаптоглобіну, альфа-2-макроглобуліну, аполіпопротеїну А1, ГГТП та білірубину [110, 133].

Тест Fibrometer поєднує в собі показники загального білка крові, рівень ППТ, активність АСТ, концентрацію гамма-2-макроглобуліну, азоту сечовини та віку пацієнта [107, 48, 49].

Для прямої неінвазивної діагностики ФП розглядається можливість використання медіаторів фіброгенезу та компонентів екстрацелюлярного матриксу, які виявляються у сироватці крові (колаген, гіалуронова кислота, цитокіни ін.). Істотним недоліком цих методик на даний момент служить недостатня специфічність до механізмів фіброгенезу в печінці, оскільки ці

показники можуть відображати аналогічний процес будь-якої локалізації (фіброз підшлункової залози, легенів і т. д.) [67, 85].

Отож наявні інвазивні та неінвазивні методи дозволяють з високою точністю визначити стадію захворювання, тобто ступінь виразності фіброзу на момент дослідження, але не дають достовірних відомостей про ймовірність його прогресії, а деякі дослідники вказують на низьку діагностичну цінність більшості окремо взятих неінвазивних методів визначення активності та стадії ХГС, а для збільшення діагностичної цінності передбачають використання кількох неінвазивних методів [52, 54, 67].

### **1.5. Особливості сучасної противірусної терапії хронічного гепатиту С**

Вірусні гепатити є глобальною проблемою людства, що щороку забирає мільйони життів. Швидкі темпи поширення, переважний латентний перебіг, високий ступінь хронізації, частий розвиток ускладнень, відсутність специфічної імунoproфілактики, високовартісне лікування – все це спонукає до пошуку нових шляхів вирішення проблеми вірусного гепатиту С (ВГС). У червні 2016 року Всесвітньою організацією охорони здоров'я була розроблена стратегія щодо ліквідації вірусних гепатитів до 2030 року оптимістичними цілями якої було зниження рівня захворюваності на 30% до 2020 року та на 90% до 2030 року, також зниження рівня смертності на 65%, підвищити рівень діагностики на 90% та забезпечити 80% пацієнтів з ХГС необхідним противірусним лікуванням до 2030 року. Єдиним методом, здатним зупинити прогресування захворювання, розвиток гепатоцелюлярної карциноми і смерть, вважається ПВТ [70, 99, 129, 136].

Кінцевою точкою терапії хворих на ХГС вважається досягнення стійкої вірусологічної відповіді (СВВ) в результаті ПВТ, що для 99% випадків асоціюється з можливістю повної елімінації вірусу [69, 70]. Велике прогностичне значення в лікуванні ВГС має відповідь організму пацієнта на противірусне лікування. Практичне значення має рівень РНК вірусу

гепатиту С у певні строки від початку лікування залежно від генотипу збудника. Зниження кількості РНК-НСV в сироватці крові до кінця 4-го тижня лікування до рівня, що нижчий порога чутливості методу вважають швидкою вірусологічною відповіддю (ШВВ). СВВ вважається досягнутою при відсутності РНК-НСV через 12 (СВВ - 12) або 24 (СВВ - 24) тижні після завершення курсу лікування [69]. Отже золотим стандартом в оцінці ефективності протівірусного лікування ХГС є СВВ. У зв'язку з цим цікавими є дані 18-річного спостереження за вибіркою НСV-інфікованих пацієнтів, які отримали монотерапію стандартним інтерфероном та досягли СВВ. За результатами цього дослідження через 18 років після завершення терапії у цих пацієнтів РНК НСV не визначалася у всіх зразках сироватки крові та мононуклеарів. Вона виявлялася лише в тканині печінки у 2 із 114 осіб (1,7%). Регресія фіброзу спостерігалася у 88% хворих, а прогресія фіброзу (12%) асоціювалася тільки з супутньою жировою хворобою печінки. Біохімічні показники були у межах норми у 94% пацієнтів. Отже, було доведено, що СВВ є тривалою та асоціюється з елімінацією НСV-інфекції [102, 136].

Лікування хронічного гепатиту С в Україні здійснюється згідно уніфікованого клінічного протоколу первинної, вторинної (спеціалізованої), третинної (високоспеціалізованої) медичної допомоги "Вірусний гепатит С у дорослих" N 729 від 18 липня 2016 року.

До 2014 року «золотим стандартом» протівірусної терапії була комбінація пегільованих інтерферонів (пег-ІНФ) та рибавіріну [70]. Проте, така терапія давала велику кількість побічних реакцій та була не достатньо ефективною, залежно від генотипу її ефективність коливалась в межах 40-80%.

Проривом у лікуванні хворих на ХГС стала активна розробка препаратів з прямою протівірусною дією, багато з яких знаходяться на різних стадіях клінічних випробувань. Принципово препарати з прямою протівірусною дією поділяють на інгібітори протеази ВГС (тілапревір,

боцепревір та семипревір, паритапревір/ритонавір, совапревір) інгібітори NS5A реплікаційного комплексу (ледіпасвір, омбітасвір, елбасвір, саматасвір); ненуклеозидні інгібітори ns5B (дасабувір, беклабувір, ТМС-055/ритонавір) та нуклеозидні інгібітори РНК-залежної РНК-полімерази ВГС (софосбувір). Різні комбінації цих препаратів дозволяють досягати СВВ більш ніж у 90% хворих на ХГС незалежно від генотипу ВГС, попереднього досвіду лікування та стадії захворювання, при цьому практично відсутні будь-які небажані явища, а тривалість терапії може скоротитися до 8–12 тижнів [102].

Так, за результатами 3-ї фази досліджень ION-1 (865 нелікованих пацієнтів), ION-2 (440 пацієнтів, що отримували терапію раніше) і ION-3 (647 нелікованих пацієнтів без цирозу) комбінація софосбувіра (400 мг на добу) і ледіпасвіру (90 мг на добу) у поєднанні з рибавірином та без нього (курс ПВТ 8, 12 або 24 тижні) призводила до формування СВВ у 97% хворих на ХГС (генотип 1), які вперше отримували противірусне лікування. Додавання рибавірину статистично значимо не збільшувало ефективність ПВТ. Хворі з ХГС на стадії F4, як вперше отримували лікування, так і з невдалим попереднім курсом ПВТ, на тлі софосбувіра та ледіпасвіру відповідали на ПВТ у 96–100% та 90–100% випадків відповідно [69, 88].

Johannes Vermehren et al. провели ретроспективний аналіз 3-ї фази клінічного дослідження з вивчення елімінації HCV (6 млн випадків) при використанні комбінації ледіпасвіру/софосбувіру для визначення можливості скорочення тривалості терапії з 12 до 8 тиж у наївних пацієнтів без цирозу з вихідним вірусним навантаженням < 6 млн МО/мл. Прихильність до 8-тижневої терапії виявилась вищою. У пацієнтів з вихідним рівнем вірусного навантаження >6 млн МО/мл, які отримували ПВТ протягом 8 тижнів досягли СВВ, тоді як у пацієнтів з рецидивом захворювання вихідний рівень вірусного навантаження був < 6 млн МО/мл, що вказує на те, що даний показник можна не враховувати в клінічній практиці.

Комбінація софосбувіру (400 мг на добу) з даклатасвіром (60 мг на добу) протягом 12-24 тижнів також призводила до СВВ у 95-100% пацієнтів з ХГС (генотип 1), які вперше отримували лікування [99, 102, 121].

Подібні результати були отримані у дослідженні COSMOS. Хворим на ХГС з генотипом 1 без цирозу, що не отримували раніше ПВТ при лікуванні софосбувіром (400 мг на добу) з симепревіром (150 мг на добу) протягом 12-24 тижнів була отримана СВВ у 92–95%. Ефективність даної схеми у наївних пацієнтів з цирозом склала 97–100%, а у пацієнтів, які мали неефективне попереднє лікування, – 80–100% [88, 121].

У мультицентровому проспективному обсерваційному дослідженні (SAT-229) вивчалися частота та предиктори невдачі ПВТ у хворих на ХГС з 1 генотипом, при застосуванні принаймні 2 ПППД. Була встановлена асоціація відсутності СВВ з наявністю цирозу печінки, індексом MELD>10, низьким вмістом альбуміну/тромбоцитів, високим рівнем загального білірубіну, чоловічою статтю та старшим віком.

У дослідженнях SAPPHIRE-I, PEARL III, IV вивчалася ефективність комбінації дасабувіру (250 мг 2 рази на добу), паритепревіру (150 мг на добу) підсиленого ритонавіром (100 мг на добу), у наївних пацієнтів з ХГС генотипом 1 а також серед тих хто не відповіли на попередній курс лікування. Частота досягнення СВВ у нелікованих хворих (незалежно від стадії фіброзу) була 96–98%. А частота СВВ у пацієнтів з невдалим попереднім лікуванням та цирозом печінки варіювала залежно від тривалості ПВТ: при 12 тижнях лікування ефективність склала 91,8%, при 24 тижнях терапії – 95,9% [70, 75].

У рандомізованих дослідженнях FISSION, POSITRON, VALENCE і FUSION визначалась ефективність застосування комбінації софосбувір/рибавірин протягом 12-24 тижнів у хворих на ХГС з 2-м та 3-м генотипами з цирозом або без, які не отримували лікування раніше або не досягли СВВ при попередній терапії. Результати усіх досліджень мали подібні кінцеві точки: СВВ через 12 тижнів після закінчення терапії. У

дослідженні FISSION серед пацієнтів з 2 генотипом 97% пацієнтів на комбінації софосбувір/рибавірин досягли СВВ, порівняно з 78% пацієнтів з Peg-INF/RBV; результати для пацієнтів з генотипом 3 склали 56% проти 63% для софосбувір/рибавірин і Peg-INF/RBV відповідно. У FUSION пацієнти, які отримували 16-тижневу схему лікування софосбувір/рибавірин, мали статистично достовірно більшу частку пацієнтів із СВВ, ніж ті, які отримували коротший 12-тижневий режим лікування софосбувір/рибавірин. У підгрупах частка респондентів з СВВ у генотипі 3 становила 62% при 16-тижневому режимі та 31% при 12-тижневому режимі. У пацієнтів з генотипом 2 частка респондентів з СВВ становила 94% при 16-тижневому режимі та 86% при 12-тижневому режимі. У дослідженні VALENCE частка пацієнтів із СВВ становила 93% для пацієнтів з генотипом 2, а для хворих з 3-м генотипом HCV необхідно збільшити тривалість ПВТ софосбувіром та рибавірином до 24 тижнів (СВВ у пацієнтів, які вперше отримують лікування, становить 92–95% відповідно на F1–3 та F4, а у пацієнтів з будь-яким варіантом попереднього невдалого лікування - 62-87% відповідно на F1-3 та F4). Для цих пацієнтів також можлива комбінація даклатасвіру (60 мг на добу) та софозбувіру протягом 12 тижнів на стадіях F1–3 та 24 тижнів на циротичній стадії (дослідження ALLY-3). Частота СВВ становить 58-97% залежно від відповіді на попереднє лікування та стадії захворювання [121, 129, 136].

На результати лікування гепатиту С впливають різні фактори. Найбільш важливе значення мають особливості вірусної інфекції, насамперед генотип вірусу і рівень HCV-РНК в крові. Високе вірусне навантаження знижує частоту стійкої вірусологічної відповіді.

Індивідуальні особливості пацієнта також впливають на результат лікування (вірусологічну відповідь): стать, вік, маса тіла і інсулінорезистентність, ступінь вираженості фіброзу, інтерлейкін 28В, обмін заліза (перевантаження залізом) і ін.



Очевидно, що лікування ХГС має здійснюватися з урахуванням стану імунної системи на певній стадії хвороби, при подальшому призначенні вузьконаправленої терапії на певні імунокомпетентні клітини.

Глибоке розуміння патогенезу ХГС і ролі окремих клітин імунної системи в цьому процесі дозволить істотно поліпшити терапію ХГС і наблизитися до індивідуального лікувального підходу [56].

### **Резюме.**

На сучасному етапі епідемічний процес при вірусному гепатиті С характеризується зниженням частоти виявлення гострих форм, збільшенням первинної захворюваності на хронічний гепатит С, зростанням кількості поєднаних форм, змінами у віковій структурі хворих та структурі переважних шляхів передачі, зростанням кількості осіб з наявними антитілами до ВГС, а також збільшенням кількості смертельних випадків від захворювань печінки пов'язаних з ВГС.

В наслідок відсутності ефективної системи епідеміологічного нагляду, недостатнього рівня діагностики та лікування пацієнтів з ВГС питання дійсної інтенсивності епідемічного процесу гепатиту С в Україні стоїть надзвичайно гостро та потребує подальшого вивчення.

В патогенезі ХГС відіграють важливу роль ряд факторів, які впливають на вірогідність елімінації вірусу гепатиту С, особливості перебігу захворювання, темпи прогресування ХГС та його наслідки. Серед них виділяють характеристики зовнішнього середовища, вірусу та макроорганізму. Вже доведений вплив на процеси фіброгенезу таких факторів, як зловживання алкоголем, вік на момент інфікування, чоловіча стать, наявність HBV/HCV та HIV/HCV ко-інфекцій, цукровий діабет, відсутність відповіді на противірусну терапію. Роль інших факторів, в особливості генетичних, активно вивчається науковцями.

Відсутність специфічної імунопрофілактики; побічні ефекти та стійкість до лікування, яке є високовартісним – все це диктує необхідність

пошуку нових шляхів оптимізації лікування хворих на хронічний гепатит С (ХГС).

Перебіг інфекційного процесу і його наслідки в більшій мірі залежить від факторів вродженого і адаптивного імунітету, що вказує на можливість проведення прицільної імунотропної терапії ХГС. У зв'язку з цим проблема пошуку невідомих мішеней серед імунокомпетентних клітин для терапевтичного впливу при ХГС є надзвичайно актуальною.

## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

#### **2.1. Комплексна клінічна характеристика хворих на хронічний гепатит С та осіб контрольної групи.**

Дисертаційне дослідження виконувалось на клінічній базі кафедри інфекційних хвороб з курсом епідеміології Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова (завідуюча кафедрою д. мед. н., професор Мороз Л. В.), у Рівненському обласному лікувально-діагностичному гепатологічному центрі (завідуюча центром к. мед. н. Мартинюк Г. А.), Українському лікувально-діагностичному центрі (директор Дорохов І. М.) та у лабораторії геноміки людини Інституту молекулярної біології і генетики НАНУ (завідуюча лабораторією д. біол. н., професор Лівшиць Л. А.).

Дизайн дослідження: ретроспективне та проспективне когортне дослідження а також випадок-контроль.

Для досягнення визначених у роботі мети та завдань нами було проведено комплексне клініко-лабораторне обстеження 131 пацієнта з хронічним гепатитом С, що проходили стаціонарне лікування у Рівненському обласному лікувально-діагностичному гепатологічному центрі (РОЛДГЦ) протягом 2016 - 2018 років. Також ми провели ретроспективний аналіз карт пацієнтів з хронічним гепатитом С, які перебувають під диспансерним спостереженням у РОЛДГЦ та форм річних звітів за період 2015 – 2019 років. Для створення групи порівняння було обстежено 48 практично здорових осіб. Усі обстеженні погодились на проведення усіх діагностичних процедур та власноруч підписали інформовану згоду на участь у дослідженні.

Нами були визначені основні критерії для включення у досліджувану групу:

- Письмова згода на участь у дослідженні
- Вік від 18 років
- Наявність підтвердженого хронічного гепатиту С

Критеріями не включення ми визначили:

- Вік менше 18 років
- Наявність RNA-HCV  $\leq$  6 місяців, або відсутність даного маркеру
- Наявність супутніх гострих та хронічних захворювань печінки
- Наявність ЦД
- Наявність аутоімунних захворювань
- Наявність ко-інфекції ВІЛ або інших вірусних гепатитів
- Зловживання алкоголем
- Декомпенсований цироз печінки на момент включення у дослідження

Пацієнтам було проведено комплексне клінічне обстеження, при якому визначалися наявність скарг, анамнез захворювання, анамнез життя, епідеміологічний анамнез, проводилось об'єктивне обстеження, комплексне лабораторне обстеження та ультразвукове дослідження. Всі отримані дані, результати лабораторного обстеження та інструментальних досліджень вносились до карти учасника дослідження.

В усіх включених у дослідження хворих наявність гепатиту С підтверджувалась виявленням в сироватці крові методом імуноферментного аналізу (ІФА) сумарних anti-HCV більше шістьох місяців, антитіл до структурних та неструктурних білків HCV: anti-HCV IgGcor, anti-HCV IgG NS3, anti-HCV IgG NS4, anti-HCV IgG NS5, RNA HCV кількісним методом полімеразно-ланцюгової реакції (ПЛР), визначенням генотипу HCV. Діагноз хронічного гепатиту С виставлявся згідно класифікації МКБ-10.

Тривалість інфікування ВГС розраховувалась на основі аналізу клініко-анамнестичних даних (перенесена жовтянична форма гострого гепатиту С в анамнезі, наявність оперативних втручань, дані за трансфузію крові та її компонентів до 1995 року, початок системного вживання ін'єкційних

наркотиків, дані про статевих партнерів), за відсутності анамнестичних даних початком захворювання вважалось перше виявлення антитіл до ВГС, що зафіксовано в амбулаторних картах).

Всі хворі на ХГС з генотипом 1b (n=111) отримували ПВТ, яка включала прийом софосбувіру у дозі 400мг у комбінації з ледіпасвіром у дозі 90мг на добу. Тривалість ПВТ при 1b генотипі ВГС складала 12-24 тижні: пацієнти без цирозу – 12 тижнів та 24 тижні – з цирозом печінки. Основним критерієм ефективності ПВТ вважали досягнення стійкої вірусологічної відповіді (СВВ). Оцінку вірусної кінетики в ході ПВТ проводили на 4, 12 (у пацієнтів без цирозу печінки) та 24 (у пацієнтів з цирозом печінки) тижнях ПВТ, а також через 24 тижні після її завершення.

Пацієнти, що включені до основної групи, були віком від 26 років до 72 років (середній вік  $43,8 \pm 0,84$ ), серед них чоловіків (n=83, 63,36%) було в 1,73 рази більше ніж жінок (n=48, 36,64%). Групу контролю склали особи віком від 20 років до 52 років (середній вік  $36,1 \pm 0,72$ ), серед них було 26 чоловіків (54,17%) та 22 жінки (45,83%) (рис.2.1).

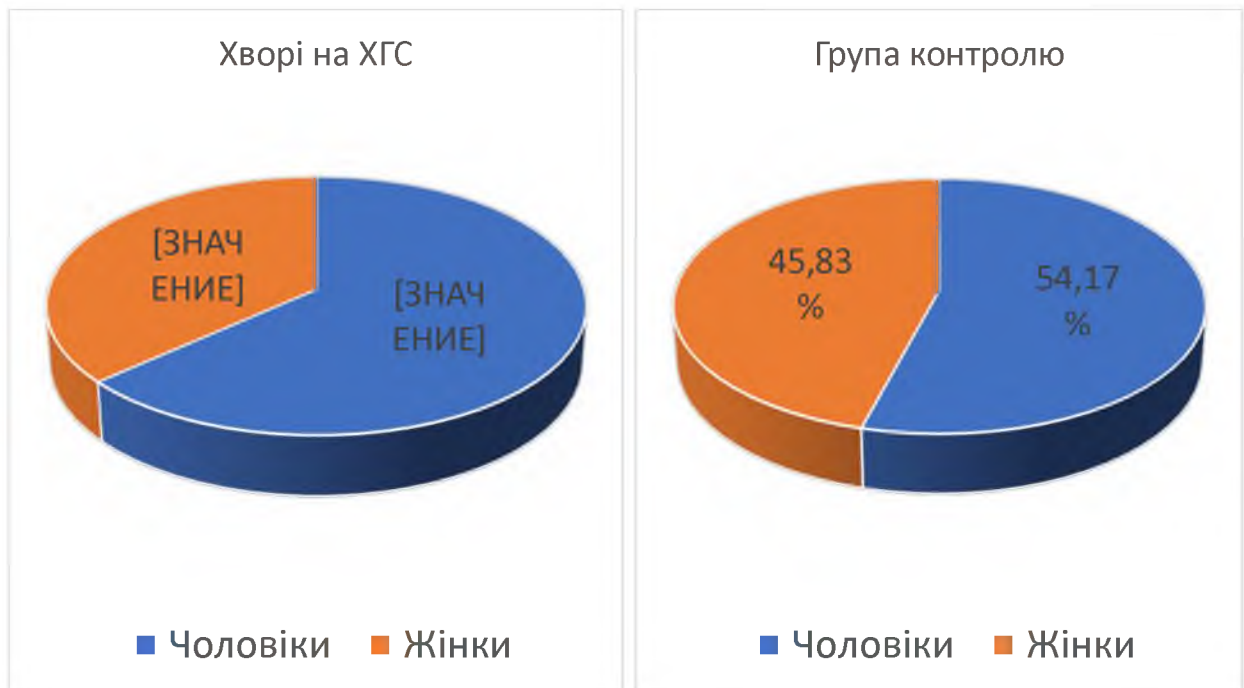


Рис. 2.1. Статева структура хворих з хронічним гепатитом С та групи порівняння.

За віком усі обстеженні були поділені на групи: 20-29 років, 30-39 років, 40-49 років, та групу 50 років та старше. Серед хворих з ХГС найбільше було осіб віком 30-39 років – 32 (32,99 %) (таблиця 2.1).

Таблиця 2.1 - Статеві-вікова характеристика пацієнтів з хронічним гепатитом С (n=131)

Стать/вік	20-29 років		30-39 років		40-49 років		≥50 років	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Чоловіки	15	78,95	33	62,26	21	75,00	14	45,16
Жінки	4	21,05	20	37,73	7	25,00	17	54,84

Згідно наших даних чоловіки переважали в усіх вікових групах окрім групи старше 50 років, де переважали жінки (54,84% та 45,16%, відповідно). Особливо помітною є статеві різниця у віковій групі 20-29 років, де частка чоловіків склала 78,95% (таблиця 2.1).

Серед осіб, що увійшли до групи контролю спостерігається рівномірний розподіл за статтю та віком, найбільше було обстежених у групі віком 40-49 років, де незначно переважали жінки (53,33%), в інших вікових групах дещо більше було чоловіків (таблиця 2.2).

Таблиця 2.2 - Статеві-вікова характеристика практично здорових осіб (n=48)

Стать/вік	20-29 років		30-39 років		40-49 років		≥50 років	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Чоловіки	8	61,54	6	54,55	7	46,47	5	55,56
Жінки	5	38,46	5	45,45	8	53,33	4	44,44

За ймовірною тривалістю захворювання пацієнти також були поділені на групи. За даними епіданамнезу, при урахуванні лабораторних та інструментальних показників було встановлено, що ВГС-інфекція тривала у обстежених хворих від 3 до 24 років, середня тривалість склала  $7,2 \pm 1,9$  роки (таблиця 2.3.).

Найбільша кількість хворих була рівномірно розділена між першими трьома групами 29 (22,14%), 32 (24,43%) та 37 (28,24%) в першій, другій та третій групах відповідно. Найменше хворих було з тривалістю інфікування  $>20$  років – лише 12 чоловік (9,28%). За статевою структурою в усіх групах переважали чоловіки (таблиця 2.3.).

Таблиця 2.3 - Розподіл пацієнтів з хронічним гепатитом С за передбачуваною тривалістю ВГС-інфекції (n=131)

Стать	Тривалість інфікування									
	до 5 років		6-10 років		11-15 років		16-20 років		>20 років	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Чоловіки	19	65,52	28	87,50	21	56,76	16	76,19	9	75,00
Жінки	10	34,48	14	12,50	16	43,24	5	23,81	3	25,00
Разом	29	22,14	32	24,43	37	28,24	21	16,03	12	9,16

При аналізі скарг та даних клінічного обстеження хворих з ХГС встановлено, що найчастіше зустрічалися прояви астено-вегетативного синдрому, який проявлявся загальною слабкістю (у 51,91% обстежених) підвищеною втомлюваністю після звичайних фізичних навантажень у 38,93% обстежених. Порушення сну та головний біль визначалися лише у 7,63% та 6,11% хворих відповідно. Диспепсичний синдром, найчастіше проявлявся у вигляді важкості у правому підребер'ї у 37 (28,24%) пацієнтів, зниження апетиту у 38 (29,01%) пацієнтів. Періодична нудота виникала лише у 8 (6,11%) хворих.

Таблиця 2.4 - Основні клінічні прояви у пацієнтів з хронічним гепатитом

С

Основні клінічні синдроми та симптоми		Хворі на ХГС (абс.)	Хворі на ХГС (%)
Астено- вегетативний синдром	Загальна слабкість	68	51,91
	Підвищена втомлюваність	51	38,93
	Порушення сну	10	7,63
	Головний біль	8	6,11
Диспепсичний синдром	Важкість у правому підребер'ї	37	28,24
	Зниження апетиту	38	29,01
	Періодична нудота	8	6,11
Холестатичний синдром	Гіркота в роті	24	18,32
	Субіктеричність склер та шкіри	9	6,67
	Свербіж шкіри	2	1,53
Геморагічний синдром	Кровоточивість ясен	19	14,51
	Носові кровотечі	8	6,11
	Кровотечі з ВРВС	3	2,29
Телеангіектазії		14	10,69
Збільшення печінки при пальпації		63	48,09
Болючість нижнього краю печінки при пальпації		34	25,95
Спленомегалія		30	22,9
ІМТ	< 25	76	58,01
	25 - 29	48	36,64
	>30	7	5,34



Холестатичний синдром найчастіше мав прояви у вигляді відчуття гіркоти в роті, на це скаржились 24 обстежених (18,32%). Субіктеричність склер та шкіри та свербіж шкіри було зареєстровано у 6,67% та 1,53 % хворих відповідно. Найменш вираженим серед обстежених був геморагічний синдром, на його прояви у вигляді кровоточивості ясен скаржилися 19 (14,45%) опитаних, періодичні носові кровотечі турбували 8 (6,11%) обстежених та 3 (2,29%) хворих відмічали в анамнезі кровотечі з варикозно-розширених вен стравоходу (ВРВС). Телеангіектазії на шкіри виявлялися у 14 (10,69%) оглянутих пацієнтів (таблиця 2.4.)

При об'єктивному обстеженні пальпаторно визначалися збільшені розміри печінки у 63 (48,09%) обстежених, при цьому на біль при пальпації скаржилися тільки 34 (25,95%) особи.

За розрахунком індексу маси тіла серед пацієнтів переважали особи з нормальною масою тіла ( $IMT < 25$ ) – 58%, пацієнтів з надмірною вагою ( $IMT 25-29$ ) було 36,64%, а з надмірною вагою ( $IMT > 30$ ) було лише 5,34% обстежених.

За допомогою УЗД органів черевної порожнини було визначено що серед хворих що увійшли у дослідження переважають особи з незбільшеною печінкою – 33, 59% та пацієнти з помірною гепатомегалією +1 см та + 2 см 25,95% та 23,66% відповідно (таблиця 2.5).

Пацієнтів з вираженою гепатомегалією було найменше, збільшення печінки +3 см було зафіксовано у 18 осіб (13,746%), а +4 см – у 4 хворих (3,05%).

Спленомегалію виявили у 31 пацієнта (23,66%). Ультразвукові ознаки цирозу печінки у вигляді збільшення діаметру ворітної вени  $>12$  мм виявили у 31 хворого (923,66%), збільшення діаметру селезінкової вени  $>7$  мм у 20 пацієнтів (15,27%) (таблиця 2.5).

Таблиця 2.5 - Розподіл хворих на хронічний гепатит С за даними УЗД

Розміри	Хворі на ХГС (абс.)	Хворі на ХГС (%)
Не збільшена печінка	44	33,59
Гепатомегалія (+1 см)	34	25,95
Гепатомегалія (+2 см)	31	23,66
Гепатомегалія (+3 см)	18	13,74
Гепатомегалія (+4 см)	4	3,05
Не збільшена селезінка	100	76,34
Спленомегалія	31	23,66
Діаметр ворітної вени <12 мм	100	76,34
Діаметр ворітної вени >12 мм	31	23,66
Діаметр селезінкової вени <7 мм	111	84,73
Діаметр селезінкової вени >7 мм	20	15,27

З метою оцінки враженості цитолітичного синдрому, синдрому холестазу та печінково-клітинної недостатності всі хворі були обстежені на основні маркери даних синдромів..

Як маркери цитолітичного синдрому всім хворим біли визначені рівні АЛТ, АСТ та ЛДГ. Було встановлено що відхилення від референтного значення по показникам АЛТ, АСТ мали більше половини обстежених хворих (61,83% та 56,49% відповідно) рівень ЛДГ був підвищений у 45,04% пацієнтів (таблиця 2.6.).

Нами було виявлено достовірне підвищення ( $p < 0,001$ ) рівнів основних показників цитолізу у хворих з ХГС порівняно з контрольною групою. Так, рівень АЛТ в сироватці крові у пацієнтів з ХГС був в 3,03 рази вищим, рівень АСТ – в 2,51 рази вищий, рівень ЛДГ – в 1,5 рази вищий в порівнянні зі здоровими особами (таблиця 2.7).

Таблиця 2.6. – Розподіл пацієнтів з ХГС за частотою відхилень від референтного інтервалу показників цитолізу

Показники	Хворі на ХГС	
	абс.	%
АЛТ > 41 Од/л	81	61,83
АСТ > 40 Од/л	74	56,49
ЛДГ > 225 Од/л	59	45,04

Таблиця 2.7. – Показники синдрому цитолізу у здорових осіб та пацієнтів з ХГС

Показники	Здорові (n=48)	Хворі ХГС (n=131)
АЛТ (Од/л)	23.31±2.84	70.63±4.00*
АСТ (Од/л)	20.86±1.93	52.41±2.74*
ЛДГ (Од/л)	164.28±3.06	247.75±4.12*

**Примітка:** \* $p < 0,001$  – різниця достовірна між групами здорових та хворих з ХГС

Таблиця 2.8. - Розподіл пацієнтів з ХГС за частотою відхилень від референтного інтервалу показників холестазу

Показники	Хворі на ХГС	
	абс.	%
Загальний білірубін >20,5 мкмоль/л	51	38,93
ГГТ >42 Од/л	65	49,62
Лужна фосфатаза >129 Од/л	44	33,59

Визначення відхилень від референтних значень основних маркерів синдрому холестазу показує що у 38,93% хворих на ХГС виявляється підвищення рівня загального білірубину, у 49,62% - підвищений рівень ГГТ та у 33,59% хворих спостерігається підвищення рівня лужної фосфатази (ЛФ) (таблиця 2.8).

Було визначено достовірне ( $p < 0,01$ ) підвищення рівнів всіх досліджуваних показників холестазу у пацієнтів з ХГС порівняно із здоровими особами. Так, рівень загального білірубину у сироватці крові у хворих з ХГС був в 1,32 рази вищим в порівнянні з групою здорових. Рівень ГГТ в сироватці крові у пацієнтів основної групи був в 2,62 рази вищим, ніж у здорових. Рівень ЛФ в сироватці крові в групі пацієнтів з ХГС був в 1,4 рази вищим ніж у здорових (табл. 2.9).

Таблиця 2.9 - Показники синдрому холестазу у здорових осіб та пацієнтів з ХГС

Показники	Здорові особи (n=48)	Хворі ХГС (n=131)	p*
Загальний білірубін (мкмоль/л)	11.96±1.33	15,84±0,5	p<0,01
ГГТ (Од/л)	26.87±1.12	70.49±4,37	p<0,001
ЛФ (Од/л)	72.79±2.66	101.72±3,85	p<0,001

**Примітка:** \*p – різниця достовірна між групами здорових та хворих з ХГС

Для оцінки синдрому печінково-клітинної недостатності досліджувалися такі маркери: рівень загального білку, рівень альбуміну та рівень холестерину. Серед хворих у групі спостереження 39 (29,77%) осіб мали підвищений рівень холестерину. Відхилення інших показників

синдрому печінково-клітинної недостатності визначалися у меншій кількості обстежених, так зниження рівня загального білку <65 г/л було зафіксовано у 23 (17,57%) хворих, зниження рівня альбуміну <35 г/л – у 17 (29,77%) пацієнтів (таблиця 2.10.).

Таблиця 2.10. - Розподіл пацієнтів з ХГС за частотою відхилень від референтного інтервалу показників синдрому печінково-клітинної недостатності

Показники	Хворі на ХГС	
	абс.	абс.
Загальний білок <65 г/л	23	17,57
Альбумін <35 г/л	17	12,98
Холестерин <3,0 ммоль/л	39	29,77

Таблиця 2.11. - Показники синдрому печінково-клітинної недостатності у здорових осіб та пацієнтів з ХГС

Показники	Здорові люди (n=48)	хворі ХГС (n=131)	p*
Загальний білок (г/л)	78.55±1.04	72.3±0,45	p<0,001
Альбумін (г/л)	45.98±0.65	43.85±0,39	p<0,01
Холестерин (ммоль/л)	3.05±0.56	4.73±0,07	p<0,01

Примітка: \*p – різниця достовірна між групами здорових та хворих з ХГС

У пацієнтів з ХГС визначалися достовірно нижчі показники рівнів загального білку та альбуміну (в 1,1 рази) порівняно із здоровими респондентами. Рівень холестерину у хворих з ХГС був в 1,55 разів вищий ніж у осіб з групи контролю (табл. 2.11).

За ступенем фіброзу усі обстежені були поділені на групи пацієнтів з відсутнім фіброзом печінки (F0) – 35,11%, початковим та помірним фіброзом (F1 - F2) – 33,59% та вираженим фіброзом печінки (F3 – F4) - 31,30% осіб (таблиця 2.12).

Таблиця 2.12. - Розподіл пацієнтів з ХГС за ступенем фіброзу печінки

Ступінь фіброзу за METAVIR	Хворі на ХГС	
	абс.	%
F0	46	35,11
F1 - F2	44	33,59
F3 - F4	41	31,30

Серед обстежених хворих на ХГС переважали пацієнти з 1b генотипом (84,73%), рідше визначався 3a генотип – 13,74% пацієнтів, генотип 2 був виявлений лише у двох осіб (1,53%) (таблиця 2.13).

Таблиця 2.13. - Розподіл пацієнтів з ХГС за генотипом HCV

Генотип HCV	Хворі на ХГС	
	абс.	%
1b	111	84,73
2	2	1,53
3a	18	13,74

За рівнем вірусного навантаження пацієнти були поділені на 2 групи: з низьким вірусним навантаженням (<600000 МО/мл) та з високим вірусним навантаженням ( $\geq$ 600000 МО/мл). Найбільше було обстежено пацієнтів з низьким вірусним навантаженням – 57,25% (таблиця 2.14).

Таблиця 2.14. - Розподіл пацієнтів з ХГС за ступенем вірусного навантаження

Вірусне навантаження	Хворі на ХГС	
	абс.	%
низьке (<600000 МО/мл)	75	57,25
високе ( $\geq$ 600000 МО/мл)	56	42,75

## 2.2 Методи дослідження

Комплексне клініко-лабораторне обстеження пацієнтів полягало у застосуванні суб'єктивних та об'єктивних методів. До суб'єктивних методів, що застосовувались належали ретельний збір скарг, з'ясування анамнезу захворювання та анамнезу життя, уточнення епідеміологічного анамнезу. Для визначення епідеміологічних особливостей поширення вірусу гепатиту С проводився ретроспективний аналіз річних звітів Рівненського обласного лікувально-діагностичного гепатологічного центру за період з 2015 року по 2019 рік та даних амбулаторних карт пацієнтів, що знаходяться під диспансерним спостереженням у РОЛДГЦ.

Об'єктивні методи включали в себе проведення повного посистемного огляду пацієнта, визначення антропометричних даних, проведення пальпації та перкусії з акцентом на органи черевної порожнини.

Для верифікації діагнозу проводилась оцінка лабораторних показників. Оцінювалися маркери основних біохімічних синдромів згідно клініко-лабораторної класифікації синдромів ураження печінки – цитолітичного, холестатичного та печінково-клітинної недостатності. Для оцінки

цитолітичного синдрому проводилося визначення активності печінкових трансаміназ – АЛТ, АСТ динітрофенілгідразиновим методом (уніфікованим методом Райтмана – Френкеля) з використанням біохімічного аналізатору cobas c 311 (виробник Roche Diagnostics, Швейцарія), рівень ЛДГ визначався колориметричним методом Севела - Товарека.

Ступінь запальної активності ХГС визначали згідно класифікації затвердженої на конгресі гастроентерологів, Лос-Анджелес, США, 1994:

- мінімальна – рівень АЛТ підвищений до 3-х норм
- слабо виражена – рівень АЛТ підвищений на 3-5 норм
- помірна – рівень АЛТ підвищений на 5-10 норм
- виражена – рівень АЛТ підвищений більше 10 норм

Для оцінки холестатичного синдрому визначалися вміст загального білірубину колориметричним методом Ван ден Берга із застосуванням діазотованої сульфанилової кислоти, рівень ГГТ – методом кінетичної колориметрії (модифікований метод Зейца) з використанням гамма-глутаміл-3-карбоксі-4-нітроанілід (ГГКНА), рівень ЛФ визначався кінетичним колориметричним методом із застосуванням п-нітрофенілфосфату. Для визначення цих маркерів використовувався біохімічний аналізатор cobas c 311 (виробник Roche Diagnostics, Швейцарія).

Для характеристики синдрому печінково-клітинної недостатності досліджувалися такі маркери як рівень загального білку, що визначався колориметричним методом (біуретова реакція) з використанням сульфату міді, рівень альбуміну також визначався за допомогою фотометрії в сукцинатному буфері з додаванням барвника (бромкрезоловий зелений (BCG)), для визначення рівня холестерину застосовувався колориметричний ензиматичний метод з додаванням естерази та оксидази холестерину (CHOD/PAP).

Всі лабораторні дослідження проводилися на базі лабораторії Рівненської центральної міської лікарні МОЗ України, а також на базі лабораторій «СІНЕВО Україна» м. Рівне.



Серологічні та молекулярно-генетичні методи. Виявлення сумарних anti-HCV проводилося методом ІФА із застосуванням тест-системи Anti-HCVab виробник Abbott (США), наявність anti-HCVcor, anti-HCVNS3, anti-HCVNS4 та anti-HCVNS5 визначалась методом ІФА із застосуванням тест-системи Cobas 6000, Roche Diagnostics (Швейцарія), дослідження проводилося на імунохімічному аналізаторі cobas e411 (виробник Roche Diagnostics, Швейцарія).

Наявність RNA-HCV визначали методом ПЛР з використанням тест системи cobas HCV (аналітична чутливість при дослідженні плазми з EDTA: 9,2 МО/мл (400 мкл), 15,2 МО/мл (200 мкл), сироватки: 7,6 МО/мл (400 мкл), 15,3 МО/мл (200 мкл), лінійний діапазон визначення 15 МО/мл -  $1,0 \times 10^8$  МО/мл (400 мкл) та 25 МО/мл -  $1,0 \times 10^8$  МО/мл (200 мкл)). За класифікацією (Конгрес гастроентерологів, Лос-Анджелес, США, 1994) ступінь вірусного навантаження при ХГС визначався на рівні:

- дуже низьке - менше  $2,0 \times 10^5$  МО/мл
- помірне –  $2,0 \times 10^5$ - $6,0 \times 10^5$  МО/мл
- високе – більше  $6,0 \times 10^5$  МО/мл

Визначення генотипу RNA-HCV проводилося методом Real Time ПЛР з типоспецифічними праймерами. Метод заснований на проведенні зворотної транскрипції РНК з наступною ампліфікацією ділянок кДНК HCV генотипів 1a, 1b, 2, 3a. Дослідження виконувалось на тест-системах "Амплісенс-50-R HCV-генотип " (Росія).

Дослідження виконувалися у лабораторіях «СІНЕВО Україна» (м. Рівне).

Для визначення алельного поліморфізму +3725 G/C гена TLR4 та розподілу його генотипів досліджувалися зразки ДНК, що були виділені сироватки крові. Виділення ДНК проводилося у ТОВ “Український лікувально-діагностичний центр” (м. Київ).

Аналіз поліморфізму +3725 G/C гена *TLR4* проводився за методикою, що була розроблена к.б.н. Кучеренко А. М. на основі методу Hishida et. al.,

2009 [55], який представляє собою сайт-специфічну полімеразну ланцюгову реакцію (ПЛР) з двома парами конфронтуючих праймерів .

Для аналізу досліджуваної ділянки, що містить мононуклеотидну заміну, в гені *TLR4* (+3725 G/C) була використана класична ПЛР. Оптимальні умови проведення полімеразної ланцюгової реакції – склад реакційної суміші та температурно-часовий режим – дозволяють отримати достатню для детекції кількість високо специфічного продукту ампліфікації ДНК *in vitro*. З метою створення таких умов проведення реакції проводився аналіз послідовностей ДНК-матриць для ПЛР та відповідних фланкуючих праймерів.

Було оптимізовано склад реакційної суміші реагентів для ПЛР досліджуваної ділянки наступного складу: 1x (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ампліфікаційний буфер; 2,5mM MgCl<sub>2</sub>; 400 мкМ dATP, dTTP, dCTP, dGTP; 170 мкг/мл бичачого сироваткового альбуміну (БСА), 0,5 мкМ праймери (наведені у таблиці 2.15), 0,5-1 відносних одиниць активності (в.о.а.) термостійкої ДНК-полімерази [31].

З використанням серії розведень ДНК-матриці підібрано оптимальну концентрацію розчину ДНК, яка забезпечує 100% ефективність проведення ПЛР (100-300 нг на пробу).

Таблиця 2.15 - Послідовності олігонуклеотидних праймерів

Назва олігонуклеотидного праймеру	Нуклеотидна послідовність
TLR4F1	5'-TTTGATGGACCTCTGAATCTC-3'
TLR4R1	5'-TTTTCTCAATGATAACATCCACTC-3'
TLR4F2	5'-СТTGACCACATTTTGGGAAC-3'
TLR4R2	5'-TTCCAATTTCTСТАТАТCСТTGATGA-3'

Підібраний температурно-часовий режим для ПЛР обраного локусу

наведено у Таблиці 2.16

Детекцію продуктів ампліфікації досліджуваного локусу проводили шляхом фракціонування ПЛР-фрагментів у 2% агарозному гелі з наступним забарвленням інтеркалюючим барвником (етидіум бромід) та візуалізацією в УФ-світлі.

Таблиця 2.16 - Умови проведення специфічної полімеразної ланцюгової реакції досліджуваної ділянки гена *TLR4*

Ген	Поліморфізм	Температурний режим	
<i>TLR4</i>	+3725 G/C	94°C – 4 хв	1 цикл
		94°C – 60 сек	30 циклів
		58°C – 60 сек	
		72°C – 60 сек	
		72°C – 7 хв	1 цикл

Для проведення аналізу поліморфного варіанта +3725 G/C гена *TLR4* було розроблено методику з використанням сайт-специфічної ПЛР. Для проведення сайт-специфічної ПЛР використовували 4 специфічних олігонуклеотидних праймери, два фланкуючих та два специфічних для кожного з алельних варіантів - +3725G та +3725C.

Дизайн праймерів проведений таким чином, що для детекції обох алелів використовувалась одна ПЛР суміщ. ПЛР продукти аналізували в 2%-ному агарозному гелі (рис 2.2.)

У всіх індивідів, незалежно від генотипу за поліморфним варіантом +3725 G/C гена *TLR4* ампліфікується контрольний константний фрагмент 397 п.н., який свідчить про ефективність протікання реакції. У індивідів з гомозиготним генотипом +3725 GG окрім контрольною спостерігається смуга розміром 184 п.н. У індивідів гомозиготних за генотипом +3725 CC ампліфікується окрім константного фрагмент 256 п.н., а у гетерозиготних індивідів +3725 GC спостерігаються усі три смуги.

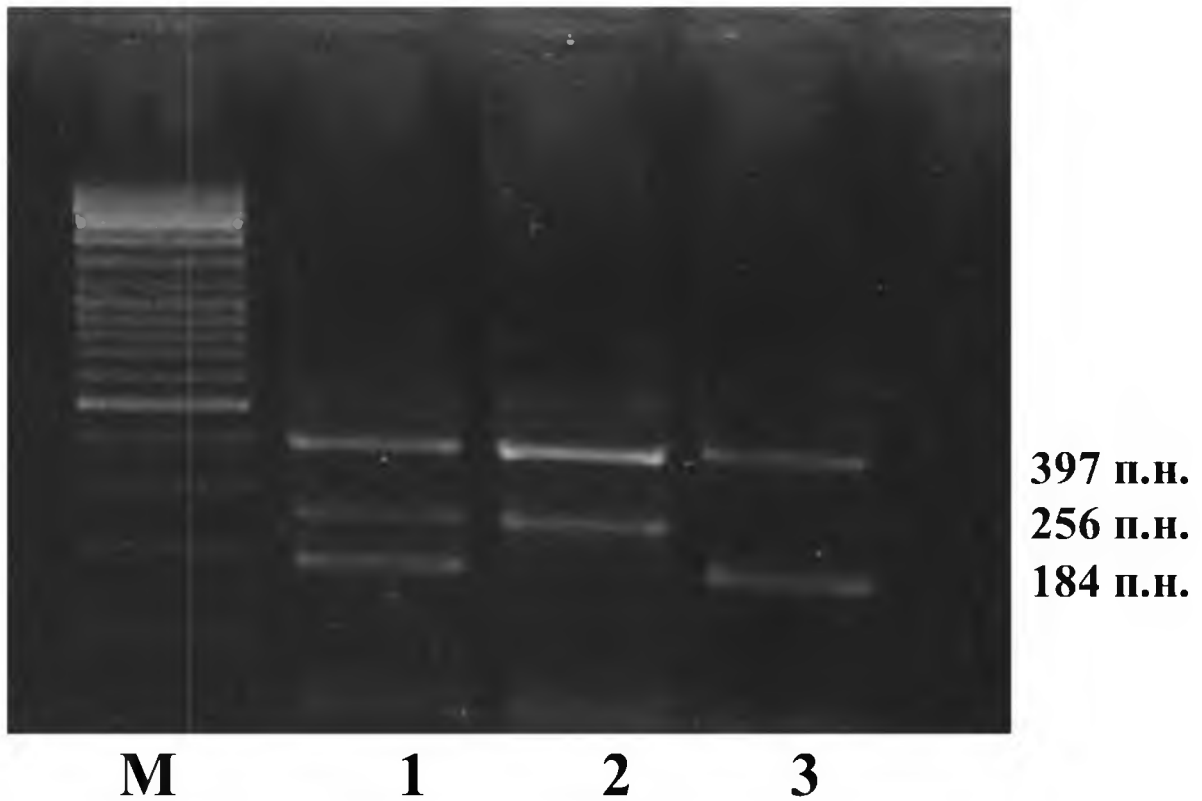


Рисунок 2.2 - Електрофореграма розділення фрагментів ПЛР-продукту гена *TLR4*, в 2 агарозному гелі: 1 – +3725 GC (гетерозигота), 2 – +3725 CC (гомозигота); 3 – +3725 GG (гомозигота); М – маркер молекулярної маси (100 п.н.).

Дослідження ступеню фіброзу проводили за допомогою фіброеластографії (ФЕГ) на апараті FibroScan (Echosens, Франція) та біохімічного тесту «FibroMax».

Ступінь фіброзу оцінювали за шкалою METAVIR:

- F0 - відсутність фіброзу,
- F1 - портальний фіброз (зірчасте розширення портальних трактів) без формування септ,
- F2 - портальний фіброз та поява одиничних септи,
- F3 - портальний фіброз з множинними септами без цирозу,
- F4 - цироз.

Залежно від методу визначення фіброзу отримані показники конвертувалися у шкалу METAVIR. При використанні ФЕГ ступеням фіброзу відповідали наступні показники: F0 -  $\leq 5,8$  кПа, F1 - 5,9 – 7,2 кПа, F2 - 7,2 – 9,5 кПа, F3 - 9,5 – 12,5 кПа, F4 -  $>12,5$  кПа. За результатами тесту «FibroMax» фіброз визначався згідно таких показників: F0 - 0,00-0,21, F0-F1 - 0,22-0,27, F1 - 0,28-0,31, F1-F2 - 0,32-0,48, F2 - 0,49-0,58, F3 - 0,59-0,72, F3-F4 - 0,73-0,74, F4 - 0,75-1,00.

Ультразвукову сонографію печінки та селезінки проводили на ультразвуковому сканері «GE Logiq 5 Expert» (Німеччина) конвексним датчиком 3,75 МГц. Були оцінені наступні критерії: лінійні розміри печінки та селезінки та селезінки, зміни ехогеності та ехоструктури, розміри ворітної та селезінкової вен.

### **2.3 Методи статистичного аналізу результатів дослідження**

Статистичний аналіз отриманих даних проводився за допомогою пакету програм «Microsoft Excell», «Statistica 6.0» (ліцензійний № AXXR910A374605FA) та «IBM SPSS Statistics» (версія 12, (20)) (ліцензійний №9593869) з використанням методів параметричної та непараметричної статистики.

Нормальність розподілу вибірки встановлювали за допомогою критеріїв Шапіро-Уїлка для малих вибірок та Колмогорова-Смірнова для великих вибірок, які засвідчували, що при критичному рівні достовірності  $p < 0,05$  відбувалось заперечення нульової гіпотези подібності розподілу досліджуваної вибірки.

Варто зазначити, що отримані результати у процесі дослідження були представленими з урахуванням методів описової статистики у вигляді середнього арифметичного (M), стандартної похибки середнього арифметичного (m), якісні дані репрезентативно були представленими у вигляді частотної маніфестації ознаки (%).

Для визначення достовірності різниці між середніми значеннями вибірок із рівномірним розподілом використовували t-критерій Стьюдента із визначенням величини ймовірності ( $p$ ). Величину ймовірності  $p < 0,05$  вважали статистично значимою, що засвідчувало наявність достовірної різниці між групами порівняння. Між незалежними вибірками достовірність різниці встановлювали за допомогою критерію Краскелла-Уолліса.

З метою визначення показників лінійної взаємозалежності між досліджуваними параметрами використовували коефіцієнт кореляції ( $r$ ), з подальшою оцінкою напрямку та сили зв'язку за стандартною уніфікованою методикою. Показники кореляційного зв'язку вважались достовірними при  $p < 0,05$ .

Для порівняння частоти наявності ознак та визначення значущості взаємозв'язку між двома змінними у таблицях спряжених ознак з малими вибірками використовувався точний тест Фішера. Достовірною вважається відмінність між групами при  $p < 0,05$ .

Оцінку величини ступеня впливу факторних ознак проводили шляхом визначення показника відношення шансів (OR), з визначенням довірчого інтервалу (ДІ) з достовірною ймовірністю 95%. Для оцінки, визначення й перевірки нульової гіпотези використовували  $\chi^2$ -квадрат ( $\chi^2$ ) з використанням поправки Йейтса, із встановленням достовірності при  $p < 0,05$ .

Для оцінки кореляційних показників був проведений багатфакторний мультирегресивний аналіз із визначенням  $\beta$ -коефіцієнтів незалежних предикторів з метою подальшого формування моделі та рівняння логістичної регресії. Точність отриманої моделі встановлювалася із визначенням квадратичного коефіцієнту детермінації  $R^2$ , який повинен перевищувати 50% ( $R^2 > 0,5$ ) з метою імплементації отриманих показників моделі у клінічну практику. Достовірність отриманих показників регламентувалася  $p$ -значенням.

## РОЗДІЛ 3

### СУЧАСНА ХАРАКТЕРИСТИКА ЕПІДЕМІЧНОГО ПРОЦЕСУ ХРОНІЧНОГО ГЕПАТИТУ С У РІВНЕНСЬКІЙ ОБЛАСТІ

ВГС-інфекція набула значного поширення у світі. Кількість людей, що живуть з вірусом гепатиту С щорічно збільшується в середньому на 2-3 млн. чоловік. На теперішній час, за різними даними, в світі нараховується більше 170 млн. осіб інфікованих вірусом гепатиту С [77, 89, 90]. В наслідок, постійної реєстрації великої кількості нових випадків з тенденцією до збільшення, високим рівнем хронізації захворювання, значним ризиком розвитку фатальних ускладнень, відсутністю специфічної профілактики а також складністю лікування, що є дороговартісним, проблема залишається однією з найважливіших для світової охорони здоров'я.

На теперішній час в Україні спостерігається несприятлива епідемічна ситуація щодо вірусного гепатиту С. Станом на січень 2020-го року в Україні зареєстровано 2 107 660 осіб інфікованих ВГС і лише 87 269 осіб з них перебуває під медичним наглядом. Нажаль данні існуючої статистики не висвітлюють реальний стан проблеми поширення HCV-інфекції на території України, оскільки офіційна реєстрація випадків гострого гепатиту С в Україні ведеться лише з січня 2003 року, а реєстрація захворюваності на хронічний гепатит С – з січня 2010 року [10, 11, 29]. На сьогодні епідемічний процес при вірусному гепатиті С характеризується зниженням частоти виявлення гострих форм, збільшенням первинної захворюваності на хронічний гепатит С, зростанням кількості поєднаних форм, змінами у віковій структурі хворих та структурі переважних шляхів передачі, зростанням рівня смертності від захворювань печінки пов'язаних з ВГС.

Отже сучасний стан територіальної поширеності гепатиту С, структури захворюваності, гендерних та вікових особливостей, зміни у структурі генотипів вірусу потребують подальшого вивчення.

Нами було проведено ретроспективний аналіз показників захворюваності на вірусний гепатит С населення Рівненської області Північно-Західного регіону України за 2015 - 2019 роки на основі даних амбулаторних карт пацієнтів, що знаходились на диспансерному спостереженні у Рівненському обласному лікувально-діагностичному гепатологічному центрі та річних звітних статистичних форм МОЗ України.

Згідно результатів нашого спостереження за період з 2015 р. по 2019 р. показники захворюваності на гострий гепатит С (ГГС) по Рівненській області визначалися на стабільно низькому рівні і коливалися в межах від 1,21 (у 2018 році було виявлено 12 нових випадків ГГС) до 0,78 на 100 тис. населення (у 2016 році було виявлено 5 нових випадків ГГС). Середній багаторічний показник захворюваності на ГГС в області був в 1,87 рази ( $p > 0,005$ ) нижче середньорічного показника захворюваності по Україні та складав 0,99 на 100 тис. населення проти 1,85 на 100 тис. населення (рис. 1).

Станом на 2019 рік на диспансерному обліку перебувають 3607 пацієнтів. Рівень захворюваності на вперше виявлений хронічний гепатит С (ХГС) в області коливалась в межах від 13,18 на 100 тис. населення (у 2016 році ХГС був виявлений у 86 осіб) до 6,38 на 100 тис. населення (у 2018 році було встановлено 39 нових випадків захворювання) з тенденцією до зниження протягом 2016-2018 років, але у 2019 році спостерігається зростання показника захворюваності у 1,69 разів (93 нових випадки) ( $p > 0,005$ ) порівняно з попереднім роком (6,38 на 100 тис. населення у 2018 році проти 10,8 а 100 тис. населення у 2019 році). Середній багаторічний показник захворюваності на вперше виявлений ХГС в області склав 10,28 на 100 тис. населення, що в 10,4 рази ( $p > 0,005$ ) перевищує такий показник захворюваності на ГГС по області. В Рівненській області спостерігається в 1,2 рази ( $p > 0,005$ ) нижчий рівень захворюваності на вперше виявлений ХГС в порівнянні із загальнодержавним показником (12,25 на 100 тис. населення) (рис. 1).



Поряд з цим спостерігається постійне зростання рівня захворюваності на цироз печінки. З 2016 року (на обліку перебувало 1153 особи з цирозом печінки HCV-етіології) відмічається щорічний приріст нових випадків захворювання на 8,3% у 2017 році (було виявлено 98 нових хворих), на 20% у 2018 році (у 318 пацієнтів встановлений діагноз цирозу) та на 8,2% у 2019 році (129 нових випадків) порівняно з кожним попереднім роком. Починаючи з 2018 року показник захворюваності на цироз печінки (13,5 на 10 тис. населення) в Рівненській області дещо перевищує такий показник по Україні (13,4 на 10 тис. населення) (рис. 1).

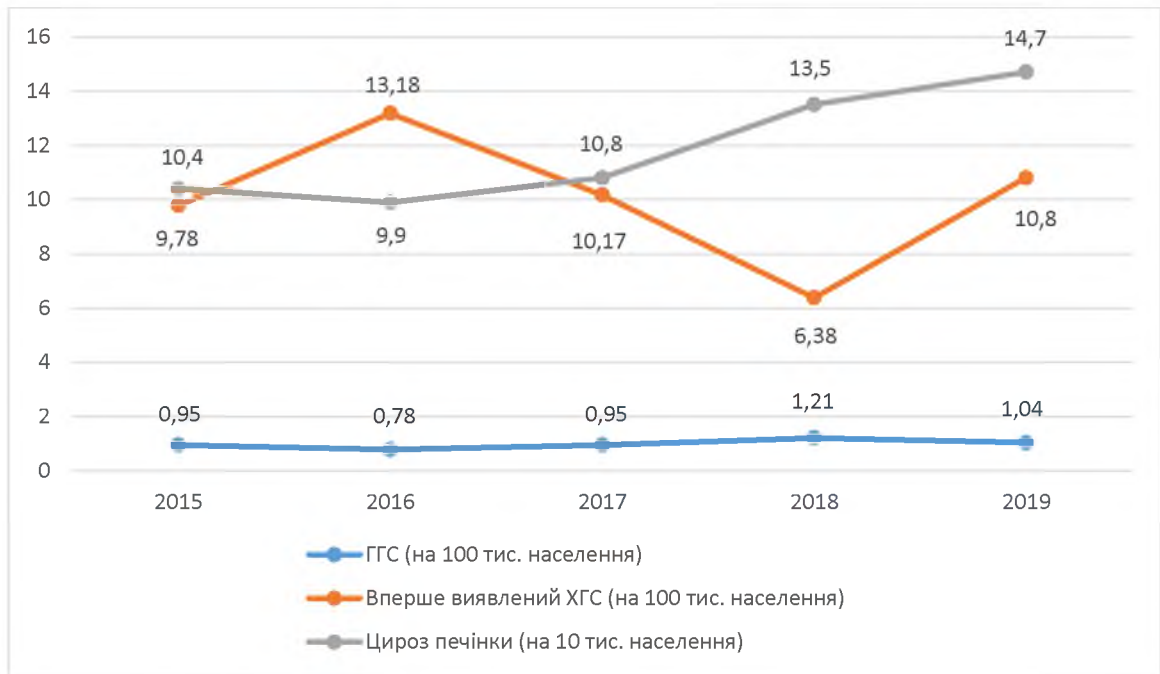


Рисунок 3.1. Захворюваність на вірусний гепатит С (HCV) населення Рівненської області за період 2015–2019 роки.

По місту Рівне показники захворюваності на ГГС також визначались на досить низькому рівні, лише в 2017 році було зафіксовано підвищення рівня захворюваності до 2,04 на 100 тис. населення (5 захворівших). У 2018 році по місту не було виявлено жодного хворого, а у 2019 році 1 особа з гострим гепатитом С. Середній багаторічний показник захворюваності на ГГС по м. Рівне визначався на рівні 0,81 на 100 тис. населення, який був в 2,28 рази

( $p > 0,005$ ) нижче середньорічного показника захворюваності по Україні (1,85 на 100 тис. населення) (рис. 2).

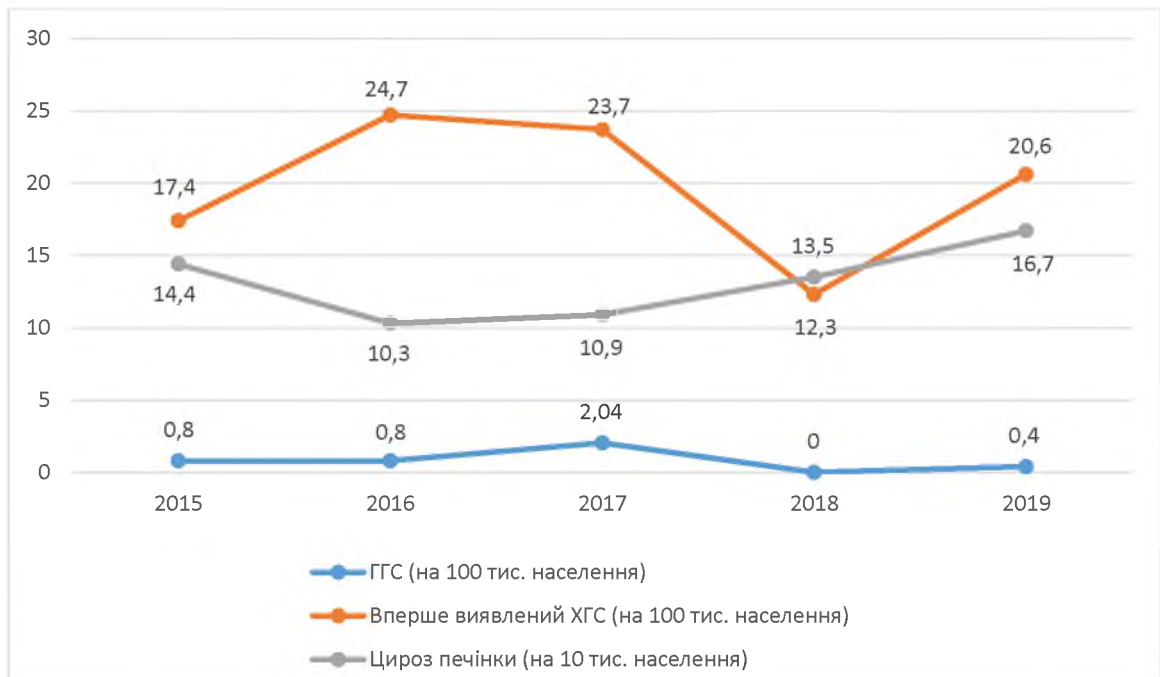


Рисунок 3.2. Захворюваність на вірусний гепатит С (HCV) населення м. Рівне за період 2015–2019 роки.

За період спостереження на диспансерному обліку з приводу Хронічного гепатиту С знаходилось 1378 мешканців м. Рівне. Найвищий показник захворюваності на вперше виявлений ХГС (24,7 на 100 тис. населення) по м. Рівне спостерігався у 2016 році (61 новий випадок захворювання) і в 30,8 разів перевищував показник захворюваності на ГГС. Зареєстрований середній багаторічний показник захворюваності по м. Рівне був 19,74 на 100 тис. населення та в 1,92 рази і в 1,61 рази ( $p > 0,005$ ) перевищував такий показник по області (10,28 на 100 тис. населення) та в цілому по Україні (12,25 на 100 тис. населення) відповідно (рис. 2).

Спостерігається збільшення реєстрації нових випадків цирозу печінки у місті Рівне з приростом у 5% в 2017 році, склало 13 нових пацієнтів, порівняно із 2016 роком, та більш значущим приростом у 19,3% в 2018 році (59 випадків встановленого цирозу печінки HCV-етіології) та у 19,2% в 2019 році (63 нових випадки) порівняно із кожним попереднім роком. Також в

2019 році спостерігається перевищення загальнодержавного показника захворюваності на цироз печінки (13,4 на 10 тис. населення) у 1,25 рази ( $p > 0,005$ ) (16,7 на 10 тис. населення у м. Рівне) (рис. 2).

При аналізі територіальної поширеності хронічного гепатиту С по районах та найбільших містах Рівненської області було визначено що середній показник захворюваності на хронічний гепатит С у Рівненській області становив 302,93 на 100 тис. населення, що у 1,62 рази ( $p > 0,005$ ) перевищував загальноукраїнський (186,62 на 100 тис. населення). Найбільший рівень захворюваності спостерігається у м. Кузнецовськ (Вараш) – 856,63 на 100 тис. населення та у м. Рівне – 555,06 на 100 тис. населення. Дані показники перевищують показник захворюваності на ХГС по Україні у 4,6 (м. Кузнецовськ) та 2,97 (м. Рівне) рази ( $p > 0,005$ ). Така значна поширеність може бути пов'язана з рядом причин, зокрема із збільшенням частки осіб що вживають ін'єкційні наркотичні засоби, більшою доступністю діагностичних заходів (наявність лікарень, державних та приватних лабораторій), ширшим охопленням населення скринінговими дослідженнями (щорічні проф. огляди) (рис. 3).

Серед районів Рівненської області найвища захворюваність спостерігається у Острозькому (519,92 на 100 тис. населення), Корецькому (424,89 на 100 тис. населення), Гошанському (313,29 на 100 тис. населення) та Сарненському (305,66 на 100 тис. населення), що в середньому в 2,78-1,63 рази ( $p > 0,005$ ) перевищують загальний показник по Україні. Показники захворюваності нижче загальнодержавного рівня були зареєстровані у Млинівському (86,35 на 100 тис. населення, нижчий 2,16 рази), Зарічненському (68,75 на 100 тис. населення, нижчий у 2,71 рази), Березнівському (65,78 на 100 тис. населення, нижчий у 2,84 рази) та Демидівському (35,03 на 100 тис. населення, нижчий у 5,33 рази) районах (рис. 3). Нерівномірність поширення ХГС можна пояснити відмінностями вікової структури та густини населення (у Володимирецькому, Сарненському, Рокитнівському та Березнівському районах переважає

населення молодого віку, а у Демидівському, Млинівському, Дубенському більша частка осіб старше 65 років порівняно з іншими районами), соціально-економічними чинниками (наявність великих підприємств, пенітенціарних закладів, незаконний видобуток бурштину), недостатнім рівнем первинної діагностики, близькістю до трас загальнодержавного та міжнародного значення а також релігійними особливостями.

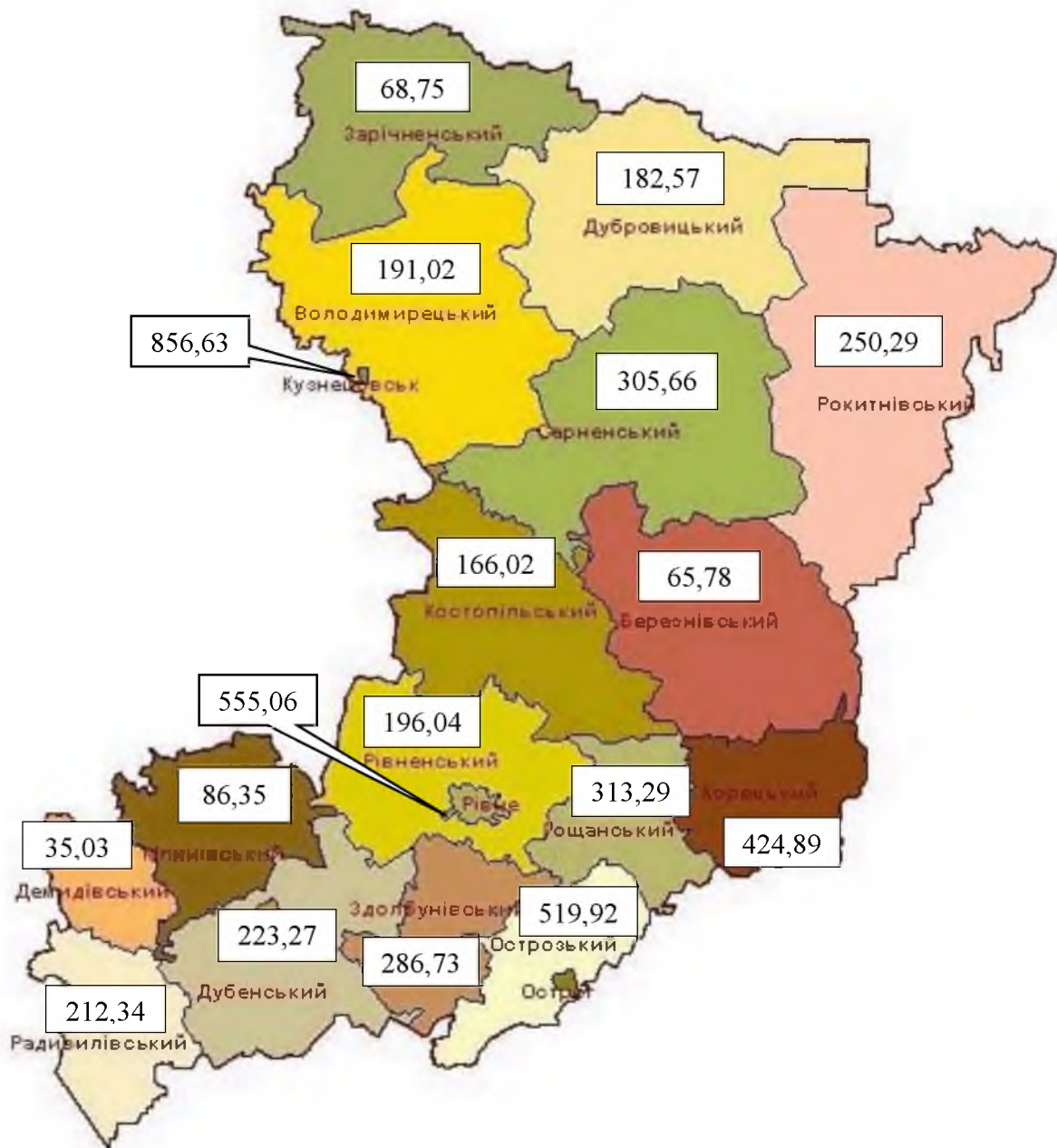


Рисунок 3.3. Поширеність ХГС по районах Рівненської області.

При аналізі статево-вікової структури встановлено, що серед хворих на ХГС переважають особи чоловічої статі (56,64%), частка яких в 1,3 рази більша ніж частка осіб жіночої статі (43,36%) (рис. 3.4).

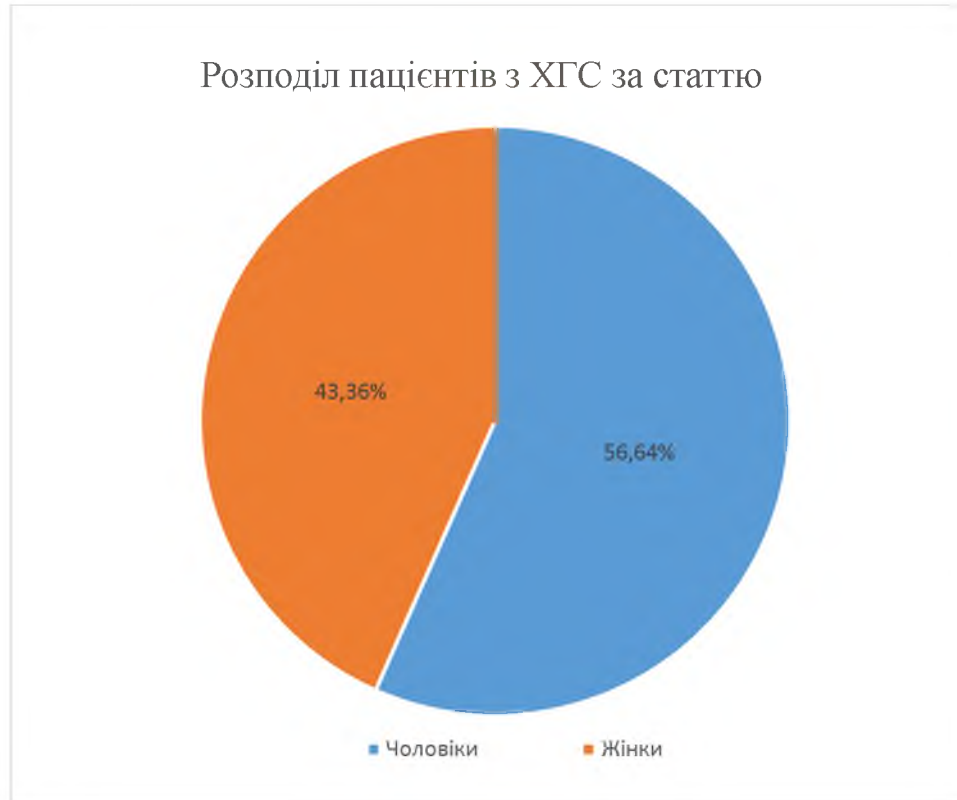


Рисунок 3.4. Статева структура захворюваності на ХГС населення Рівненської області.

У віковій структурі спостерігається найбільша кількість хворих серед осіб віком 20 - 29 років (33,90%) та осіб віком 30 – 39 років (27,70%), що разом склали 61,6% від усіх зареєстрованих хворих з ХГС у Рівненській області (рис. 3.5). Ураження переважно осіб молодого працездатного віку може свідчити про зміну структури основних шляхів передачі вірусу, зокрема збільшення частки передачі при вживанні ін'єкційних наркотичних засобів, проведенні естетичних процедур (татуювання, манікюр, пірсинг, косметологія).

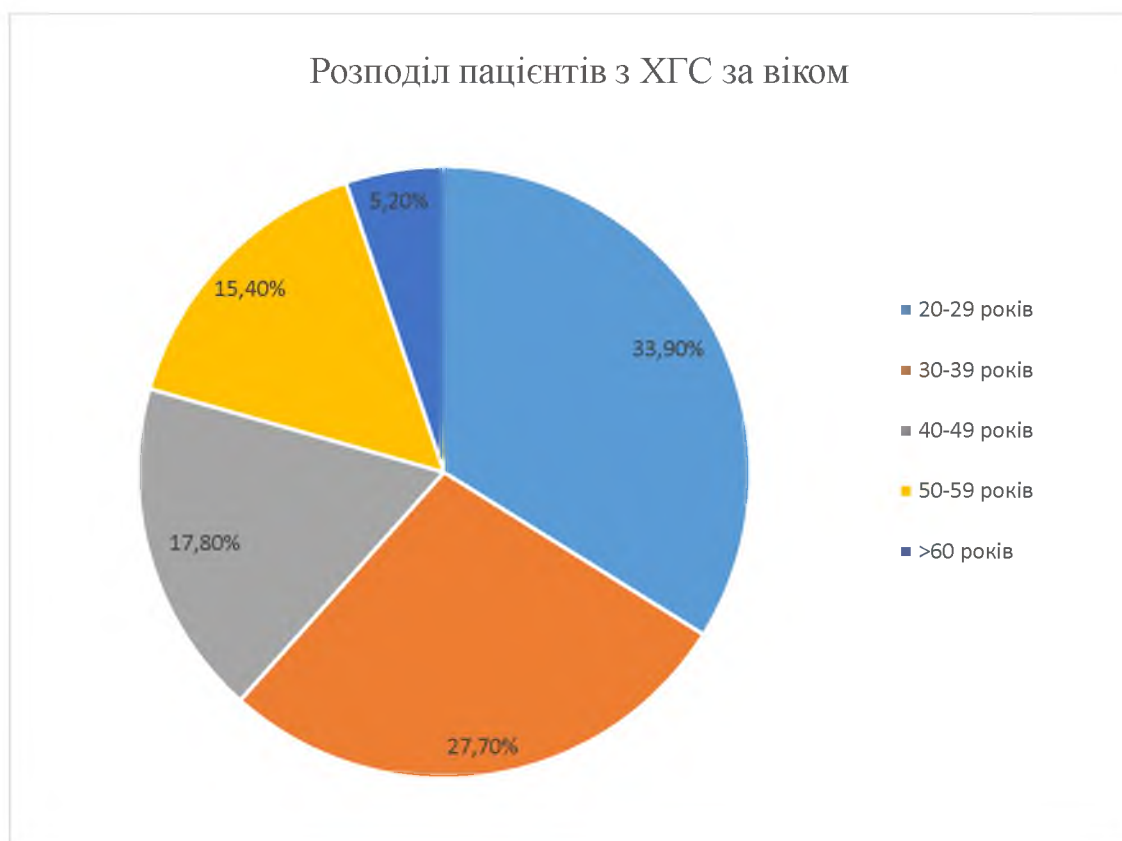


Рисунок 3.5. Вікова структура захворюваності на ХГС населення Рівненської області.

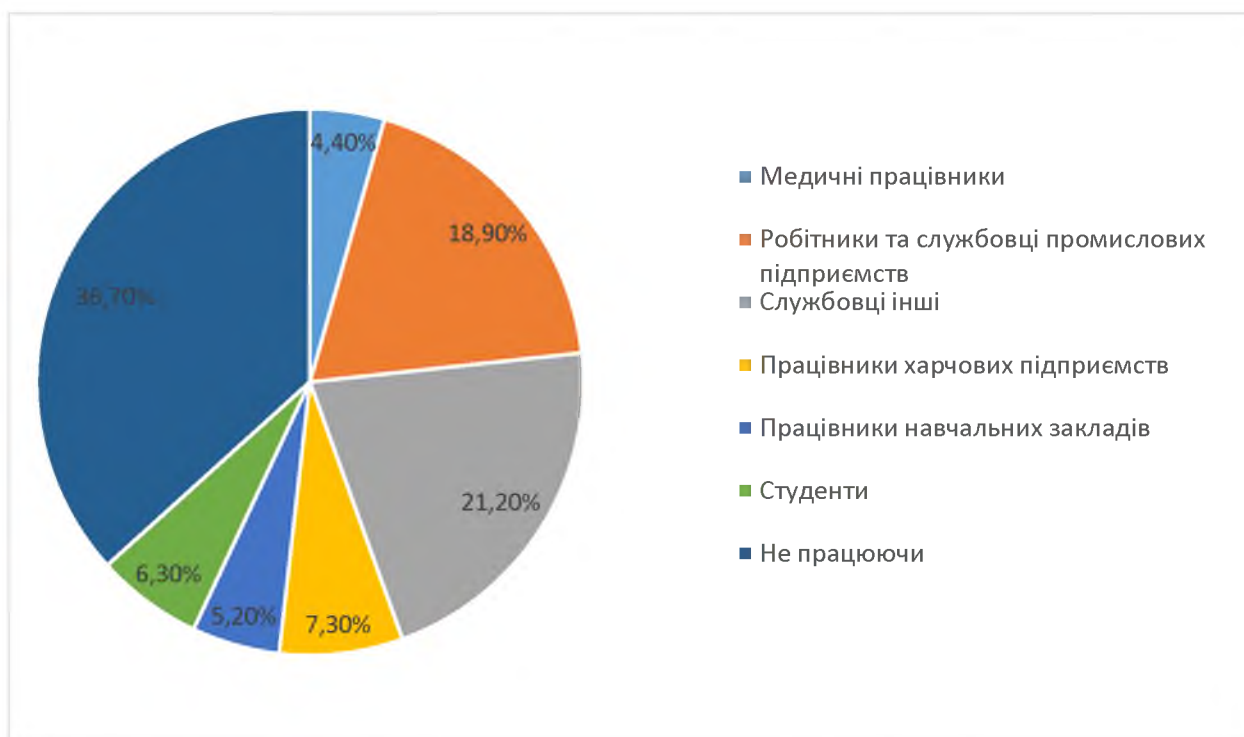


Рисунок 3.6. Структура захворюваності на ХГС населення Рівненської області за характером трудової діяльності.

При розподілі захворюваності на ХГС за характером трудової діяльності спостерігається превалювання в 1,7 рази працюючих осіб (63,3%) у різних сферах діяльності. Найбільша частка хворих спостерігається серед працівників непромислових (21,9%) та промислових (18,9%) підприємств. Частка осіб що працює в медичній сфері складає 4,4% (рис. 3.6).

При вивченні структури генотипів вірусу гепатиту С (HCV) у Рівненській області спостерігається переважання субтипу 1b HCV, який визначається у 59,9% пацієнтів та субтипу 3a HCV (29,1%), частка інших субтипів є незначною - субтип 1a HCV був виявлений у 1,7% пацієнтів, генотип 2 HCV у 3,8% пацієнтів, не вдалося типувати генотип HCV у 5,5% осіб (рис. 3.7).

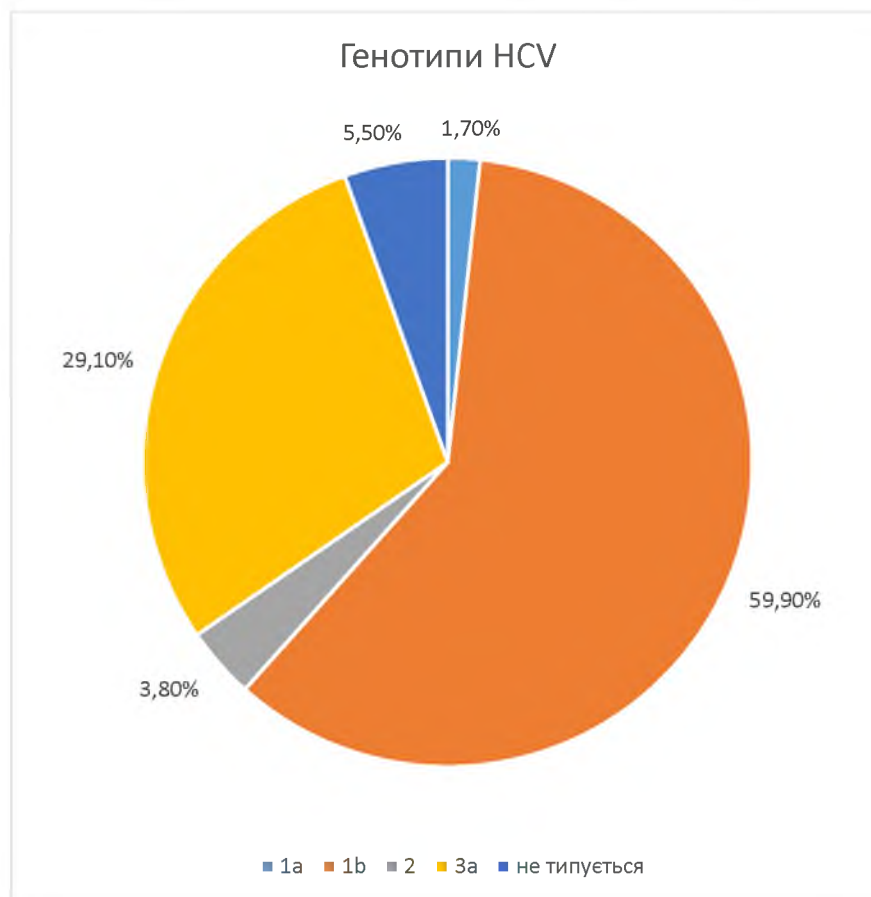


Рисунок 3.7. Частота виявлення генотипів та субтипів HCV серед населення Рівненської області.

Аналіз структури госпіталізації показав, що за період спостереження з 2015 р. по 2019 р. в Рівненському обласному лікувально-діагностичному гепатологічному центрі було проліковано 1330 пацієнтів з ВГС. У структурі госпіталізації відзначається щорічне збільшення частки пацієнтів з цирозом печінки обумовленим ВГС з 29,13% (81 пацієнт) у 2015 році до 44,05% (126 пацієнтів) у 2019 році, та незначна кількість пацієнтів з гострим гепатитом С (лише 2 випадки за період спостереження) (рис. 3.8).

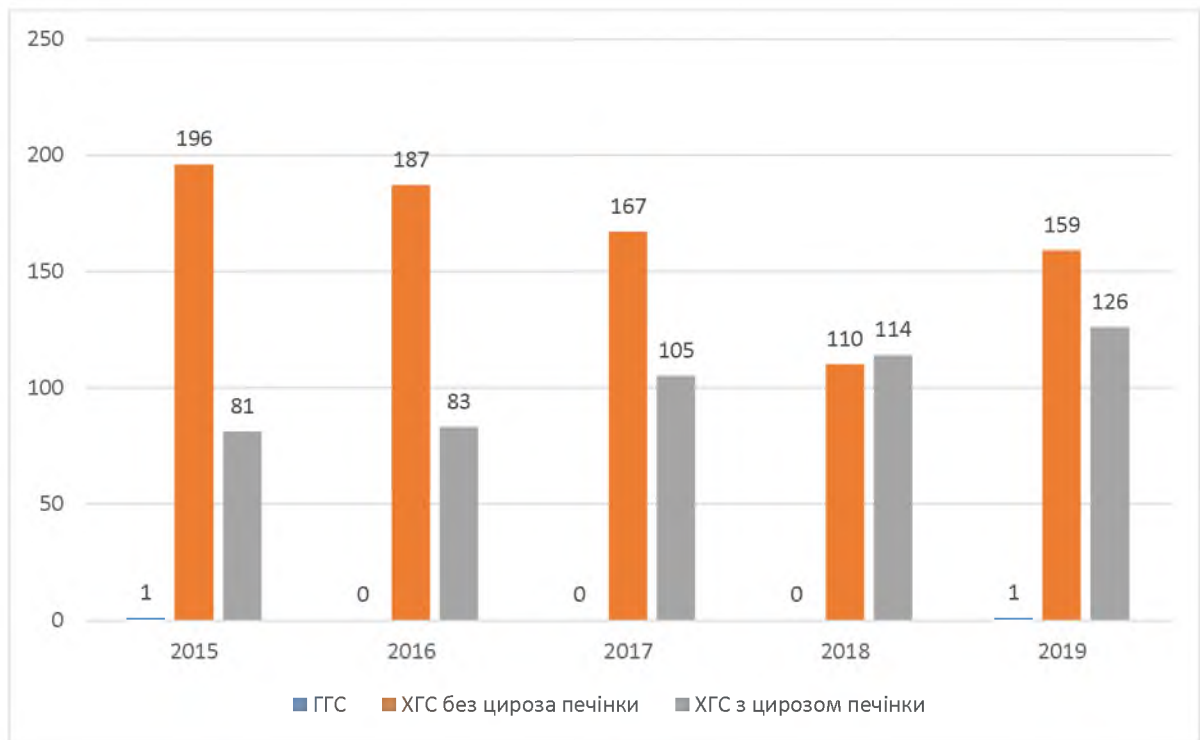


Рисунок 3.8. Структура госпіталізації пацієнтів з ВГС до Рівненського обласного лікувально-діагностичного гепатологічного центру за період 2015 - 2019 рр.

За віком серед госпіталізованих пацієнтів переважали особи віком 20-29 років (33,8%), найменше було пацієнтів віком >50 років, в інших вікових групах частка пацієнтів була рівноцінною (рис. 3.9).



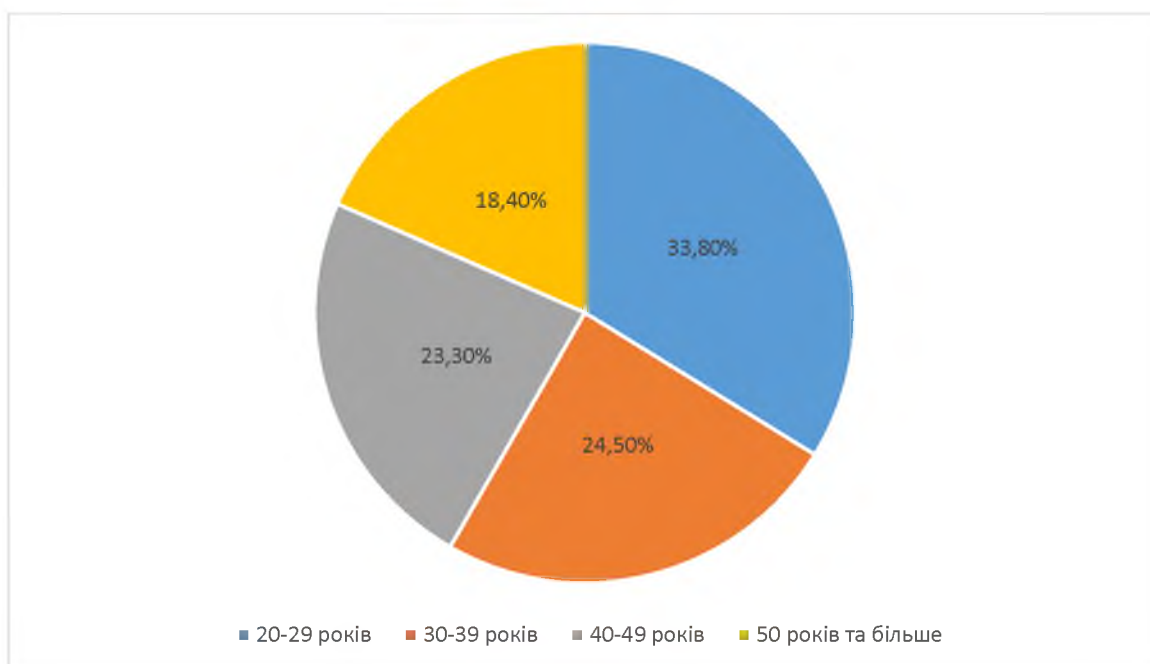


Рисунок 3.9. Вікова структура госпіталізованих до Рівненського обласного лікувально-діагностичного гепатологічного центру.

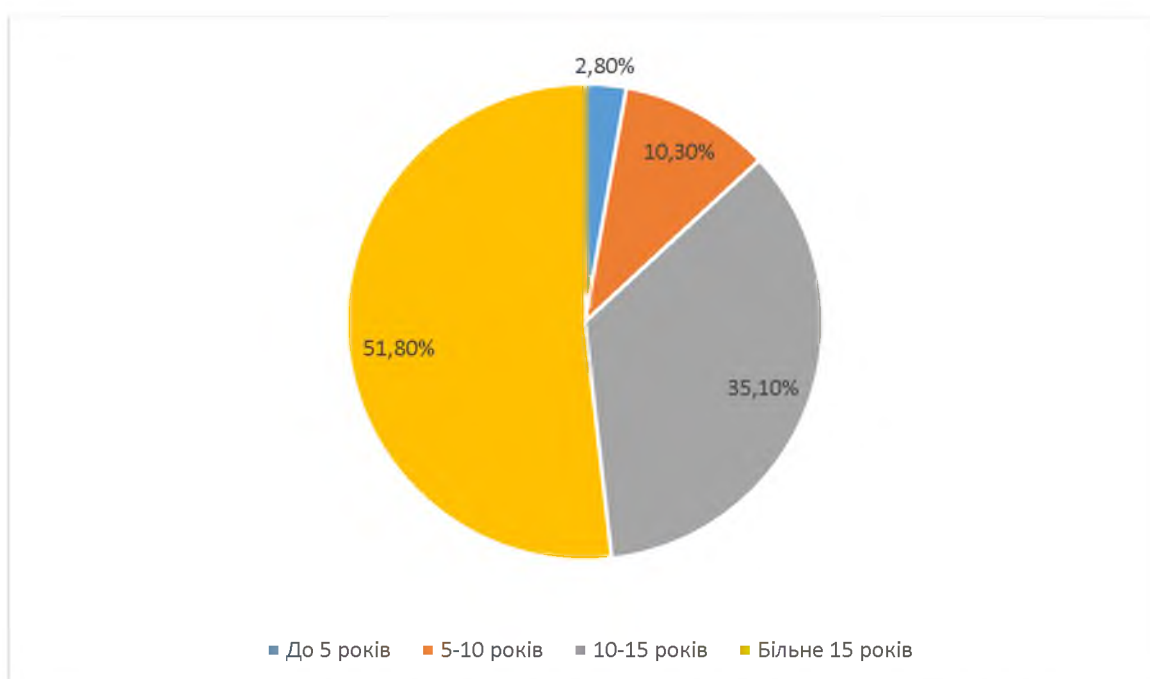


Рисунок 3.10. Розподіл госпіталізованих до Рівненського обласного лікувально-діагностичного гепатологічного центру за тривалістю інфікування.

За тривалістю інфікування, що визначалась на основі клініко-анамнестичних даних, переважали пацієнти з групи тривалість більше 15

років (51,8%), найменша частка осіб була з тривалістю захворювання до 5 років (2,8%) (рис.3.10).

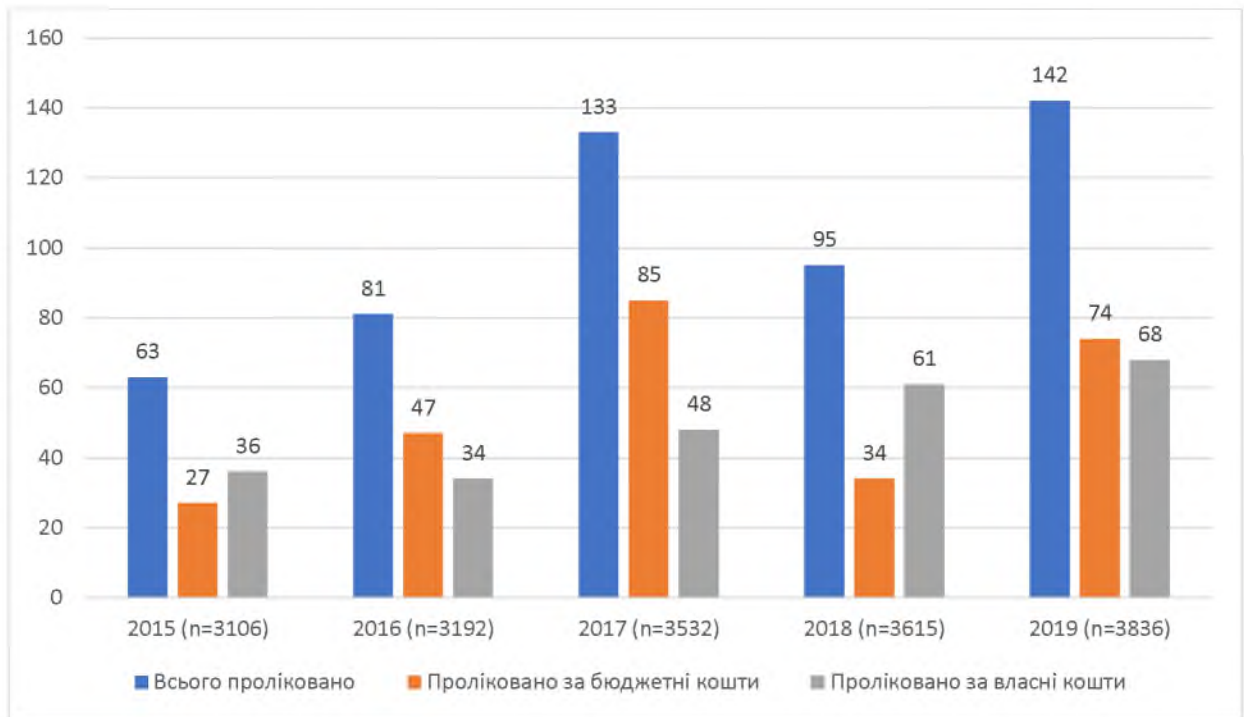


Рисунок 3.11. Структура пролікованих пацієнтів з ХГС в Рівненському обласному лікувально-діагностичному гепатологічному центрі за період 2015-2019 рр.

За період спостереження з 2015 р. по 2019 р. 514 пацієнтів отримали специфічну протівірусну терапію, з них 267 осіб за державний кошт. Визначається тенденція до збільшення рівня охопленості лікуванням, так у 2019 році цей показник склав 3,70% що в 1,83 рази більше ніж показник 2015 року (2,02%) (рис. 3.11).

## Резюме

На території Рівненської області Північно-Західного регіону України протягом останніх 5 років реєструється стабільно низький рівень захворюваності на ГГС (від 1,21 до 0,78 на 100 тис. населення) в 1,87 рази нижче ніж в цілому по Україні. Однак на тлі низьких показників захворюваності на ГГС (середній багаторічний показник захворюваності 0,99

на 100 тис. населення) в Рівненській області спостерігаються високі показники захворюваності на вперше виявлений ХГС (10,28 на 100 тис. населення) та ЦП (13,5 на 100 тис. населення) з тенденцією до зростання. Загальна захворюваність на ХГС в Рівненській області склала 302,93 на 100 тис. населення, що у 1,62 рази більший ніж захворюваність по Україні (186,62 на 100 тис. населення).

Поширеність ХГС по районах Рівненської області характеризується неоднорідністю. В деяких районах захворюваність на ХГС значно перевищує загальнодержавний рівень (в Острозькому районі в 2,78 рази, в Корецькому – в 2,27 рази), і інших визначається досить низький рівень захворюваності (у Зарічненському районі даний показник нижчий у 2,71 рази ніж по Україні, Березнівському – нижчий у 2,84 рази, та у Демидівському – нижчий у 5,33 рази). Найвищий рівень захворюваності на ХГС зафіксований в м. Кузнецовськ (Вараш) та м. Рівне, який вищий ніж такий показник по країні в 4,6 та 2,97 рази відповідно.

Переважну більшість (61,6%) зареєстрованих хворих з ХГС складають особи молодого працездатного віку до 40 років чоловічої статі (56,64%), що свідчить про модифікацію основних шляхів передачі з переважанням парентерального (вживання ін'єкційних наркотичних засобів, татування та ін.).

Виявлені зміни у поширеності генотипів вірусу гепатиту С зі збільшенням частки реєстрації субтипу 3а та зменшенням частки нетипованих випадків.

За останні 5 років зафіксовано серед пацієнтів що потребують стаціонарного лікування збільшення кількості пацієнтів з цирозом печінки. Серед госпіталізованих переважають пацієнти молодого віку (до 40 років) з середньою тривалістю інфікування 10 років та більше, що свідчить про більш виражену активність запального процесу та більш швидкі темпи прогресування фіброзу у цієї когорти пацієнтів.

Спостерігається низький рівень доступності противірусного лікування з тенденцією до збільшення (середній багаторічний показник 2,92%).

Основні положення даного розділу висвітлений у опублікованих працях здобувача: [42, 57]

## РОЗДІЛ 4

### КЛІНІКО-ЛАБОРАТОРНІ ОСОБЛИВОСТІ ПЕРЕБІГУ ХГС ПРИ ПОЛІМОРФІЗМІ rs11536889 +3725G/C ГЕНУ TLR4

За оцінками ВООЗ в світі налічується більше 170 млн. осіб інфікованих вірусом гепатиту С. Щороку ця цифра збільшується на 2-3 млн., незважаючи на наявність ефективних препаратів для лікування. Як правило, основною клінічною формою HCV-інфекції є хронічний гепатит С (ХГС), який розвивається у 60–80 % всіх випадків інфікування. Протягом тривалого часу у більшості пацієнтів відсутні будь-які симптоми захворювання, що призводить до пізнього виявлення хвороби вже на стадії незворотнього ураження печінки (цироз, первинний рак) [89, 90, 108]. Цироз печінки, який розвивається у 15-30% пацієнтів протягом 20 років, є визначальним фактором летальності при ХГС. За клінічним перебігом цироз може бути компенсований з незначними порушеннями функції печінки, або суб- і декомпенсованим, що зазвичай є важливим передвісником розвитку ГЦК, яка розвивається у 2-7% хворих. Прогресування ХГС і розвиток фіброзу в печінці обумовлені багатогранністю морфологічної реакції печінки на пошкодження (стеатоз, пігментні відкладення, тромбоз, апоптоз, некроз, адаптація, проліферація) гепатоцитів. Тому основним завданням при виборі тактики ведення пацієнтів з ХГС є оцінка ступеня некро-запальних змін і стадії фіброзу в тканині печінки [28, 39, 52, 133]. Проводиться багато досліджень, щодо діагностичної значущості сироваткових маркерів фіброзу, які дозволяють оцінити не тільки стадію ХГС, а й активність фібrogенеза в печінці.

Тому необхідне детальніше вивчення факторів ризику несприятливого перебігу, так як їх модифікація може дозволити поліпшити прогноз та клінічні наслідки для хворих з ХГС.

#### 4.1. Поширеність носійства алелей rs11536889 +3725G/C гену TLR4

При аналізі поліморфізму +3725 G/C гену TLR-4 було встановлено що серед здорових осіб переважають пацієнти-носії генотипу G/G – 38 (79,17%) чоловік, генотип G/C виявлявся у 9 (18,75%) чоловік, генотип C/C - у 1 (2,08%) з обстежених контрольної групи. Серед групи хворих на ХГС ми виявили, що переважна кількість хворих має генотип G/G – 101 (77,10%) пацієнт, а найменша – генотип C/C – 3 (2,29%), генотип G/C мають 27 (20,61%) пацієнтів. (табл. 4.1).

Проведений нами аналіз встановив що серед хворих на ХГС спостерігалось в 3,4 рази більше монозиготних носіїв алелю G (87,40%) гену TLR-4 ніж носіїв алелю C (12,60%) (табл. 4.1).

Ми не виявили достовірної різниці у поширеності поліморфізму +3725 G/C гену TLR-4 серед груп порівняння ( $p=0,73$ ) (табл. 4.1).

Також нами не було виявлено достовірної різниці залежності частоти виявлення поліморфізму +3725 G/C гену TLR-4 від статі та віку серед досліджуваних в обох групах.

Таблиця 4.1.

Частота виявлення поліморфізму +3725 G/C гену TLR-4 у здорових осіб та пацієнтів з ХГС

SNP (+3725 G/C) гену TLR-4	Здорові n=48	Хворі на ХГС n=131	p
G/G	38 (79,17%)	101 (77,10%)	p=0,73*
G/C	9 (18,75%)	27 (20,61%)	
C/C	1 (2,08%)	3 (2,29%)	
Алель G	85 (88,54%)	229 (87,40%)	
Алель C	11 (11,46%)	33 (12,60%)	

\*Примітка: парний t-тест

#### **4.2. Клінічні особливості перебігу хронічного гепатиту С при наявності різних комбінацій алельних варіантів +3725 G/C гену TLR-4**

Згідно отриманих нами даних найчастіше хворі з ХГС скаржилися на прояви астено-вегетативного синдрому, зокрема на загальну слабкість та підвищену втомлюваність. Серед пацієнтів з генотипом G/C загальна слабкість відзначалась у 70,37% обстежених, що було в 1,5 рази частіше ніж у пацієнтів з генотипом G/G (табл. 4.2).

Скарги на підвищену втомлюваність достовірно частіше зустрічалися у пацієнтів-носіїв генотипів G/C та C/C ніж серед пацієнтів-носіїв генотипу G/G в 2,7 та 3,48 рази відповідно. Порушення сну турбувало носіїв генотипів G/C та C/C хворих на ХГС частіше в 2,99 та 6,73 рази відповідно порівняно із пацієнтами з генотипом G/G. Головний біль відчували 18,52% обстежених пацієнтів з генотипом G/C, що було в 6,32 рази ( $p < 0,05$ ) частіше ніж у хворих з генотипом G/G (табл. 4.2).

Прояви диспептичного синдрому зустрічались у меншій кількості хворих. Значна частина хворих-носіїв генотипів G/C (43,40%) та C/C (66,67%) відмічали скарги на важкість у правому підребер'ї, що було частіше в 2,21 та 3,06 рази ( $p < 0,05$ ) відповідно, ніж у пацієнтів-носіїв генотипу G/G. Знижений апетит визначався у 66,67% хворих з генотипом C/C, що було в 2,49 рази частіше ніж у пацієнтів з генотипом G/G. Періодична нудота виникала у пацієнтів з генотипом G/C в 2,24 рази частіше, ніж у пацієнтів з генотипом G/G (табл. 4.2).

Клінічні прояви холестатичного синдрому у вигляді гіркоти в роті зустрічалися у 33,33% хворих-носіїв генотипу C/C та у 25,93% носіїв генотипу G/C, що було в 2,1 та 1,64 рази відповідно частіше ніж серед пацієнтів з генотипом G/G. При огляді обстежуваних суб'єктеричність склер та слизових оболонок спостерігалась в 8,42 та 3,74 рази ( $p < 0,05$ ) частіше серед пацієнтів з генотипами G/C та C/C порівняно з носіями генотипу G/G. Скарги на свербіж шкіри були лише у двох пацієнтів-носіїв алелю С

(генотипи G/C та C/C), серед монозиготних пацієнтів-носіїв гену G дана скарга не зустрічалася (табл. 4.2).

Таблиця 4.2 - Основні клінічні прояви у пацієнтів з хронічним гепатитом С залежно від поліморфізму +3725 G/C гену TLR-4

Основні клінічні синдроми та симптоми		Генотип G/G (n=101)	Генотип G/C (n=27)	Генотип C/C (n=3)	p
Астено-вегетативний синдром	Загальна слабкість	47 (46,53%)	19 (70,37%)	2 (66,67%)	P1=0,028 P2=0,896 P3=0,493
	Підвищена втомлюваність	29 (28,71%)	21 (77,77%)	3 (100%)	P1=0,0001 P2=0,369 P3=0,009
	Порушення сну	5 (4,95%)	4 (14,81%)	1 (33,33%)	P1=0,07 P2=0,42 P3=0,038
	Головний біль	3 (2,97%)	5 (18,52%)	0	P1=0,003 P2 = 0,42 P3=0,763
Диспептичний синдром	Важкість у правому підребер'ї	22 (21,78%)	13 (48,15%)	2 (66,67%)	P1=0,006 P2=0,549 P3=0,07
	Зниження апетиту	27 (26,73%)	9 (33,33%)	2 (66,67%)	P1=0,499 P2=0,263 P3=0,13
	Періодична нудота	5 (4,95%)	3 (11,11%)	0	P1=0,242 P2 =0,549 P3 =0,694
Холестатичний синдром	Гіркота в роті	16 (15,84%)	7 (25,93%)	1 (33,33%)	P1=0,226 P2=0,786 P3=0,421
	Субіктеричність склер та слизових	4 (3,96%)	4 (14,81%)	1 (33,33%)	P1=0,039 P2=0,422 P3=0,019
	Свербіж шкіри	0	1 (3,70%)	1 (33,33%)	P1 =0,053 P2 =0,055 P3=0,0001



Основні клінічні синдроми та симптоми		Генотип G/G (n=101)	Генотип G/C (n=27)	Генотип C/C (n=3)	p
Геморагічний синдром	Кровоточивість ясен	6 (5,94%)	11 (40,74%)	2 (66,67%)	P1=0,0001 P2=0,397 P3=0,0001
	Носові кровотечі	2 (1,98%)	5 (18,52%)	1 (33,33%)	P1=0,0008 P2=0,549 P3=0,0015
	Кровотечі з ВРВС	1 (0,99%)	3 (11,11%)	0	P1=0,007 P2=0,549 P3=0,863
Телеангіектазії		7 (6,93%)	6 (22,22%)	1 (33,33%)	P1=0,019 P2=0,671 P3=0,092
Збільшення печінки при пальпації		41 (40,59%)	19 (70,37%)	3 (100%)	P1=0,006 P2=0,279 P3=0,041
Болючість нижнього краю печінки при пальпації		21 (20,79%)	12 (44,44%)	1 (33,33%)	P1=0,012 P2=0,717 P3=0,602
Спленомегалія		19 (18,81%)	10 (37,04%)	1 (33,33%)	P1=0,045 P2=0,901 P3=0,531
ІМТ	< 25	62 (61,39%)	13 (48,15%)	1 (33,33%)	P1=0,216 P2=0,631 P3=0,329
	25 - 29	36 (35,64%)	11 (40,74%)	1 (33,33%)	P1=0,626 P2=0,807 P3=0,934
	>30	3 (2,97%)	3 (11,11%)	1 (33,33%)	P1=0,076 P2=0,290 P3=0,007

**Примітка:**

p1 – різниця між GG і GC

p2 – різниця між GC і CC

p3 – різниця між GG і CC

Ознаки геморагічного синдрому у вигляді кровоточивості ясен та періодичних носових кровотеч зустрічалися достовірно частіше у індивідів-носіїв алелю С (генотипів G/C та C/C) ніж у монозиготних носіїв алелю G

(генотип G/G) у 6,85-11,22 рази та 9,35-16,83 рази відповідно. Кровотечі з варикозно розширених вен стравоходу (ВРВС) було зафіксовано у трьох пацієнтів з генотипом G/C, що було в 11,22 рази частіше ніж у пацієнтів з генотипом G/G. Телеангіектазії також частіше виявлялись у носіїв алелю С (генотипів G/C та C/C) (табл. 4.2).

При об'єктивному обстеженні збільшення розмірів печінки визначалось у всіх пацієнтів з генотипом C/C (100%) та у 19 пацієнтів з генотипом G/C (70,37%) що було достовірно частіше ( $p < 0,05$ ) ніж серед пацієнтів з генотипом G/G (40,59%). Болючість нижнього краю печінки при пальпації також частіше спостерігалась у носіїв алелю С, але достовірна різниця була лише між групами пацієнтів з генотипом G/C та генотипом G/G. Спленомегалія виявлялась в 1,97 рази частіше ( $p < 0,05$ ) у пацієнтів з генотипом G/C ніж у пацієнтів з генотипом G/G (табл. 4.2).

Пацієнти з надлишковою вагою (ІМТ 25-29) та ожирінням I ступеню (ІМТ  $> 30$ ) частіше зустрічались серед пацієнтів з генотипом G/C ніж серед пацієнтів з генотипом G/G у 1,14 та 3,74 рази відповідно, але достовірної різниці встановлено не було (табл. 4.2).

При ультразвуковому дослідженні органів черевної порожнини (УЗД) у більшості обстежених визначалась гепатомегалія різного рівня. Не збільшена печінка визначалась частіше серед пацієнтів з генотипом G/G у 2,67 рази ніж серед пацієнтів з генотипом G/C ( $p < 0,05$ ). Незначна гепатомегалія (+1 см) в 1,25 разів частіше фіксувалася у пацієнтів з генотипом G/G серед пацієнтів з генотипом G/C. Збільшення розмірів печінки на 2 см та більше частіше зустрічалось у групах пацієнтів-носіїв алелю С (з генотипами G/C та C/C) порівняно з групою монозиготних носіїв алелю G (генотип G/G), але достовірної різниці встановлено не було. Спленомегалія достовірно частіше ( $p < 0,05$ ) зустрічалась серед пацієнтів з генотипами G/C та C/C ніж серед пацієнтів з генотипом G/G в 1,97 та 3,54 рази відповідно (табл. 4.3).

Таблиця 4.3 - Розподіл хворих на хронічний гепатит С за даними УЗД

Розміри	Генотип G/G (n=101)	Генотип G/C (n=27)	Генотип C/C (n=3)	p
Не збільшена печінка	40 (39,60%)	4 (14,81%)	0	P1=0,016 P2=0,482 P3=0,167
Гепатомегалія (+1 см)	28 (27,72%)	6 (22,22%)	0	P1=0,567 P2=0,671 P3=0,832
Гепатомегалія (+2 см)	20 (19,80%)	9 (33,33%)	2 (66,67%)	P1=0,137 P2=0,999 P3=0,568
Гепатомегалія (+3 см)	11 (10,89%)	6 (22,22%)	1 (33,33%)	P1=0,124 P2=0,671 P3=0,232
Гепатомегалія (+4 см)	2 (1,98%)	2 (7,40%)	0	P1=0,152 P2=0,631 P3=0,807
Не збільшена селезінка	82 (81,19%)	17 (62,96%)	1 (33,33%)	P1=0,045 P2=0,328 P3=0,042
Спленомегалія	19 (18,81%)	10 (37,04%)	2 (66,67%)	P1=0,045 P2=0,328 P3=0,043
Діаметр ворітної вени <12 мм	83 (82,18%)	16 (29,26%)	1 (33,33%)	P1=0,0001 P2=0,885 P3=0,035
Діаметр ворітної вени >12 мм	18 (17,82%)	11 (40,4%)	2 (66,67%)	P1=0,013 P2=0,391 P3=0,077
Діаметр селезінкової вени <7 мм	89 (88,12%)	21 (77,78%)	1 (33,33%)	P1=0,171 P2=0,104 P3=0,006
Діаметр селезінкової вени >7 мм	12 (11,88%)	6 (22,22%)	2 (66,67%)	P1=0,171 P2=0,104 P3=0,006

**Примітка:**

p1 – різниця між GG і GC

p2 – різниця між GC і CC

p3 – різниця між GG і CC

За даними УЗД збільшення діаметру ворітної вени  $>12$  мм виявлялося у пацієнтів з генотипом G/C достовірно частіше ( $p < 0,05$ ), ніж серед пацієнтів з генотипом G/G. Пацієнтів зі збільшенням діаметру селезінкової вени  $>7$  мм серед пацієнтів-носіїв алелю С (з генотипами G/C та C/C) було в 1,87 ( $p = 0,171$ ) та 5,61 ( $p < 0,05$ ) рази більше, ніж серед пацієнтів монозиготних носіїв алелю G (генотип G/G) (табл. 4.3).

#### 4.3. Характеристика лабораторних показників у хворих на хронічний гепатит С при наявності різних комбінацій алельних варіантів +3725 G/C гену TLR-4

З метою визначення важкості перебігу ХГС оцінювалися основні показники синдромів ураження печінки – цитолітичного, холестатичного, печінково-клітинної недостатності.

Таблиця 4.3 - Показники синдрому цитолізу у хворих з ХГС залежно від генотипу TLR-4

Показники	Генотип GG	Генотип GC	Генотип CC	p1/p2/p3
АЛТ (ммоль/с/л)	56.11±3.36	116.72±9.31	144.56±22.01	p1<0,001 p2 = 0.3461 p3<0,001
АСТ (ммоль/с/л)	44.39±2.49	77.09±7.01	100.46±11.79	p1<0,001 p2 = 0.2891 p3<0,001
ЛДГ (ммоль/год/л)	218,23±1,12	258,73±1,08	289,66±9,08	p1<0,001 p2<0,01 p3<0,001

**Примітка:**

p1 – різниця між GG і GC

p2 – різниця між GC і CC

p3 – різниця між GG і CC

Згідно отриманих нами даних встановлено достовірне збільшення рівня АЛТ в сироватці крові з появою алелю С у генотипі TLR4. Так у носіїв генотипу GC рівень АЛТ був в 1,79 разів ( $p < 0,001$ ) вищий ніж у монозиготних носіїв алелю G (генотип GG), а у монозиготних носіїв алелю С (генотип CC) в 2,57 рази ( $p < 0,001$ ) вищий. Така ж картина спостерігалася стосовно АСТ, рівень котрого в сироватці крові носіїв генотипів GC та CC був в 1,73 рази і 2,26 рази ( $p < 0,001$ ) відповідно вищими ніж у носіїв генотипу GG. Достовірної різниці у рівнях показників АЛТ та АСТ між носіями генотипів GC та CC встановлено не було Рівень ЛДГ в сироватці також був достовірно вищим у пацієнтів з наявним алелем С гену TLR4 ( $p < 0,05$ ) (табл. 4.3).

Спостерігається достовірна різниця між кількістю хворих з підвищеними рівнями показників синдрому холестазу залежно від наявності алелю С в генотипі TLR-4.

Таблиця 4.4 - Показники синдрому холестазу у хворих з ХГС залежно від генотипу TLR-4

Показники	Генотип GG	Генотип GC	Генотип CC	$p^1/p^2/p^3$
Загальний білірубін (мкмоль/л)	14,03±0,4	21,77±1.23	23,56±3.36	$p1 < 0,001$ $p2 = 0.6493$ $p3 < 0,01$
ГГТ (од/л)	57.56±3.67	109.38±12.4	155.53±18.38	$p1 < 0,001$ $p2 < 0,05$ $p3 < 0,001$
ЛФ (од/л)	88.18±3.03	147.33±10.43	146.86±19.88	$p1 < 0,001$ $p2 = 0.9885$ $p3 < 0,01$

**Примітка:**

$p1$  – різниця між GG і GC

$p2$  – різниця між GC і CC

$p3$  – різниця між GG і CC

Рівень загального білірубіну у індивідів-носіїв генотипів GC та CC був вищий 1,55 та 1,68 рази ( $p < 0,001$ ) відповідно ніж у осіб з генотипом GG. Аналогічно визначався і підвищений рівень ЛФ, який при появі алелю С у гетерозиготних носіїв був в 1,67 рази ( $p < 0,001$ ) вищим ніж у монозиготних носіїв алелю G. Достовірної різниці цих показників між групами пацієнтів з генотипами GC і CC встановлено не було. Рівень ГГТ у монозиготних носіїв алелю С визначався в 1,42 рази ( $p < 0,001$ ) вищий ніж у гетерозиготних носіїв та в 2,7 рази ( $p < 0,001$ ) вищий ніж у монозиготних носіїв алелю G (табл. 4.4).

Достовірна різниця в показниках синдрому печінково-клітинної недостатності спостерігалася між носіями генотипів GG і GC та GG і CC. Наявність алелю С впливала на зниження рівнів загального білку та альбуміну. У носіїв генотипів CC і GC рівень загального білку був нижчий в 1,1 ( $p < 0,001$ ) та 1,06 ( $p < 0,01$ ) рази відповідно порівняно із носіями з генотипу GG, а рівень альбуміну нижчий в 1,2 та 1,12 рази ( $p < 0,001$ ) (табл. 4.5).

Таблиця 4.5 - Показники синдрому печінково-клітинної недостатності у хворих з ХГС залежно від генотипу TLR-4

Показники	Генотип GG	Генотип GC	Генотип CC	$p^1/p^2/p^3$
Загальний білок (г/л)	73,24±0.52	69,36±0,64	66.9±2.14	$p1 < 0,001$ $p2 = 0.2414$ $p3 < 0,01$
Альбумін (г/л)	45,06±0,4	40,06±0.68	37.3±1.03	$p1 < 0,001$ $p2 = 0.2035$ $p3 < 0,001$
Холестерин (ммоль/л)	4,49±0,07	5.52±0,19	5.47±0,07	$p1 < 0,001$ $p2 = 0.9334$ $p3 < 0,001$

**Примітка:**

$p1$  – різниця між GG і GC

$p2$  – різниця між GC і CC

$p3$  – різниця між GG і CC

Рівень холестерину у осіб з генотипами GC та CC визначався достовірно вищим в 1,23 та 1,22 рази ( $p < 0,001$ ) ніж у осіб з генотипом GG. Різниця всіх показників печінково-клітинної недостатності серед носіїв алелю С з різними генотипами (CC і GC) була не достовірною (табл. 4.5).

#### 4.4. Визначення предикторів та встановлення ризиків розвитку різних ступенів активності запального процесу у хворих з ХГС при поліморфізмі rs11536889 +3725G/C гену TLR4

Оцінка напрямку, сили та достовірності кореляційних зв'язків між генотипами CC/GC гену TLR-4 та показниками функціонального стану печінки у хворих на ХГС при однофакторному аналізі, за методом Спірмена, достовірно показала, що наявність алелю С у генетичній складовій поліморфізму гену, що кодує TLR-4 має прямий кореляційний зв'язок значної сили із рівнем АЛТ ( $r=0,52$ ;  $p < 0,05$ ) та рівнем загального білірубину ( $r=0,56$ ;  $p < 0,05$ ), прямий кореляційний зв'язок помірної сили із рівнем АСТ ( $r=0,44$ ;  $p < 0,05$ ), ГГТ ( $r=0,48$ ;  $p < 0,05$ ) та холестерину ( $r=0,44$ ;  $p < 0,05$ ), зворотній кореляційний зв'язок помірної сили із рівнем загального білка ( $r=-0,34$ ;  $p < 0,05$ ) та рівнем альбуміну ( $r=-0,51$ ;  $p < 0,05$ ) (табл. 4.6).

Таблиця 4.6 - Оцінка напрямку, сили та достовірності кореляційних зв'язків між CC/GC генотипами гену TLR-4 та показниками функціонального стану печінки у хворих на ХГС (однофакторний аналіз за методом Спірмена)

	АЛТ	АСТ	ГГТ	ЛФ	Загальний білок	Альбу-мін	Холес-терин	Загальний білірубін
Алель С гену TLR-4 (CC/GC генотипи)	0,52*	0,44*	0,41*	0,48*	-0,34*	-0,51*	0,44*	0,56*

Примітка: \* -  $p < 0,05$ .

Однак, при багатофакторному аналізі, шляхом формування моделі логістичної регресії (із виключенням змінних таких як загальний білок та холестерин), встановлено, що незалежними предикторами виявились АЛТ ( $\beta=0,38$ ;  $p=0,004$ ), рівень альбуміну ( $\beta=-0,2$ ;  $p=0,009$ ) та загального білірубіну ( $\beta=0,32$ ;  $p=0,00001$ ). Факторна логістична модель була достовірною із коефіцієнтом детермінації  $R^2=52\%$  (табл. 4.7).

Таблиця 4.7 - Оцінка достовірності кореляційних зв'язків між СС/ГС генотипами гену TLR-4 та показниками функціонального стану печінки у хворих на ХГС (багатофакторний аналіз із складанням моделі логістичної регресії)

	$\beta$	Стандартне відхилення $\beta$	t	p
Intercept*			1,08267	0,281054
АЛТ	0,384525	0,133447	2,88149	0,004666
АСТ	-0,122213	0,123973	-0,98581	0,326148
ГГТ	-0,051852	0,107939	-0,48038	0,631801
ЛФ	0,145772	0,093870	1,55292	0,122992
Альбумін	-0,201151	0,076006	-2,64651	0,009187
Білірубін	0,329260	0,074035	4,44736	0,000019

**Примітка:**

Intercept – математична константа, яка не потребує аналізу та оцінки.



Таблиця 4.8 - Залежність степеню активності запального процесу у хворих на ХГС від поліморфізму +3725 G/C гену TLR-4

Локус	Генотип	Мінімальна активність		Помірно виражена активність		Відношення шансів			
		n	f	n	f	p	OR	ДІ 95%	
1	2	3	4	5	6	9	10	11	
+3725 G/C ген TLR4	GG	86	0,91	15	0,42	p<0,0001	0,07	(0,03; 0,19)	
	GC	9	0,09	18	0,5		13,38	(5,15; 34,74)	
	CC	0	0,00	3	0,08				
	Усього	95	-	36	-	-			
	$\chi^2=35.298; p < 0,001$								
	Алель G	181	0,95	48	0,67	-			
	Алель C	9	0,05	24	0,33	-			
	Усього	190	-	72	-	-			
	$\chi^2=38.785; p < 0,001$								

**Примітка:** n – абсолютна кількість, f – частота, ДІ – довірчий інтервал

За результатами порівняння розподілу генотипів за алельним варіантом +3725 G/C гена TLR4 у пацієнтів з різним ступенем активності запального процесу з використанням точного двостороннього тесту Фішера було встановлено, що частота носіїв алелю +3725 C (генотипи GC та CC) була достовірно ( $p < 0,0001$ ) вищою в групі пацієнтів з помірно вираженим ступенем активності запального процесу порівняно з групою пацієнтів з мінімальним ступенем активності запального процесу. За розрахунками показника відношення шансів, встановлено, що індивіди-носії алеля +3725 C гена TLR4 мають в 13 разів вищий ризик розвитку більш вираженого

ступеню активності запального процесу (OR = 13,38; ДІ 95%: 5,15; 34,74) (табл. 4.8).

### **Резюме:**

Проведений аналіз алельного поліморфізму rs11536889 +3725G/C гена TLR4 в популяційній вибірці індивідів з Північно-Західного регіону України, яка складалась з 48 здорових осіб та 131 осіб з хронічним гепатитом С (результати розподілу генотипів та частот алелів в групах обстежених наведено у табл. 4.1) показав, що найбільш розповсюдженим генотипом за поліморфним варіантом гену TLR4 виявилися гомозиготи GG (77,69%-79,17%), тоді як з найнижчою частотою зустрічалися гомозиготи CC (2,08%-2,29%). Достовірної різниці між розподілом генотипів у групах порівняння встановлено не було ( $p=0,73$ ).

Згідно отриманих результатів дослідження встановлено, що особи, які є носіями алелю С (генотипи CC і GC) мають більш виражені клінічні прояви астено-вегетативного, диспептичного, холестатичного та геморагічного синдромів.

Індивіди носії генотипів CC і GC rs11536889 +3725G/C гена TLR4 мають достовірно важчий перебіг ХГС ніж індивіди носії генотипу GG за основними показниками цитолітичного, холестатичного синдромів та синдрому печінково-клітинної недостатності.

При багатофакторному кореляційному аналізі визначений сильний кореляційний зв'язок між основними біохімічними маркерами ураження печінки та наявністю мінорного алелю С rs11536889 +3725G/C гена TLR4.

Встановлено, що незалежними предикторами активності запального процесу асоційованими з алелю С rs11536889 +3725G/C гена TLR4, виявились рівні АЛТ, альбуміну та загального білірубіну.

Основні положення даного розділу висвітлений у опублікованих працях здобувача: [2, 5, 58, 59]

## РОЗДІЛ 5

### ДОСЛІДЖЕННЯ ВЗАЄМОЗВ'ЯЗКУ МІЖ КЛІНІКО- ЛАБОРАТОРНИМИ, ВІРУСОЛОГІЧНИМИ, ГЕНЕТИЧНИМИ ПОКАЗНИКАМИ ТА ЕФЕКТИВНІСТЮ ПРОТИВІРУСНОГО ЛІКУВАННЯ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ ГЕПАТИТ С

У 70-80% випадків інфікування на вірусний гепатит С у пацієнтів відсутні будь-які симптоми захворювання, що і призводить до формування хронічного гепатиту С. Протягом 10-20 років від моменту інфікування приблизно у 20% - 30% хворих на хронічний гепатит С розвивається цироз печінки, який в майбутньому може трансформуватись у гепатоцелюлярну карциному у 8-10% осіб з цирозом [76, 80, 113]. За даними ряду авторів, летальність протягом 5-7 років і після постановки діагнозу цирозу печінки (ЦП) становить 40-80% [46, 49, 74, 124]. Хронічне ураження печінки переважно опосередковано імунними механізмами, а не прямою цитопатичною дією самого вірусу. TLR4 рецептори відіграють ключову роль у вродженому імунітеті шляхом активації запальних реакцій. Активація TLR4 сигналів в гепатоцитах призводить до посилення активності прозапальних цитокінів та хемокінів а також збільшення запальних клітин в печінці [71, 103, 104, 126, 135].

На сьогодні виділяють ряд чинників, що сприяють прогресуванню ХГС та розвитку важких ускладнень таких ЦП та ГЦК, до таких чинників належать фактори вірусу (генотип і квазівиди вірусу, рівень віремії); фактори господаря (вік і тривалість інфікування, стать, коінфекція, наявність супутніх захворювань, метаболічні фактори, генетичні фактори) та фактори зовнішнього середовища (шкідливі звички, вплив токсичних речовин, імуносупресія) [7, 35, 110, 132].

Визначення вірусного навантаження при гепатиті С як прогностичного маркера несприятливого перебігу захворювання є важливим критерієм для прогнозування розвитку цирозу печінки та гепатоцелюлярної карциноми

(ГЦК). Кількісне визначення РНК ВГС, поряд з біохімічними показниками, є основним маркером моніторингу протівірусної терапії та оцінки її ефективності, а також прогнозу успіху лікування.

В останні роки особливу увагу приділяють вивченню генетичних факторів при хронічному гепатиті С, які, можуть визначати індивідуальні особливості перебігу захворювання, а також бути маркером для оцінки прогнозу хвороби і відповіді на терапію.

### 5.1. Визначення рівня віремії у хворих з ХГС залежно від поліморфізму +3725 G/C гену TLR-4

При порівняльному розподілі генотипів за алельним поліморфізмом +3725 G/C гена TLR4 у пацієнтів з ХГС ми виявили що серед носіїв алелю С (генотипи GC та CC) в 2,4 рази частіше виявляються пацієнти з високим вірусологічним навантаженням ( $\geq 600000$  МО/мл) ніж з низьким вірусологічним навантаженням, в свою чергу серед монозиготних носіїв алелю +3725 G (генотип GG) в 1,97 рази частіше виявляються пацієнти з низьким вірусологічним навантаженням ніж з високим (таблиця 5.1).

Таблиця 5.1 - Розподіл пацієнтів за рівнем вірусного навантаження з різними генотипами +3725 G/C гену TLR-4

Генотип	Високе вірусологічне навантаження	Низьке вірусологічне навантаження	p
GG	34 (33,66%)	67 (66,34%)	0,005
GC	19 (70,37%)	8 (29,63%)	0,009
CC	3 (100%)	0	<0,05

Середні значення вірусного навантаження у пацієнтів з генотипом GG були  $1,5 \cdot 10^5 \pm 0,9 \cdot 10^5$ , у пацієнтів з генотипом GC –  $1,2 \cdot 10^6 \pm 0,7 \cdot 10^6$ , у пацієнтів з генотипом CC –  $2,7 \cdot 10^7 \pm 1,8 \cdot 10^7$ . Поява С алеля +3725 G/C гена TLR4 призводила до збільшення вірусного навантаження на 1 log (рис. 5.1).

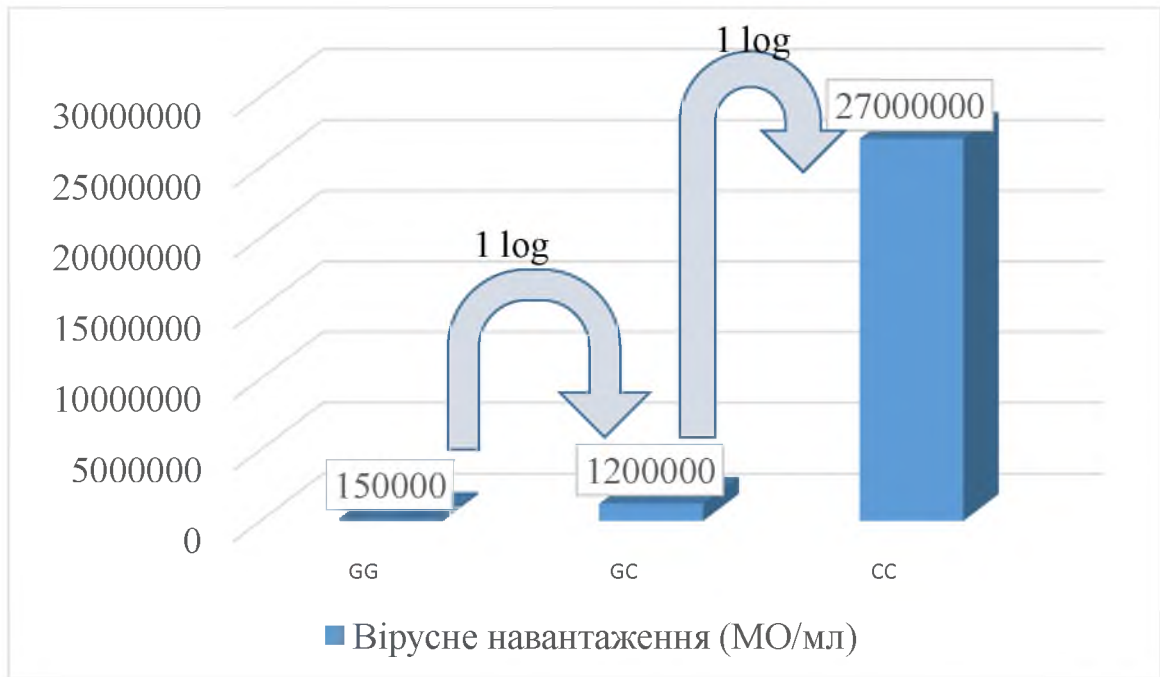


Рисунок 5.1 – Вірусне навантаження у пацієнтів хворих на ХГС з різними генотипами +3725 G/C гена TLR4.

Аналіз відповідності фактичних частот генотипів теоретично очікуваним за даним поліморфним варіантом в усіх досліджуваних групах, свідчив про випадковий розподіл генотипів у відповідності зі співвідношенням Харді-Вайнберга ( $p > 0,05$ ).

За результатами порівняння розподілу генотипів за варіантами алельного поліморфізму +3725 G/C гена TLR4 у хворих на ХГС з різним рівнем вірусологічного навантаження при використанні точного двостороннього тесту Фішера було встановлено, що частота носіїв алелю +3725 С (генотипи GC та CC) була достовірно ( $p < 0,05$ ) вищою в групі пацієнтів з високим вірусологічним навантаженням порівняно з групою пацієнтів з низьким вірусологічним навантаженням. За розрахунками показника відношення шансів, встановлено, що індивіди-носії алеля +3725С гена TLR4 мають більше ніж в 4 рази вищий ризик високого вірусологічного навантаження (OR = 4,16; ДІ 95%: 1,701 - 10,172) (таблиця 5.2).

Таблиця 5.2. - Залежність рівня вірусного навантаження у хворих з ХГС від поліморфізму +3725 G/C гену TLR-4

Локус	Генотип	Пацієнти з високим вірусологічним навантаженням		Пацієнти з низьким вірусологічним навантаженням		Відношення шансів		
		n	f	n	f	p	OR	ДІ 95%:
1	2	3	4	5	6	7	8	9
+3725 G/C ген TLR4	GG	34	0.607	67	0.893	0.009	0.20	0.06 – 0.72
	GC	19	0.339	8	0.106		4.16	1.701 – 10.172
	CC	3	0.053	0	0.000			
	Усього	56		75		–		
	Алель G	83	0.775	142	0.946	–		
	Алель C	25	0.225	8	0.053	–		

**Примітка:** n – абсолютна кількість, f – частота, ДІ – довірчий інтервал

## 5.2. Особливості фіброзу печінки у хворих на хронічний гепатит С залежно від поліморфізму +3725 G/C гену TLR-4

Нами було встановлено, що в групі пацієнтів монозиготних носіїв алелю G (генотип GG) переважають особи з відсутнім фіброзом печінки (41,58%) а також початковим та помірним фіброзом (35,64%). Серед гетерозиготних індивідів-носіїв +3725 G/C (генотип GC) переважали пацієнти з вираженим фіброзом печінки (F3 – F4) - 55,56% осіб (таблиця 5.3).

Згідно отриманих даних було визначено що серед носіїв алелю C (генотипи GC та CC) в 1,75 рази частіше виявлялись пацієнти з вираженим фіброзом (F 3-4) ніж пацієнти з відсутнім або початковим та помірним фіброзом (F 0, F 1-2) (таблиця 5.3).

Таблиця 5.3. - Розподіл пацієнтів за ступенем фіброзу з різними генотипами +3725 G/C гену TLR-4

Генотип	F 0	F 1-2	F 3-4	p
GG	42 (41,58%)	36 (35,65%)	23 (22,77%)	<0,005
GC	4 (14,81%)	8 (29,63%)	15 (55,56%)	
CC	0	0	3 (100%)	

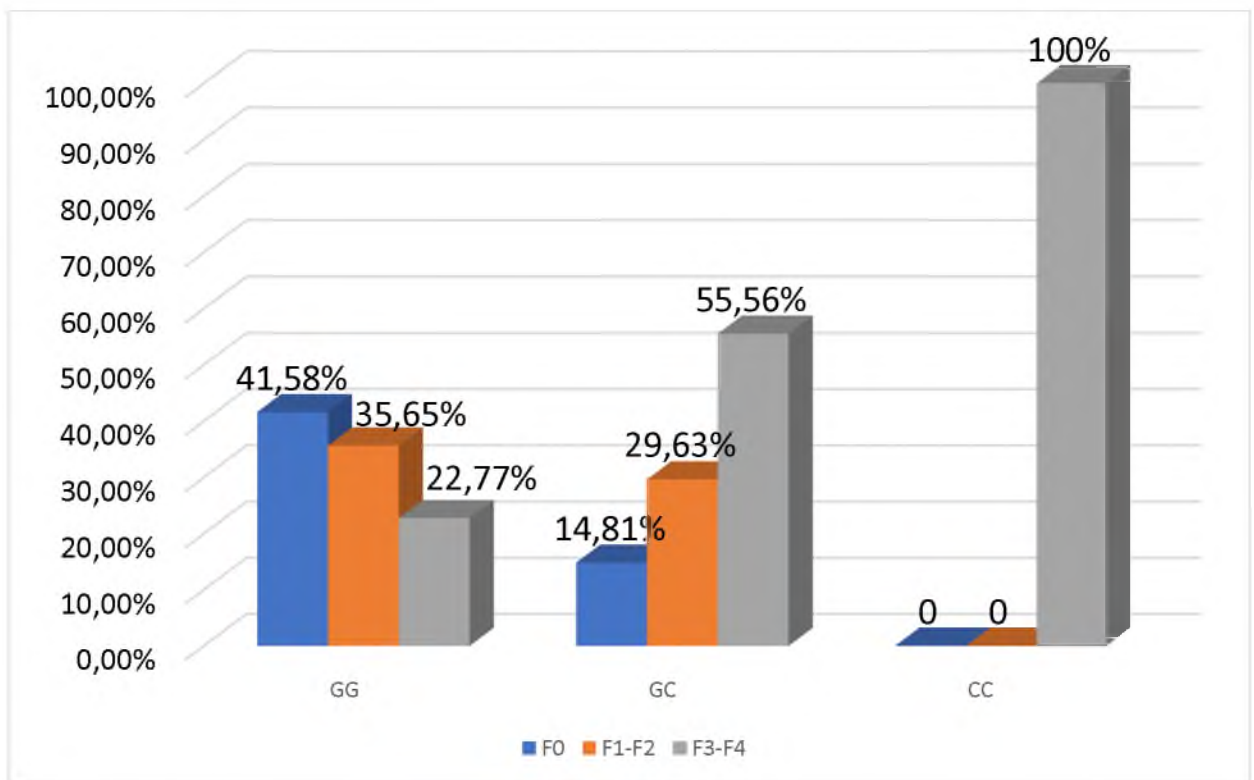


Рис. 5.2 – Вираженість фібротичних змін у хворих з ХГС при поліморфізмі +3725 G/C гена TLR4

Примітка:  $r(\text{Spearman})=0.97$ ;  $p<0,0001$  – кореляційний зв'язок між ступенем фіброзу та поліморфізмом +3725 G/C гена TLR4

Нами було виявлено, що усі пацієнти монозиготні носії алелю С (генотип CC) мали виражений ступінь фіброзу (F4). При аналізі залежності вираженості фібротичних змін печінки у хворих на ХГС з різними варіантами поліморфізму +3725 G/C гена TLR4 було виявлено сильний кореляційний зв'язок ( $r(\text{Spearman})=0.97$ ;  $p<0,0001$ ) вираженого фіброзу (F 3-4) з алелем С як в моно- так і в гетерозиготних варіантах генотипів TLR4 (рис. 5.2).

Таблиця 5.4. - Залежність ступеню фіброзу печінки у хворих на ХГС від поліморфізму +3725 G/C гену TLR-4

Локус	Генотип	F 3-4		F 1-2		F 0		Відношення шансів			
		n	f	n	f	n	f	p	OR	ДІ 95%	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
+3725 G/C ген TLR4	GG	23	0,56	36	0,82	42	0,91	0.0001	0.09	0.02 – 0.37	
	GC	15	0,37	8	0,18	4	0,09		4,053	1,691-9,717	
	CC	3	0,07	0	0,00	0	0,00				
	Усього	41		44		46		-			
	* $\chi^2=5,991$ ; p = 0,027										
	Алель G	61	0,74	80	0,91	84	0,95	-			
	Алель С	21	0,26	8	0,09	4	0,05	-			
**p=0,029											

Примітки: n – абсолютна кількість, f – частота, ДІ – довірчий інтервал

\*Непараметричний тест Крускала-Уоліса

\*\*Парний t-тест

Також за результатами порівняння розподілу генотипів за алельним варіантом +3725 G/C гена TLR4 у пацієнтів з різним ступенем фіброзу з використанням точного двостороннього тесту Фішера було встановлено, що частота носіїв алелю +3725 С (генотипи GC та CC) була достовірно ( $p < 0,05$ ) вищою в групі пацієнтів з більш тяжким ступенем фіброзу порівняно з групою пацієнтів з легким ступенем фіброзу (таблиця 5.4).



За розрахунками показника відношення шансів, встановлено, що індивіди-носії алеля +3725 С гена TLR4 мають в 4 рази вищий ризик розвитку тяжкого ступеню фіброзу (OR = 4,053; ДІ 95%: 1,691 - 9,717).

### **5.3. Ефективність протівірусної терапії у хворих на хронічний гепатит С з різними поліморфними варіантами +3725 G/C гену TLR4**

Повний курс протівірусної терапії (ПВТ) та 24-тижневий період спостереження, було проведено 111 пацієнтам. Вибір препаратів та тривалості лікування залежав від генотипу ВГС та наявності цирозу печінки у пацієнта. Усі проліковані пацієнти мали генотип 1b. Загальна тривалість протівірусної терапії препаратами Софосбувір/Ледіпасвір складала 12-24 тижні: пацієнти без цирозу – 12 тижнів та 24 тижні – з цирозом печінки.

Вік усіх пацієнтів коливався від 26 до 72 років та в середньому становив середній вік  $43,8 \pm 0,84$  року. Згідно розподілу за статтю в усіх групах в середньому в 2 рази переважали чоловіки (78 осіб – 70,27%). Згідно даних епідеміологічного анамнезу визначено, що у групі пацієнтів монозиготних носіїв алелю +3725 G гену TLR4 тривалість захворювання на ХГС варіювала від 3 до 18 років (у середньому –  $9,88 \pm 2,69$  років), а вік на момент інфікування був від 17 до 57 (у середньому –  $26,39 \pm 1,83$  року), у групі пацієнтів гетерозиготних носіїв алелю +3725 G/C гену TLR4 тривалість захворювання на ХГС в середньому складала  $7,53 \pm 1,71$  років, а вік на момент зараження був від 23 до 36 років (у середньому –  $28,52 \pm 2,27$  років), серед монозиготних носіїв алелю +3725 С гену TLR4 тривалість захворювання на ХГС визначалася в межах від 7 до 15 років (у середньому –  $8,97 \pm 1,46$  років), вік на момент інфікування в середньому –  $31,13 \pm 3,42$  років (таблиця 5.5).

Таблиця 5.5. - Загальна характеристика хворих на ХГС з різними генотипами +3725 G/C гену TLR-4 перед початком ПВТ

Показник		Генотип			p
		GG n=83	GC n=25	CC n=3	
Стать Чоловіки/жінки		59/24 71,08%/28,9 2%	17/8 68%/32%	2/1 66,67%/33,3 3\$	p>0,05
Середній вік		43,41±0,91	42,84±0,78	40,47±0,88	p1>0,05 p2<0,05 p3>0,05
Вік на момент інфікування		26,39 ± 1,83	28,52 ± 2,27	31,13 ± 3,42	p>0,05
Тривалість захворювання		6,88 ± 2,69	7,53 ± 1,71	8,97 ± 1,46	p>0,05
Рівень вірусного наванта- ження	низький (<600000 МО/мл)	49 (59,04%)	6 (24%)	0	p1<0,001 p2<0,001 p3<0,01
	високий (≥600000 МО/мл)	34 (40,96%)	19 (76%)	3 (100%)	p1<0,001 p2<0,001 p3<0,01
Середнє вірусне навантаження МО/мл		150042,36± 108965,29	1200024,6 8± 230086,31	27000118,6 8± 1604925,73	p1<0,001 p2<0,001 p3<0,001
Фіброз	F0-F2	60 (72,29%)	10 (40%)	0	p1<0,01 p2<0,001 p3<0,001
	F3-F4	23 (27,71%)	15 (60%)	3 (100%)	p1<0,001 p2<0,01 p3<0,001
АЛТ Од/л		56.19±3.31	116.68± 9.33	144.56± 22.01	p1<0,001 p2<0,001 p3>0,05
АСТ Од/л		44.35±2.46	77.23± 7.07	100.46± 11.79	p1<0,001 p2<0,001 p3>0,05

**Примітка:**

p1 – різниця між GG і GC

p2 – різниця між GC і CC

p3 – різниця між GG і CC

Рівень вірусного навантаження у пацієнтів, що отримали лікування був в межах від 2700 до 46500000 МО/мл (в середньому за всіма групами –

1106384,39±1840182,76 МО/мл). Пацієнти з високим рівнем вірусного навантаження ( $\geq 600000$  МО/мл) переважали у групах осіб, що є носіями алелю +3725 С (генотипи GC та CC) (таблиця 5.5).

Перед початком противірусної терапії підвищений рівень АЛТ спостерігалось у переважної більшості пацієнтів (95 осіб – 85,59%), у 16 хворих (3,1%) рівень активності АЛТ був у нормі. Середній рівень АЛТ серед усіх хворих становив  $70.63 \pm 7.84$  Од/л (таблиця 5.5).

За ступенем виразності фіброзних змін усіх пацієнтів було поділено на дві групи: пацієнти без фіброзу, з мінімальним або помірним фіброзом (F0-F2) та пацієнти з вираженим фіброзом або цирозом печінки (F3-F4). Серед осіб носіїв алелю +3725 С гену TLR4 (генотипи GC та CC) спостерігалось найбільше хворих з вираженим фіброзом або цирозом (F3-F4) (60% та 100% відповідно) (таблиця 5.5).

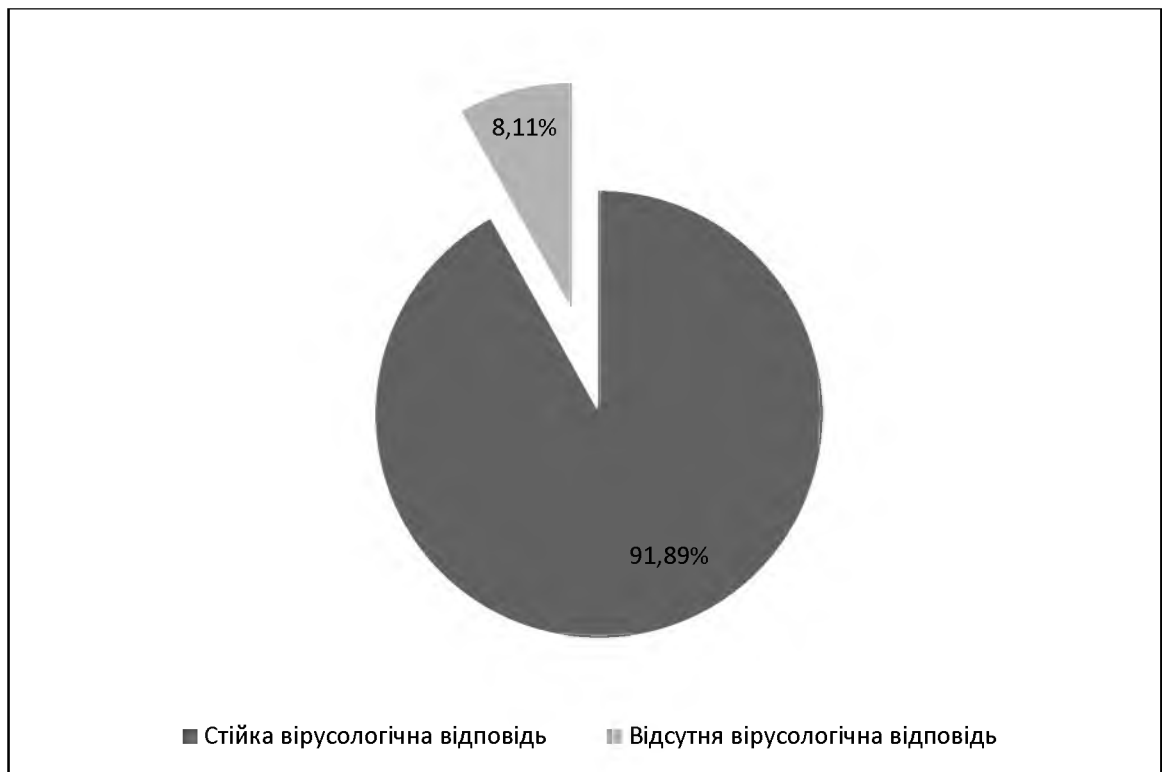


Рис. 5.3 – Розподіл хворих з ХГС залежно від результату ПВТ.

Переважає більшість пролікованих пацієнтів змогли досягти стійкої вірусологічної відповіді (91,89%), але для 9 пацієнтів (8,11%) проведена противірусна терапія виявилась не ефективною (рис. 5.3).

Частка нон-респондерів була достовірно ( $p < 0,05$ ) вищою серед пацієнтів носіїв алелю +3725 С гена TLR4 (генотипи GC та CC) – 77,8% з усіх що не отримали відповідь на лікування були носіями даного алелю. Нами було встановлено що пацієнти з генотипом GG достовірно частіше в 40,5 разів отримують СВВ при проведенні ПВТ у хворих на ХГС ніж невдалий результат. Серед осіб з генотипом GC СВВ настає в 4 рази частіше а ніж її відсутність. Враховуючи малу вибірку пацієнтів з генотипом CC дані щодо наявності або відсутності СВВ не є достовірними. Отже можна вважати що наявність алелю G має протективні властивості щодо досягнення СВВ після ПВТ (табл. 5.6).

Таблиця 5.6. - Розподіл пацієнтів з різними генотипами +3725 G/C гену TLR-4 за наявністю вірусологічної відповіді після ПВТ

Генотип	Стійка вірусологічна відповідь (n=102)	Відсутня вірусологічна відповідь (n=9)	p
Генотип GG	81 (97,59%)	2 (2,41%)	<0,001
Генотип GC	20 (80%)	5 (20%)	<0,05
Генотип CC	1 (33,33%)	2 (66,67%)	>0,05

Нами не було виявлено достовірної різниці в частоті отримання СВВ при проведенні ПВТ у хворих на ХГС з різними генотипами +3725 G/C гена TLR4 в залежності від вірусного навантаження. Однак, було встановлено, що переважна більшість пацієнтів (77,78%), які не отримали СВВ мали високий рівень вірусного навантаження пред початком проведення ПВТ (таблиця 5.7).

Таблиця 5.7. - Розподіл хворих на ХГС з різними генотипами +3725 G/C гену TLR-4 за рівнем вірусного навантаження до початку противірусної терапії залежно від результату ПВТ

Показник		генотип GG		генотип GC		генотип CC	
		стійка ВВ (n=81)	відсутня ВВ (n=2)	стійка ВВ (n=20)	відсутня ВВ (n=5)	стійка ВВ (n=1)	відсутня ВВ (n=2)
Рівень вірусно го навант аження	низький ( $<600000$ МО/мл)	48 (59.26%)	1 (50%)	5 (20%)	1 (20%)	0	0
	високий ( $\geq 600000$ МО/мл)	33 (40.74%)	1 (50%)	15 (80%)	4 (80%)	1 (100%)	2 (100%)

Примітка:  $p > 0,05$

Таблиця 5.8. - Показники рівня вірусного навантаження у хворих на ХГС з різними генотипами +3725 G/C гену TLR-4 залежно від результату ПВТ

Показник	генотип GG		генотип GC		генотип CC	
	стійка ВВ (n=81)	відсутня ВВ (n=2)	стійка ВВ (n=20)	відсутня ВВ (n=5)	стійка ВВ (n=1)	відсутня ВВ (n=2)
Середнє вірусне навантаження до початку ПВТ МО/мл	580296,3 ± 17962,88	951902,74 ± 100461,39 ***	892769,71 ± 188347,46	2769313,12 ± 1008764,65 **	8700000	25460074,22 ± 9735829,51 **
Середнє вірусне навантаження після ПВТ МО/мл	0	1427,52± 117,33 ***	0	2604,82± 314,71 ***	0	3734,39± 107,22 *

Примітка: \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$

Середній показник вірусного навантаження до початку ПВТ в групі пацієнтів, які не відповіли на терапію, був в 1,6-3,1 рази вищим залежно від генотипу +3725 G/C гена TLR4. Після завершення курсу ПВТ у пацієнтів нон-респондерів спостерігалось значне зниження середнього рівня вірусного навантаження, однак у пацієнтів-носіїв рецесивного алелю +3725 C гена TLR4 цей показник визначався дещо вищим ніж у пацієнтів монозиготних носіїв алелю +3725 G гена TLR4 (таблиця 5.8).

Було встановлено, що у переважної більшості хворих (70 осіб – 68,63%) на ХГС, у яких була отримана СВВ спостерігалися або відсутні фібротичні зміни в печінці (F0) або початкові стадії фіброзу. Таких пацієнтів було в 2,26 рази більше, ніж хворих з вираженим фіброзом/цирозом печінки (F3 - F4). І навпаки, серед нон-респондерів, за нашими даними, не було виявлено жодного пацієнта зі ступенем фіброзу печінки F0 - F2, а хворих з вираженим фіброзом/цирозом печінки (F3 - F4) - у 3,3 рази більше, ніж серед респондерів (таблиця 5.9).

Таблиця 5.9. - Розподіл хворих на ХГС з різними генотипами +3725 G/C гену TLR-4 за ступенем фіброзу залежно від результату ПВТ

Показник		генотип GG		генотип GC		генотип CC	
		стійка BB (n=81)	відсутня BB (n=2)	стійка BB (n=20)	відсутня BB (n=5)	стійка BB (n=1)	відсутня BB (n=2)
Фіброз	F0-F2	60 (74.07%) *	0	10 (50%) *	0	0	0
	F3-F4	21 (25.93%)	2 (100%)*	10 (50%)	5 (100%)*	1 (100%)	2 (100%)

\*p<0,001

Перед початком противірусної терапії у нон-респондерів, спостерігалися достовірно вищі рівні окремих показників синдрому цитолізу. Так, рівень АЛТ у таких пацієнтів в групі монозиготних носіїв алелю +3725 G гена TLR4 (генотип GG) був в 1,26 разів вищим порівняно з аналогічним показником серед респондерів. У групі пацієнтів з генотипом GC рівень АЛТ у пацієнтів що досягли СВВ визначався у 1,23 вищим ніж у тих що отримали невдачу у лікуванні, а у пацієнтів з генотипом CC ця різниця була вище в 1,4 рази (таблиця 5.10).

Різниці в рівні АСТ в сироватці крові в групах хворих на ХГС з різними генотипами гена TLR4 в залежності від відповіді на ПВТ встановлено не було.

Таблиця 5.10. - Показники маркерів цитолізу до початку противірусного лікування у хворих на ХГС з різними генотипами +3725 G/C гену TLR-4 за залежно від результату ПВТ

Показник	генотип GG		генотип GC		генотип CC	
	стійка ВВ (n=81)	відсутня ВВ (n=2)	стійка ВВ (n=20)	відсутня ВВ (n=5)	стійка ВВ (n=1)	відсутня ВВ (n=2)
АЛТ Од/л	55,92± 3,08	69.21± 4.46	102,44± 8,69	126.37± 6.21	107,4	152.25±2 3.18
АСТ Од/л	44.29± 3.11	42,85± 1,96	72.15±7. 13	80,05± 5,37	87,4	103.66± 13.09

$p < 0,05$

Після завершення курсу ПВТ у більшості пацієнтів, що досягли СВВ спостерігалася нормалізація рівнів печінкових трансаміназ (АЛТ - 32,17±2,89 Од/л, АСТ - 30.26± 2.18 Од/л), достовірної різниці даних показників між групами пацієнтів з різними генотипами гена TLR4 встановлено не було.

У пацієнтів нон-респондерів також спостерігалось значне зниження середніх рівнів активності АЛТ та АСТ, так у групі пацієнтів-носіїв генотипу GG середній рівень АЛТ знизився у 1,5 рази порівняно з вихідним рівнем а рівень АСТ у 1,26 рази, у групі пацієнтів-носіїв генотипу GC середній рівень АЛТ знизився у 2,68 рази, а рівень АСТ у 2,2 рази та у групі пацієнтів-носіїв генотипу CC рівень АЛТ знизився у 3,76 рази, а рівень АСТ у 2,88 рази (таблиця 5.11).

Таблиця 5.11. - Показники маркерів цитолізу після проведеного противірусного лікування у хворих на ХГС з різними генотипами +3725 G/C гену TLR-4 за залежно від результату ПВТ

Показник	генотип GG		генотип GC		генотип CC	
	стійка ВВ (n=81)	відсутня ВВ (n=2)	стійка ВВ (n=20)	відсутня ВВ (n=5)	стійка ВВ (n=1)	відсутня ВВ (n=2)
АЛТ Од/л	32,17±2, 89	46.44± 1.37 ***	33,41± 5,73	47.23± 3.38 *	36	40,50±3. 16**
АСТ Од/л	30.26± 2.18	33,92± 1,66**	31.12± 3.06	36,51± 5,92**	33	36.05± 3.28*

\* - <0,05; \*\* - <0,01; \*\*\* - <0,001

За результатами порівняння розподілу генотипів за варіантами алельного поліморфізму +3725 G/C гена TLR4 у пацієнтів з ХГС, що отримали противірусну терапію, при використанні точного двостороннього тесту Фішера було встановлено, що частота носіїв алелю +3725 G (генотипи GG та GC) була достовірно ( $p < 0,001$ ) вищою в групі пацієнтів респондерів порівняно з групою пацієнтів, що не отримали ССВ. За розрахунками показника відношення шансів, встановлено, що індивіди-носії алеля +3725G гена TLR4 мають в 13 разів вищий шанс отримати СВВ при проведенні противірусної терапії (OR = 13,5; ДІ 2.61, 69.81) (таблиця 5.12).



Таблиця 5.12. - Залежність частоти досягнення СВВ після ПВТ у хворих з ХГС від поліморфізму +3725 G/C гену TLR-4

Локус	Генотип	Пацієнти зі стійкою вірусологічною відповіддю		Пацієнти з відсутньою вірусологічною відповіддю		Відношення шансів			
		n	f	n	f	p	OR	ДІ 95%:	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	
+3725 G/C ген TLR4	GG	81	0.79	2	0.22	p<0,001	13,5	(2.61, 69.81)	
	GC	20	0.2	5	0.46		0.07	(0.01, 0.38)	
	CC	1	0.01	2	0.22				
	Усього	102	-	9	-	-			
	$\chi^2=11,469$ ; p <0,001								
	Алель G	182	0.89	9	0.5	-			
	Алель C	22	0.11	9	0.5	-			
	Усього	204	-	18	-	-			
	$\chi^2=18,035$ ; p <0,001								

**Примітка:** n – абсолютна кількість, f – частота, ДІ – довірчий інтервал

### Резюме:

Серед носіїв алелю С +3725 G/C гена TLR4 частка пацієнтів з високим вірусним навантаженням склала 73,3%, що було достовірно більш ніж в двічі більше кількості пацієнтів з низьким вірусним навантаженням.

Нами було встановлено, що індивіди-носії алеля +3725 С гена TLR4 (генотипи GC та CC) мають більше ніж в чотири рази вищий ризик мати високий рівень вірусного навантаження (OR = 4,16; ДІ 95%: 1,701 - 10,172) ніж монозиготні носії алелю +3725 G (генотип GG).

Алель С +3725 G/C гена TLR4 в моно- і гетерозиготних варіантах генотипів асоціюється з виникненням вираженого фіброзу (F 3-4) у хворих на ХГС ( $r(\text{Spearman})=0.97$ ;  $p<0,0001$ ).

Встановлено, що індивіди-носії алеля +3725 С гена TLR4 (генотипи GC та CC) мають в 4 рази вищий ризик розвитку тяжкого ступеню фіброзу (OR = 4,053; ДІ 95%: 1,691 - 9,717) ніж монозиготні носії алелю +3725 G (генотип GG).

77,8% з усіх пацієнтів що не досягли стійкої вірусологічної відповіді були носіями алелю +3725 С гена TLR4 (генотипи GC та CC) ( $p<0,05$ ).

Серед нон-респондерів, усі пацієнти були з вираженим фіброзом/цирозом печінки (F3 - F4).

За розрахунками показника відношення шансів, встановлено, що хворі на ХГС з 1b генотипом індивіди-носії алеля +3725G гена TLR4 мають в 13 разів вищий шанс отримати СВВ при проведенні противірусної терапії (OR = 13,5; ДІ 2.61, 69.81).

Основні положення даного розділу висвітлений у опублікованих працях здобувача: [3, 4, 31, 56]

## АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ

Вірусний гепатит С наразі є однією з найактуальніших проблем сучасної інфектології та гепатології у зв'язку із значною поширеністю, частою хронізацією та важкими наслідками, що впливають на життєвий прогноз у таких пацієнтів [76, 77, 117]. Наразі в світі зареєстровано близько 200 млн. осіб інфікованих вірусом гепатиту С, з них більше як 70 млн. мають хронічний гепатит С. На даний час в Україні близько 5% населення інфіковані ВГС і лише 6,5% з них перебуває під медичним спостереженням. На сьогодні в Україні на тлі зменшення реєстрації нових випадків гострого гепатиту С відмічається зростання кількості випадків хронічного гепатиту С. На сучасному етапі зростання захворюваності на ВГС зумовлене частішим залученням до епідемічного процесу осіб репродуктивного та працездатного віку, а також зміною структури основних шляхів передачі. Через відсутність ефективної системи епідеміологічного нагляду питання реальної поширеності гепатиту С в Україні стоїть надзвичайно гостро та потребує подальшого вивчення [8, 10, 43, 101, 131].

Попри значні досягнення в діагностиці та лікуванні вірусного гепатиту С, досі спостерігається зростання кількості хворих з важкими ускладненнями хронічного гепатиту С у вигляді цирозу печінки та гепатоцелюлярної карциноми [74]. Згідно даних ВООЗ дані захворювання входять в першу десятку основних причин смертності в країнах з середнім рівнем достатку. Основними критеріями що впливають на важкість перебігу хронічного гепатиту С та розвиток його ускладнень вважаються: тривалість інфікування, вираженість клінічних ознак ураження печінки, наявність позапечінкових проявів, зміни біохімічних показників (АлАТ, АсАТ, білірубін, ГГТ, лужна фосфатаза, альбумін, протромбіновий індекс тощо), високе вірусне навантаження, наявність фіброзних змін печінки а також супутніх захворювань.

Останнім часом особливу увагу приділяють вивченню індивідуальних генетичних факторів при хронічному гепатиті С, які, з одного боку, можуть впливати на індивідуальні особливості перебігу захворювання, а з іншого - служити маркером для прогнозування перебігу хвороби та відповіді на терапію. Перспективним на сьогодні є визначення та дослідження факторів вродженого імунітету людини, що впливають на формування імунної відповіді, оскільки вроджений імунітет першим реагує на проникнення патогенів, а в свою чергу активація адаптивного імунітету займає декілька днів. Одним з таких факторів є TLRs рецептори. Дані рецептори здатні реагувати як на зовнішні патоген-асоційовані паттерни (PAMPs) так і на внутрішні (DAMPs), що вивільнюються клітинами у відповідь на стрес або травми. Окрім формування вродженої імунної відповіді на проникнення збудників інфекційних захворювань, TLR-залежна сигналізація також впливає на активацію адаптивного імунітету [86, 94, 135]. На сьогодні відомі десять TLRs рецепторів людини, що розташовуються в різних структурах клітини. TLR4 рецептор один з найперший відкритих з родини TLR рецепторів, знаходиться на поверхні клітин селезінки, лейкоцитів, моноцитів, макрофагів, деяких типів Т-клітин та кодується геном TLR4. На сьогодні визначено більше 600 поліморфних варіантів, з яких більшість припадає на 3'-некодууючу частину гену TLR4. Згідно з вже отриманими науковцями даними поліморфні варіанти TLR4 можуть бути асоційовані з різними інфекційними та неінфекційними патологіями, впливати на їх перебіг та наслідки. За даними ряду авторів добре вивчені поліморфізми Asp299Gly та Thr399Ile впливають на формування ХГС та ХГВ, їх клінічний перебіг а також розвиток цирозу печінки та ГЦК. Існують дані що наявність мінорного алеля поліморфного варіанту rs2149356 у пацієнтів з хронічним гепатитом С знижує ризик формування ГЦК [16, 65, 66, 97, 103, 104, 112]. А. Penas-Steinhardt, et al. встановили здатність мононуклеотидної заміни +3725 G\C (rs11536889) впливати на стабільність мРНК, змінюючи рівні експресії генів і відповідь LPS та/або інших ендогенних лігандів, що в свою чергу може

призводити до зниження регуляції запальної відповіді. Однак даних щодо властивостей поліморфізму rs11536889 особливо при вірусних гепатитах є не багато, тому подальші дослідження даного поліморфізму є актуальними.

Єдиним ефективним методом лікування ХГС та запобігання розвитку його ускладнень є призначення протівірусної терапії. Останнім часом спостерігаються значні досягнення сучасної медицини та фармакології у розробці нових більш дієвих препаратів для лікування ХГС. На сьогодні на ринку існують та активно застосовуються препарати прямої протівірусної дії, які призначаються у різних комбінаціях та мають ефективність близько 95%, що в рази перевищує ефективність раніше використовуваних схем подвійної ПВТ із застосуванням пег-ІФН та рибавіріну (досягнення СВВ спостерігалось лише у 40 – 50 % хворих) [9, 12, 15, 22, 25]. Однак в світі лише близько 7,4% хворих з хронічним ВГС мають доступ до лікування. Затвердження Постанови КМУ No 637 від 29.04.2013 р. «Державна цільова соціальна програма профілактики, діагностики та лікування вірусних гепатитів на період до 2016 року» та підтримка МОЗ України глобальної стратегії ВООЗ з елімінації вірусних гепатитів на період 2016-2021 рр. відкриває більш широкі можливості доступу до діагностики та лікування хворих в Україні, але лише не значно покриває потреби. Тому визначення ризиків важкого перебігу захворювання та розвитку ускладнень має бути пріоритетним при призначенні лікування [10, 11, 26, 33, 37].

Використання в лікуванні повністю безінтерферонових схем ПВТ із застосуванням інгібіторів полімерази NS5A (ледіпасвір) та NS5B (софосбувір) у хворих з 1b генотипом віруса за даними різних клінічних досліджень показало високу частоту досягнення СВВ (90 - 96%) при наявності мінімальних небажаних явищ, що в свою чергу сприяє більшій прихильності пацієнтів до лікування [15, 21, 37, 69, 70]. Але зважаючи на вартість лікування та обмежений вибір препаратів варто визначати та враховувати ризики відсутності ССВ.

Отже головною метою нашого дослідження було обрано підвищити ефективність діагностики та лікування ХГС шляхом визначення поліморфізму +3725 G\C (rs11536889) гену TLR-4. Також до числа пріоритетних завдань, які підлягали розв'язанню було віднесено визначення епідеміологічних особливостей поширення ХГС у Рівненській області, встановлення клінічних особливостей перебігу ХГС та змін основних біохімічних показників залежно від поліморфізму гену TLR-4, визначення наявності зв'язку між поліморфізмом гену TLR-4 та розвитком фіброзних змін печінки у хворих на ХГС.

Нами було проаналізовано дані амбулаторних карт пацієнтів, що знаходились на диспансерному спостереженні у Рівненському обласному лікувально-діагностичному гепатологічному центрі на кінець 2019 року та річні звітні статистичні форми МОЗ України за період 2015 – 2019 років.

За період спостереження показник захворюваності на гострий гепатит С по місту Рівне та області фіксувався на досить низькому рівні та був в середньому в 1,7-2 рази нижчим ніж в цілому по Україні. За результатами аналізу Хоронжевської І.С та інших подібна тенденція почала проявлятися починаючи з 2010 року. Також захворюваність на вперше виявлений хронічний гепатит С в Рівненській області не перевищувала такий показник по Україні (10,28 на 100 тис. проти 12,25 на 100 тис. населення). В період з 2016 по 2018 роки спостерігалось зниження рівня захворюваності на ХГС з мінімальним значенням 6,38 на 100 тис. населення, однак вже у 2019 році цей показник почав наближатися до рівня загальнодержавного (10,8 а 100 тис. населення). Поряд з цим за період спостереження починаючи з 2016 року визначається постійне збільшення показника захворюваності на НCV-індукований цироз печінки як в місті так і в області, однак рівень захворюваності на цироз печінки в місті Рівне в 1,2 рази перевищував такий показник по області та по Україні (16,7 на 10 тис. населення, 13,5 на 10 тис. населення та 13,4 на 10 тис. населення відповідно). На диспансерному спостереженні у 2019 перебувало 3607 пацієнтів з ХГС, що в 2,7 рази

перевищує показник диспансеризації у 2013 році та в 2 рази аналогічний показник у 2016 році. Таке різке збільшення показника диспансеризацій може бути пов'язано із впровадженням державних програм щодо збільшення доступності діагностики та лікування такої когорти пацієнтів. Щодо територіальної поширеності то найвищі показники захворюваності визначалися в обласному центрі та прилеглих районах а також у північних районах, що ймовірно пов'язано із соціально-економічними чинниками (наявність великих підприємств, пенітенціарних закладів, незаконний видобуток бурштину), а найнижчі показники захворюваності спостерігалися у західних та центральних районах області, що в свою чергу може бути пов'язано з міграційними процесами, недостатнім рівнем первинної діагностики та культурно-релігійними особливостями.

Серед усіх захворівших за статтю переважали чоловіки (56,64%) віком від 20 років до 39 років (61,6%). При аналізі структури генотипів HCV преvalюють субтипи 1b HCV (59,9%) та 3a HCV (29,1%). Порівняно з даними проведених досліджень у 2008 – 2013 рр. (Хоронжевська І. С. та співавтори, 2013 р.) прослідковується збереження частки переважного виявлення субтипу вірусу 1b (59,9% у 2019 році та 56,12% у 2010 році), збільшення частки виявлення субтипу вірусу 3a в 1,5 рази ( 29,1% у 2019 році проти 19,43% у 2010 році), зменшення частки нетипованих випадків у 1,96 рази (5,5% у 2019 році проти 10,79% у 2010 році) та збільшення частки інших варіантів генотипів (1a – 1,7% та 2 – 3,8%).

Під нашим спостереженням знаходились 131 хворий, що проходили стаціонарне лікування у Рівненському обласному лікувально-діагностичному гепатологічному центрі протягом 2016-2018 рр. Усі обстеженні були віком від 26 років до 72 років (середній вік  $43,8 \pm 0,84$ ), групу контролю склали 48 практично здорових осіб віком від 22 до 56 років (середній вік  $30,7 \pm 1,36$ ). Усім хворим та здоровим особам було визначено поліморфізм +3725 G/C (rs11536889) гену TLR-4.

При аналізі поліморфізму +3725 G\C (rs11536889) гену TLR-4 у групах порівняння ми не виявили достовірної різниці у розповсюдженості поліморфізму +3725 G/C гену TLR-4 серед хворих на ХГС та здорових осіб ( $p=0,73$ ). Однак як серед хворих так і серед здорових осіб генотип G/G (77,10% та 79,17%) зустрічався в 4 рази частіше ніж генотип G/C (20,61% та 18,75%) та більш як в 34 рази ніж генотип C/C (2,29% та 2,08%), що не суперечить раніше отриманим даним А. Penas-Steinhardt, et al. Також залежність частоти виявлення поліморфізму +3725 G/C гену TLR-4 від статі та віку серед досліджуваних в обох групах не мала достовірної різниці.

Ми визначили зв'язок появи основних клінічних проявів з поліморфізмом +3725 G/C гену TLR-4. Нами було виявлено, що пацієнти-носії генотип C/C мають достовірно більш виражені прояви астеновегетативного (підвищена втомлюваність та головний біль з достовірністю  $p<0,05$ ), диспепсичного (важкість у правому підребер'ї  $p<0,05$ ), холестатичного (субіктеричність склер та шкіри, свербіж шкіри  $p<0,05$ ), геморагічного (кровоточивість ясен, носові кровотечі  $p<0,001$ ) синдромів порівняно з пацієнтами з генотипом G/G. Така ж залежність спостерігалась і серед осіб з генотипом G/C, також серед цих пацієнтів достовірно частіше виявлялися прояви гепато-спленомегалії ( $p<0,05$ ). Враховуючи отримані дані можна дійти висновку що наявність алелю C сприяє більш важкому клінічному перебігу хронічного гепатиту С.

Вивчаючи основні біохімічні маркери різних синдромів ураження печінки ми встановили, що у пацієнтів з ХГС при наявності мутантного алелю С +3725 G/C гену TLR-4 (генотипи G/C та C/C) з достовірністю  $p<0,001$  показники синдрому цитолізу такі як АлАТ, АсАТ та ЛДГ мають вищі рівні ніж у пацієнтів монозиготних носіїв алелю G (генотип GG). Високі рівні показників синдрому холестазу (загальний білірубін, ГГТ, ЛФ), та зниження рівня маркерів печінково-клітинної недостатності (загальний білок, альбумін) також були асоційовані з наявністю алелю С +3725 G/C гену TLR-4 з достовірністю  $p<0,01$ . Схожі дані щодо наявності впливу поліморфізму



+3725 G\C (rs11536889) на основні біохімічні маркери що свідчать про ураження печінки, але у пацієнтів з гепатитом А були опубліковані P. Kashyap, et al. Також ми встановили носії алеля С гена TLR4 мають ризик розвитку більш вираженого ступеню активності запального процесу вищий в 13 разів ніж моозиготні носії алелю G ( $p < 0,0001$ ).

За розрахунком відношення шансів було визначено, що носії алеля +3725 С гена TLR4 (генотипи G/C та C/C) мають в 4 рази вищий ризик виникнення високого вірусологічного навантаження.

Нами була проведена оцінка ступеню фіброзних змін печінки при наявності поліморфізму +3725 G\C (rs11536889). Було виявлено, що наявність алелю С гена TLR4 (генотипи G/C та C/C) пов'язана зі схильністю до розвитку вираженого фіброзу ( $p < 0,0001$ ). Ризики у таких пацієнтів вищі в 4 рази ніж у осіб з генотипом GG. Дослідження впливу поліморфізму +3725 G\C (rs11536889) гена TLR4 проводились серед пацієнтів з алкогольним цирозом, отримані результати на мали суттєвих відмінностей від наших. Згідно всього вищевикладеного ми зробили висновок що поліморфізм +3725 G\C (rs11536889) гена TLR4 має суттєвий вплив на перебіг ХГС.

Також ми провели оцінку ефективності протівірусної терапії препаратами софосбувір/ледіпасвір у пацієнтів з різними поліморфними варіантами rs11536889 гена TLR4. Більшість з наших пацієнтів, що отримували ПВТ мали несприятливий перебіг ХГС (високу активність цитолітичних ферментів, виражений ступінь фіброзу, високий рівень вірусного навантаження). У переважної більшості пролікованих (92%) була отримана СВВ. Однак 9 пацієнтів не змогли досягнути СВВ. Нами були визначені ризики відсутності СВВ у пацієнтів з ХГС залежно від поліморфізму +3725 G\C (rs11536889) гена TLR4. За допомогою розрахунка показника відношення шансів, було виявлено, що хворі на ХГС з 1b генотипом HCV індивіди-носії алеля +3725C гена TLR4 мають в 13 разів вищий ризик невдачі при проведенні протівірусної терапії.

Отже, дані нашого дослідження щодо зв'язку поліморфізму +3725 G\C (rs11536889) гена TLR4 з перебігом ХГС дають поштовх до удосконалення методів діагностики а також розуміння щодо прогнозування перебігу ХГС та вибору тактики лікування. Однак існуючих даних щодо даної проблеми є недостатньо, тому необхідно продовжити подальші дослідження зі збільшенням вибірки хворих особливо з генотипом СС.

## ВИСНОВКИ

1. На сьогоднішній день епідемічний процес вірусного гепатиту С у Північно-Західному регіоні України має наступні особливості: протягом останніх 5 років спостерігається стабільно низький рівень захворюваності на гострий гепатит С (що в середньому 1,87 – 2,28 рази нижче ніж по Україні) на фоні зростання захворюваності на вперше виявлений хронічний гепатит С (реєструється в 10 разів частіше ніж ГГС) та цироз печінки. Поширеність ХГС по районах регіону є неоднорідною, що пов'язано із недостатнім рівнем первинної діагностики, соціально-економічними чинниками, міграційними процесами та культурно-релігійними особливостями. Спостерігаються зміни у віковій структурі, в бік помолодшання когорти інфікованих (серед інфікованих в 1,6 рази більше осіб віком до 39 років ніж осіб старше 50 років). Зміни у поширеності генотипів HCV характеризуються збільшенням частоти виявлення субтипу 3a та зменшенням частки нетипованих випадків.
2. Проведене дослідження встановило, що частота виявлення різних поліморфних варіантів +3725 G\C (rs11536889) гена TLR4 співставна з середньопопуляційним показником та не залежить від наявності захворювання ХГС, а також статі та віку. У контрольній групі генотип G/G виявлявся у 77,10% пацієнтів, генотип G/C – у 20,61% та генотип C/C лише 2,29% осіб.
3. Перебіг ХГС у хворих носіїв мінорного алелю С гену TLR4 супроводжується в 2,7 – 6,73 рази ( $p < 0,05$ ) більш виразними клінічними проявами астено-вегетативного синдрому, в 2,21 – 3,06 рази ( $p < 0,05$ ) диспептичного синдрому, в 1,64 – 8,42 рази ( $p < 0,05$ ) холестатичного та у 6,85 – 16,83 рази ( $p < 0,05$ ) геморагічного синдромів. Пацієнти з генотипами CC і GC rs11536889 +3725G/C гена TLR4 мають в 1,2 – 2,7 рази достовірно ( $p < 0,01$ ) важчий перебіг ХГС

за основними показниками цитолітичного, холестатичного синдромів та синдрому печінково-клітинної недостатності ніж індивіди носії генотипу GG. Наявність алелю C у поліморфних варіантах гену TLR4 має прямий кореляційний зв'язок значної сили із рівнем АЛТ ( $r=0,52$ ;  $p<0,05$ ) та рівнем загального білірубіну ( $r=0,56$ ;  $p<0,05$ ) а також зворотній кореляційний зв'язок помірної сили із рівнем загального білка ( $r=-0,34$ ;  $p<0,05$ ) та рівнем альбуміну ( $r=-0,51$ ;  $p<0,05$ ) за даними багатофакторного кореляційного аналізу. Незалежними предикторами активності запального процесу асоційованими з алелем C rs11536889 гену TLR4, є рівні АЛТ, альбуміну та загального білірубіну ( $p<0,05$ ).

4. Генетичний поліморфізм +3725 G/C гена TLR4 є фактором індивідуального прогресування фіброзу при ХГС. Алель C гена TLR4 в моно- і гетерозиготних варіантах генотипів асоціюється з розвитком вираженого фіброзу (F 3-4) у хворих на ХГС ( $r(\text{Spearman})=0.97$ ;  $p<0,0001$ ).
5. Серед хворих на ХГС, які не отримали СВВ на ПВТ було в 3,2 рази більше пацієнтів з вираженим фіброзом/цирозом печінки (F3 - F4) та в 2 рази більше пацієнтів з високим рівнем вірусного навантаження ніж серед тих що досягли СВВ. Більшість з пацієнтів (77,8%), що не досягли стійкої вірусологічної відповіді були носіями алелю +3725 C гена TLR4 ( $p<0,05$ ). За використання точного двостороннього тесту Фішера шанси досягнення СВВ у пацієнтів з ХГС з 1b генотипом були в 13 разів вищі серед індивідів-носіїв алеля +3725G гена TLR4 ніж серед носіїв алеля +3725C (OR = 13,5; ДІ 2.61, 69.81).
6. Пацієнти з алелем +3725 C гена TLR4 мають в 13 разів вищий ризик розвитку більш вираженого ступеню активності запального процесу (OR = 13,38; ДІ 95%: 5,15; 34,74) ніж монозиготні носії алелю G. Хворі-носії алеля +3725 C гена TLR4 (генотипи GC та CC) мають більше ніж в 4 рази вищий ризик мати високий рівень вірусного навантаження (OR = 4,16; ДІ 95%: 1,701 - 10,172) ніж монозиготні носії

алелю +3725 G (генотип GG). Нами було встановлено, що носійство алеля +3725 C гена TLR4 (генотипи GC та CC) підвищує ризик розвитку важкого ступеню фіброзу (OR = 4,053; ДІ 95%: 1,691 - 9,717) в 4 рази порівняно з монозиготними носіями алелю +3725 G (генотип GG).

## ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. При прогнозуванні важкості перебігу ХГС лікар-інфекціоніст та гастроентеролог можуть використовувати визначення поліморфних варіантів +3725 G\C (rs11536889) гена TLR4 у якості маркера підвищеного ризику високої активності запального процесу для вибору тактики патогенетичного та специфічного лікування ХГС.

2. У практичній діяльності лікарям-інфекціоністам, сімейним лікарям та гастроентерологам слід враховувати, що хворі на ХГС, які є носіями мінорного алелю +3725C (rs11536889) мають вищі ризики розвитку вираженого фіброзу та цирозу печінки тому їм необхідно частіше проводити контроль стадії фіброзу печінки та швидше розпочинати ПБТ.

3. При виборі оптимальної схеми лікування та прогнозуванні його ефективності варто враховувати результати генетичних досліджень: 1b генотип HCV та наявність мінорного алелю +3725C (генотипи GC та CC), гена TLR4, що асоціюються з високим ризиком недосягнення СВВ при проведенні ПБТ препаратами SOF/LDV, у зв'язку з чим слід розглядати призначення інших комбінацій препаратів.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Арсентьева, Н. А., Семенов, А. В., Любимова, Н. Е., Басина, В. В., Эсауленко, Е. В., Козлов, К. В., ... & Тотолян, А. А. (2015). Содержание цитокинов и хемокинов в плазме крови больных хроническим вирусным гепатитом С. *Российский иммунологический журнал*, 9(1), 83-92.
2. Бевз Т. І., Мороз Л. В. (2017). ОСОБЛИВОСТІ КЛІНІЧНОГО ПЕРЕБІГУ ХРОНІЧНОГО ГЕПАТИТУ С ПРИ ПОЛІМОРФІЗМІ ГЕНУ TLR4. Програма та тези терапевтичної конференції молодих вчених ВНМУ імені М. І. Пирогова клініки МКЛ №1 м. Вінниці, м. Вінниця, 2017 р. – С. 2.
3. Бевз, Т., Мартинюк, Г., Куляс, С., Попович, О., & Медведєва, Л. (2017). Особливості клінічного перебігу та прогнозу хронічного гепатиту С при поліморфізмі гену TLR4. Інфекційні хвороби в практиці лікаря-інтерніста: сучасні аспекти: матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції, м. Суми, 25-26 травня 2017 р. Редакційна колегія: Чемич М. Д., Ільїна В. В., Мороз Л. В. та ін. - Суми: СумДУ, 2017. - С. 29-31.
4. Бевз Т. І., Мороз Л. В., Мартинюк Г. А. (2019). Значення поліморфізму гена TLR4 як предиктора розвитку тяжкого фіброзу у хворих на хронічний гепатит С (стендова доповідь). *Актуальна інфектологія*, 7(2), 40-41.
5. Бевз Т. І., Мороз Л. В., Мартинюк Г. А. (2019). ЗАЛЕЖНІСТЬ ПРОГРЕСУВАННЯ ХРОНІЧНОГО ГЕПАТИТУ С ВІД ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНУ TLR4. Всеукраїнська науково-практична конференція інфекціоністів і пленум ГО “Всеукраїнська асоціація інфекціоністів” «ДІАГНОСТИКА, ЛІКУВАННЯ І ПРОФІЛАКТИКА ІНФЕКЦІЙНИХ ХВОРОБ У ПЕРІОД МЕДИЧНОЇ РЕФОРМИ», м. Кропивницький, 3-4 жовтня 2019 р. Члени редколегії: Андрейчин М. А., Васильєва Н. А., Голубовська О. А. та ін. – С. 9-11.
6. Васильев, С. Ю., Константинов, Д. Ю., & Попова, Л. Л. (2018). Новые подходы к диагностике фиброза печени у больных хроническим гепатитом С. *Наука и инновации в медицине*, (2), 15-18.

7. Гаврилюк А. О., Туманський В. О., Мороз Л. В. Клініко-морфологічна характеристика цирозу печінки у хворих на хронічний вірусний гепатит С, В та В+С. *Вісник морфології*. 2012. Т. 18, № 1. С. 114 – 120.
8. Гепатит С в Україні: епідеміологічна характеристика та оцінка тягаря (за результатами аналізу даних з різних джерел), 2018 URL : <https://www.phc.org.ua/sites/default/files/uploads/files/VGC-2018.pdf> (дата звернення: 24.02.2020).
9. Голубовська, О. А., Ліщишина, О. М., Андрейчин, М. А., Алексійчук, Л. В., Бацюра, Г. В., Безродна, О. В., ... & Юрченко, О. В. (2016). Уніфікований клінічний протокол первинної, вторинної (спеціалізованої), третинної (високоспеціалізованої) медичної допомоги: вірусний гепатит С у дорослих.
10. Голубовская, О. А. (2018). Международные усилия в преодолении эпидемии гепатита С и место Украины в глобальной стратегии ВОЗ по элиминации гепатитов в Европе. *Гепатология*, (3), 6-12.
11. Голубовская, О. А. (2017). Украина на пути элиминации вирусных гепатитов в Европе: достижения и перспективы. *Клиническая инфектология и паразитология*, 6(3), 270-275.
12. Голубовская, О. А. (2016). Применение комбинаций лекарственных средств для лечения пациентов с хроническим гепатитом С: обзор клинических исследований и особенности национальных стандартов терапии. *Клиническая инфектология и паразитология*, (3), 304-312
13. Гущина, Е. В., & Чередниченко, Т. В. (2013). Современные методы оценки фиброза печени. *Детские инфекции*, 12(1), 18-22.
14. Дзюблик, І. В., Сергєєва, Т. А., Бабій, Н. О., & Степанюк, С. В. (2018). Вірусні гепатити з парентеральним шляхом передачі: збудники, маркери інфекції, поширення та лабораторна діагностика/За ред. проф. Дзюблик ІВ. 236 с.
15. Дубинская, Г. М., Коваль, Т. И., Сизова, Л. М., Изюмская, Е. М., Котелевская, Т. М., Свириденко, Н. П., ... & Войтенко, Л. Л. (2016).



- Анализ эффективности противовирусной терапии хронического гепатита С у пациентов Полтавской области. *Клиническая инфектология и паразитология*. 2016. Т. 5. № 4. С. 440–448.
16. Дубинська Г. М., Сизова Л. М., Коваль Т. І., Ізюмська О. М. Вплив поліморфізму Asp299Gly гена TLR4 та Gln11Leu гена TLR7 на ефективність протівірусної терапії хронічного гепатиту С. *Гепатологія*. 2016. №2 (32). С.48-54.
17. Дубинська, Г. М., Сизова, Л. М., Коваль, Т. І., Ізюмська, О. М., Дубинская, Г. М., Сизова, Л. М., ... & Изюмская, Е. М. (2016). Вплив поліморфізму генів TLR4 та TLR7 на швидкість прогресування фіброзу печінки у хворих на хронічний гепатит С.
18. Дуда, А. К., Бойко, В. А., Агафонкина, И. Н., & Яковлева, А. В. (2015). Вирусный гепатит С: современные возможности диагностики (клиническая лекция). *Актуальная инфектология*, (4 (9)), 9-16.
19. Жебрун, А. Б., & Калинина, О. В. (2016). Вирусный гепатит С: эволюция эпидемического процесса, эволюция вируса. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*, (1), 102-112.
20. Жевнерова, Н. С., Антонова, Т. В., & Ковалева, В. А. (2016). Клинико-лабораторная характеристика хронического гепатита С на ранних сроках развития. *Ученые записки СПбГМУ им. ИП Павлова*, 23(4), 45-59.
21. Жданов, К. В., & Козлов, К. В. (2016). Клинические преимущества и экономическая эффективность противовирусной терапии у больных хроническим гепатитом С в условиях бюджетного здравоохранения. *ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии*, 8(2), 77-83.
22. Жданов, К. В., Козлов, К. В., & Сукачев, В. С. (2014). Эволюция противовирусной терапии хронических гепатитов В, С и D. *Журнал инфектологии*, 1(4), 23-35.
23. Жданов, К. В., Карякин, С. С., Козлов, К. В., Гусев, Д. А., Сукачев, В. С., Саулевич, А. В., ... & Джериев, М. А. (2018). Хронический гепатит С и неалкогольная жировая болезнь печени. Основные аспекты

- патогенеза. *Основные аспекты патогенеза. Вестн. Рос. воен.-мед. акад*, 61(1), 216.
24. Знойко, О. О., Дудина, К. Р., Козина, А. Н., Ленкова, Д. О., Калинина, О. В., & Ющук, Н. Д. (2016). Подводные камни при лечении больных хроническим гепатитом С, инфицированных генотипами 2 и 3 вируса гепатита С. *Инфекционные болезни: Новости. Мнения. Обучение*, (1 (14)), 108-113.
25. Калашник, К. В., Рябокони, О. В., Царьова, О. В., Рябокони, Ю. Ю., & Ялова, Г. В. (2019). Ефективність різних схем противірусної терапії хворих на хронічний гепатит С, інфікованих 1-м генотипом вірусу. *Інфекційні хвороби*, (2), 15-21.
26. Карабак, И. А., Лобзин, Д. Ю., & Карев, В. Е. (2020). Клинические и иммуноморфологические предикторы неблагоприятного течения хронического гепатита С. *Журнал инфектологии*, 12(2), 79-87.
27. Козько, В. М., Анциферова, Н. В., Соломенник, Г. О., Винокурова, О. М., & Пеньков, Д. Б. (2016). Біохімічні еквіваленти тяжкості фібротичних змін печінки у хворих на хронічний гепатит С. *Гепатологія*, (2), 31-39.
28. Кубарева І. В., Волкова А. В., Ноздріна А. А. (2019). Аналіз структури та динаміки соціально-медичних показників хронічного вірусного гепатиту С в Україні. *Фармацевтичний часопис*, (2), 87-93.
29. Кузнецов, Н. И., Романова, Е. С., & Старцева, Г. Ю. (2018). Современные принципы противовирусной терапии гепатита С. *Российский семейный врач*, 22(3), 23-27.
30. Кучеренко А. М., Мороз Л. В., Бевз, Т. І., Булавенко, В. І., Антипкін, Ю. Г., Березенко, В. С., Диба М. Б., П. В., Городна О. В., & Лівшиць Л. А. (2019). Дослідження поліморфізму rs11536889+ 3725G/C гена TLR4 у пацієнтів з автоімунним та хронічним вірусним гепатитом. *Цитологія и генетика*, 53(4), 41-49.
31. Кучеренко, А. М. (2015). Алельний поліморфізм генів цитокінів (IL6, IL8, IL10 ТА IFNL4) у пацієнтів з моногенною та масовою патологією

(Doctoral dissertation, КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА).

32. Макашова, В. В., Тутельян, А. В., & Шабалина, С. В. (2020). Влияние сроков инфицирования вирусом гепатита С на активность и стадии фиброза печени. *Инфекционные болезни*, 18(3), 56-61.
33. Малов, В. А., Убеева, Е. А., Убеева, И. П., Николаев, С. М., & Умбетова, К. Т. (2019). Особенности лечения хронического вирусного гепатита С препаратами прямого противовирусного действия (обзор литературы). *Терапевтический архив*, 91(11), 86-89.
34. Меланіч С. Л. Діагностична значимість сироваткових маркерів фіброзу печінки у хворих на HCV- інфекцію. *Гастроентерологія*. 2013. №4 (40). С. 43-49.
35. Мороз Л. В., Бондарук І. Ю. Діагностична роль неінвазивних маркерів фіброзу печінки у хворих на хронічний вірусний гепатит С. *Гепатологія*. 2019. № 2. Вип. 44. С. 28-34.
36. Олейник, Е. А., Леплина, О. Ю., Останин, А. А., Старостина, Н. М., & Черных, Е. Р. (2016). Адаптивный Т-клеточный ответ в патогенезе вирусной инфекции, обусловленной вирусом гепатита С. *Медицинская иммунология*, 18(4), 309-316.
37. Орлова, С. Н., Машин, С. А., Копышева, Е. Н., & Басханова, М. В. (2017). Противовирусная терапия у больных хроническим гепатитом с и предикторы её эффективности. *Вестник Ивановской медицинской академии*, 22(1), 5-12.
38. Про затвердження та впровадження медико-технологічних документів зі стандартизації медичної допомоги при вірусному гепатиті С: Наказ МОЗ України від 18.07.2016 р. No 729. URL : <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v0729282-16> (дата звернення: 24.02.2020).
39. Рахманова, А., Яковлев, А., Шаройко, В., & Кащенко, В. (2018). *Хронический вирусный гепатит С и цирроз печени*. Litres.

40. Фазилов, А. А., Соипова, Г. Г., Жумабаев, Х. Т., Ходжиматов, Г. М., & Шухратов, Ш. Ш. (2018). Особенности изменения печени у больных хроническим гепатитом С по данным ультразвуковой диагностики. *Вестник Ошского государственного университета*, (3), 195-199.
41. Федорченко С. В. Хроническая HCV-инфекция : монография. Киев : ВСИ «Медицина», 2010. 272 с.
42. Хоронжевська, І. С., Бевз, Т. І., & Мартинюк, Г. А. (2018). Молекулярно-генетичний моніторинг за циркуляцією вірусу гепатиту С серед населення Рівненської області. Збірник матеріалів тез науково-практичної конференції (з міжнародною участю) «Громадське здоров'я: проблеми та перспективи розвитку», м. Острог, 29 листопада 2018 р. Члени редколегії: Гущук І. В., Гільман А. Ю., Крайчинська Г. В. та ін. – С. 62-63.
43. Хоронжевська, І. С., Мартинюк, Г. А., Шевченко, Г. М., Резніков, А. П., Мороз, В. О., Шахгільдян, Й. В., & Михайлов, М. І. (2013). Епідемічний процес гепатиту С у Рівненській області. *Профілактична медицина*, (3-4), 35-40.
44. Хоронжевська, І. С., Мартинюк, Г. А., Шевченко, Г. М., Резніков, А. П., Мороз, В. О., Вітренко, Я. А., ... & Михайлов, М. І. (2013). Вивчення сучасної молекулярно-генетичної характеристики гепатиту С на території північно-західного регіону України. *Гепатологія*, (2), 40-52.
45. Хоронжевська, І.С., Сергеева, Т.А., Мартинюк, Г.А., Мороз, В.О., Бялковський, О.В., & Сафонов, Р.В. (2017). Вивчення структури генотипів вірусу гепатиту с, які циркулюють серед населення регіону України з середнім ступенем урбанізації. *ScienceRise. Medical science*, (9), 43-49.
46. Циммерман, Я. С. (2017). Фиброз печени: патогенез, методы диагностики, перспективы лечения. *Клиническая фармакология и терапия*, 26(1), 54-58.
47. Черных, Е. Р., Олейник, Е. А., Леплина, О. Ю., Старостина, Н. М., & Останин, А. А. (2019). Дендритные клетки в патогенезе вирусного гепатита С. *Инфекция и иммунитет*, 9(2), 239-252.

- 48.Чепелевська Л. А., Дзюба О. М., Кручаниця В. В. Регіональні особливості смертності населення України від фіброзу і цирозу печінки та алкогольної хвороби печінки. *Україна. Здоров'я нації*. 2016. Вип. 4 (1). С. 218-224.
- 49.Шептулина А. Ф., Широкова Е. Н., Ивашкин В. Т. Неинвазивная диагностика фиброза печени: роль сывороточных маркёров. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. 2015. Вип. 25(2). Р. 28-40.
- 50.Щаницына, С. Е., Бурневич, Э. З., Никулкина, Е. Н., Филатова, А. Л., Моисеев, С. В., & Мухин, Н. А. (2019). Факторы риска неблагоприятного прогноза хронического гепатита С. *Терапевтический архив*, 91(2), 59-66.
- 51.Щаницына, С.Е., Бурневич, Э.З., Никулкина, Е.Н., & Мухин, Н.А. (2018). Прогностические факторы неблагоприятных исходов хронического гепатита С. *Клиническая фармакология и терапия*, 27(1), 27-34.
- 52.Щекотова, А. П., Невзорова, М. С., & Ермакова, О. А. (2018). Современные методы лабораторной диагностики фиброза печени. *Вестник науки и образования*, (17-2 (53)), 54-59.
- 53.Ющук, Н. Д., Климова, Е. А., Знойко, О. О., Кареткина, Г. Н., Максимов, С. Л., Маев, И. В., ... & Андреев, Д. Н. (2018). Вирусные гепатиты. Клиника, диагностика, лечение.
- 54.Яковенко, Э. П., Яковенко, А. В., Иванов, А. Н., Агафонова, Н. А., & Прянишникова, А. С. (2011). Фиброз печени: механизмы развития и вопросы терапии. *Фарматека*, 12, 16-22.
- 55.Baeke F., Korf H., Overbergh L., Verstuyf A., Thorrez L., Van Lommel L., Waer M., Schuit F., Gysemans C., Mathieu C. The vitamin D analog, TX527, promotes a human CD4+CD25highCD127low regulatory T cell profile and induces a migratory signature specific for homing to sites of inflammation. *J. Immunol.*, 2011, Vol. 186, pp. 132-142.
- 56.Bertino, G., Ardiri, A., Proiti, M., Rigano, G., Frazzetto, E., Demma, S., ... & Malaguarnera, M. (2016). Chronic hepatitis C: This and the new era of treatment. *World journal of hepatology*, 8(2), 92.

57. Bevz, T. I., Kyrychenko, D. F., & Martynyuk, G. A. (2019). The value of polymorphism+ 3725G/C TLR4 gene as a marker of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. *Journal of Education, Health and Sport*, 9(10), 328-336.
58. Bevz T. I. (2020). Clinical and epidemiological features of chronic hepatitis C in the North-Western region of Ukraine. *Journal of Education, Health and Sport*, 10(2), 281-290.
59. Bevz T. I. (2018). Clinical course of chronic hepatitis C with TLR4 gene polymorphism. МАТЕРІАЛИ XV Міжнародної наукової конференції студентів та молодих вчених «Перший крок в науку—2018», м. Вінниця, 18-20 квітня 2018 р. Члени редколегії: Білик О. О., Повshedна Т. Ю., Басінських О. Г. та ін. – С. 291.
60. Bevz T. I., Martynyuk G. A., Livshits L. A., Demchyshyn Y. M. (2020). Laboratory-biochemical features of the course of chronic hepatitis C with polymorphism rs11536889 + 3725G/C of TLR-4 gene. *Journal of Education, Health and Sport*, 10(4), 254-261.
61. Borgia, S. M., Hedskog, C., Parhy, B., Hyland, R. H., Stamm, L. M., Brainard, D. M., ... & Shafran, S. D. (2018). Identification of a novel hepatitis C virus genotype from Punjab, India: expanding classification of hepatitis C virus into 8 genotypes. *The Journal of infectious diseases*, 218(11), 1722-1729.
62. Chaiwiang, N., & Poyomtip, T. (2019). The associations between Toll-like receptor 4 gene polymorphisms and hepatitis C virus infection: a systematic review and meta-analysis. *Bioscience reports*, 39(2).
63. Chen Yi Mei, S. L. G., Burchell, J., Skinner, N., Millen, R., Matthews, G., Hellard, M., ... & Sasadeusz, J. (2016). Toll-like receptor expression and signaling in peripheral blood mononuclear cells correlate with clinical outcomes in acute hepatitis C virus infection. *The Journal of infectious diseases*, 214(5), 739-747.

64. Chin, J. L., Pavlides, M., Moolla, A., & Ryan, J. D. (2016). Non-invasive markers of liver fibrosis: adjuncts or alternatives to liver biopsy?. *Frontiers in pharmacology*, 7, 159. doi: 10.3389/fphar.2016.00159
65. Cochet, F., & Peri, F. (2017). The role of carbohydrates in the lipopolysaccharide (LPS)/toll-like receptor 4 (TLR4) signalling. *International journal of molecular sciences*, 18(11), 2318.
66. Dhillon, N., Walsh, L., Krüger, B., Ward, S. C., Godbold, J. H., Radwan, M., ... & Schröppel, B. (2010). A single nucleotide polymorphism of Toll-like receptor 4 identifies the risk of developing graft failure after liver transplantation. *Journal of hepatology*, 53(1), 67-72.
67. Ebrahimi, H., Naderian, M., & Sohrabpour, A. A. (2016). New concepts on pathogenesis and diagnosis of liver fibrosis; a review article. *Middle East journal of digestive diseases*, 8(3), 166.
68. Ellwanger, J. H., de Lima Kaminski, V., Valverde-Villegas, J. M., Simon, D., Lunge, V. R., & Chies, J. A. B. (2018). Immunogenetic studies of the hepatitis C virus infection in an era of pan-genotype antiviral therapies-Effective treatment is coming. *Infection, Genetics and Evolution*, 66, 376-391.
69. European Association for Study of Liver. EASL Clinical Practice Guidelines: management of hepatitis C virus infection. *Journal of hepatology*. 2014. Vol. 60(2). P. 392-420.
70. European Association for the Study of the Liver. EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C 2018. *Journal of Hepatology*. 2018. URL : <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2018.03.026> (Last accessed: 17.03.2019).
71. Broering, R., Lu, M., & Schlaak, J. F. (2011). Role of Toll-like receptors in liver health and disease. *Clinical science*, 121(10), 415-426.
72. Fiorino, S. Tensegrity Model Hypothesis: May This Paradigm Be Useful to Explain Hepatic and Pancreatic Carcinogenesis in Patients with Persistent Hepatitis B or Hepatitis C Virus Infection? /S. Fiorino, L. Bacchi-Reggiani, L. Pontoriero // *Journal of the Pancreas*.-2014.-Vol.15, No2 .-P.151-164.

73. Fontana, R. J., Goodman, Z. D., Dienstag, J. L., Bonkovsky, H. L., Naishadham, D., Sterling, R. K.,...& HALT-C Trial Group. (2008). Relationship of serum fibrosis markers with liver fibrosis stage and collagen content in patients with advanced chronic hepatitis C. *Hepatology*, 47(3), 789-798.
74. Friedrich-Rust, M., Nierhoff, J., Lupsor, M., Sporea, I., Fierbinteanu-Braticevici, C., Strobel, D., ... & Herrmann, E. (2012). Performance of acoustic radiation force impulse imaging for the staging of liver fibrosis: a pooled meta-analysis. *Journal of viral hepatitis*, 19(2), e212-e219
75. Foster, G. R., Irving, W. L., Cheung, M. C., Walker, A. J., Hudson, B. E., Verma, S., ... & Hcv Research, U. K. (2016). Impact of direct acting antiviral therapy in patients with chronic hepatitis C and decompensated cirrhosis. *Journal of hepatology*, 64(6), 1224-1231.
76. Gane, E. Strategies to manage hepatitis C virus (HCV) infection disease burden - volume 2 / E. Gane, D. Kershenovich, C. Seguin-Devaux // J. Viral. Hepat.-2015.- Vol.1.-P.46-73.
77. Garolla, A. Sperm viral infection and male infertility: focus on HBV, HCV, HIV, HPV, HSV, HCMV, and AAV / A. Garolla, D. Pizzol, A. Bertoldo // J. Reprod. Immunol.-2013.- Vol.100, No1.-P .20-29.
78. Gaudieri, S. Innate and adaptive immunity shape circulating HCV strains / S. Gaudieri, M. Lucas // Nat. Genet.-2017.-Vol.49, No5.-P.657-658.
79. Gill, K., Ghazinian, H., Manch, R., & Gish, R. (2016). Hepatitis C virus as a systemic disease: reaching beyond the liver. *Hepatology international*, 10(3), 415-423.
80. Global hepatitis report 2017. World Health Organization. URL : <https://www.who.int/hepatitis/publications/global-hepatitis-report2017/en/> (Last accessed: 17.03.2019).
81. González-Grande, R., Jiménez-Pérez, M., Arjona, C. G., & Torres, J. M. (2016). New approaches in the treatment of hepatitis C. *World journal of gastroenterology*, 22(4), 1421.



82. Gressner O. A., Weiskirchen R., Gressner A. M. Biomarkers of liver fibrosis: clinical translation of molecular pathogenesis or based on liver-dependent malfunction tests. *Clinica Chimica Acta*. 2007. Vol. 381(2). P. 107-113.
83. Hartling, H. J., Ballegaard, V. C., Nielsen, N. S., Gaardbo, J. C., & Nielsen, S. D. (2016). Immune regulation in chronic hepatitis C virus infection. *Scandinavian journal of gastroenterology*, 51(11), 1387-1397.
84. Heidrich, B. Frequent detection of HCV RNA and HCVcoreAg in stool of patients with chronic hepatitis C / B. Heidrich, E. Steinmann, I. Plumeier // J. Clin. Virol.-2016.-Vol.80.-P.1-7.
85. Houot, M., Ngo, Y., Munteanu, M., Marque, S., & Poynard, T. (2016). Systematic review with meta-analysis: direct comparisons of biomarkers for the diagnosis of fibrosis in chronic hepatitis C and B. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, 43(1), 16-29.
86. Huang, Y. Analysis of the relationship between peripheral blood T lymphocyte subsets and HCV RNA levels in patients with chronic hepatitis C / Y. Huang, M.J. Zheng, Y.H. Xu // Genet. Mol. Res.-2015.-Vol.14, No3.-P.10057-10063.
87. Höner zu Siederdisen, C., Maasoumy, B., Marra, F., Deterding, K., Port, K., Manns, M. P., ... & Wedemeyer, H. (2016). Drug–drug interactions with novel all oral interferon-free antiviral agents in a large real-world cohort. *Clinical Infectious Diseases*, 62(5), 561-567.
88. Jacobson, I. M., Gordon, S. C., Kowdley, K. V., Yoshida, E. M., Rodriguez-Torres, M., Sulkowski, M. S., ... & Nelson, D. R. (2013). Sofosbuvir for hepatitis C genotype 2 or 3 in patients without treatment options. *New England journal of medicine*, 368(20), 1867-1877.
89. Jafri, S. M., & Gordon, S. C. (2018). Epidemiology of hepatitis C. *Clinical liver disease*, 12(5), 140.
90. Jefferies, M., Rauff, B., Rashid, H., Lam, T., & Rafiq, S. (2018). Update on global epidemiology of viral hepatitis and preventive strategies. *World journal of clinical cases*, 6(13), 589.

91. Kang, Y., Su, G., Sun, J., & Zhang, Y. (2018). Activation of the TLR4/MyD88 signaling pathway contributes to the development of human hepatocellular carcinoma via upregulation of IL-23 and IL-17A. *Oncology Letters*, *15*(6), 9647-9654.
92. Kawai, T., & Akira, S. (2007, February). TLR signaling. In *Seminars in immunology* (Vol. 19, No. 1, pp. 24-32). Academic Press.
93. Kawai, T., & Akira, S. (2010). The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors. *Nature immunology*, *11*(5), 373-384.
94. Kawasaki, T., & Kawai, T. (2014). Toll-like receptor signaling pathways. *Frontiers in immunology*, 461.
95. Keppeke, G.D. Anti-rods/rings autoantibody generation in hepatitis C patients during interferon- $\alpha$ /ribavirin therapy / G.D. Keppeke, S.J. Calise, E.K. Chan // World J. Gastroenterol.-2016.- Vol.22, No6.-P.1966-1974.
96. Khatun, M., & Ray, R. B. (2019). Mechanisms underlying hepatitis C virus-associated hepatic fibrosis. *Cells*, *8*(10), 1249.
97. Kiziltas, S. (2016). Toll-like receptors in pathophysiology of liver diseases. *World journal of hepatology*, *8*(32), 1354.
98. Kofahi, H.M. Hepatitis C Virus Infection of Cultured Human Hepatoma Cells Causes Apoptosis and Pyroptosis in Both Infected and Bystander Cells / H.M. Kofahi, N.G. Taylor, K. Hirasawa // Sci Rep.-2016.-Vol.6.-P.37-43.
99. Konerman M. A., Yapali S., Lok A. S. Systematic review: identifying patients with chronic hepatitis C in need of early treatment and intensive monitoring – predictors and predictive models of disease progression. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. 2014. Vol. 40, Iss. 8. P. 863–879.
100. Konerman, M. A., & Lok, A. S. (2016). Hepatitis C treatment and barriers to eradication. *Clinical and translational gastroenterology*, *7*(9), e193.
101. Lanini, S., Easterbrook, P. J., Zumla, A., & Ippolito, G. (2016). Hepatitis C: global epidemiology and strategies for control. *Clinical Microbiology and Infection*, *22*(10), 833-838.

102. Lawitz, E., Mangia, A., Wyles, D., Rodriguez-Torres, M., Hassanein, T., Gordon, S. C., ... & Gane, E. J. (2013). Sofosbuvir for previously untreated chronic hepatitis C infection. *New England Journal of Medicine*, *368*(20), 1878-1887.
103. Lee, C. M., Hu, T. H., Lu, S. N., Wang, J. H., Hung, C. H., Chen, C. H., & Yen, Y. H. (2016). Peripheral blood toll-like receptor 4 correlates with rapid virological response to pegylated-interferon and ribavirin therapy in hepatitis C genotype 1 patients. *Bmc Gastroenterology*, *16*(1), 1-6.
104. Li, H., Huang, M. H., Jiang, J. D., & Peng, Z. G. (2018). Hepatitis C: from inflammatory pathogenesis to anti-inflammatory/hepatoprotective therapy. *World journal of gastroenterology*, *24*(47), 5297.
105. Long, H., O'Connor, B. P., Zemans, R. L., Zhou, X., Yang, I. V., & Schwartz, D. A. (2014). The Toll-like receptor 4 polymorphism Asp299Gly but not Thr399Ile influences TLR4 signaling and function. *PLoS one*, *9*(4), e93550.
106. Li, W., Yang, G. L., Zhu, Q., Zhong, X. H., Nie, Y. C., Li, X. H., & Wang, Y. (2019). TLR4 promotes liver inflammation by activating the JNK pathway. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci*, *23*(17), 7655-7662.
107. Mahmoud A.A., Bacir A.S., Shabana S.S. Serum TGF- $\beta$ , Serum MMP-1, and HOMA-IR as non-invasive predictors of fibrosis in Egyptian patients with NAFLD. *Saudi journal of gastroenterology: official journal of the Saudi Gastroenterology Association*. 2012. No.18(5). P. 327–333.
108. Manns, M. P., Buti, M., Gane, E. D., Pawlotsky, J. M., Razavi, H., Terrault, N., & Younossi, Z. (2017). Hepatitis C virus infection. *Nature reviews Disease primers*, *3*(1), 1-19.
109. Mansur, A., Gruben, L. V., Popov, A. F., Steinau, M., Bergmann, I., Ross, D., ... & Hinz, J. (2014). The regulatory toll-like receptor 4 genetic polymorphism rs11536889 is associated with renal, coagulation and hepatic organ failure in sepsis patients. *Journal of translational medicine*, *12*(1), 1-9.
110. Matsue, Y., Tsutsumi, M., Hayashi, N., Saito, T., Tsuchishima, M., Toshikuni, N., ... & George, J. (2015). Serum osteopontin predicts degree of

- hepatic fibrosis and serves as a biomarker in patients with hepatitis C virus infection. *PloS one*, 10(3), e0118744.
111. Medvedev, R., Ploen, D., & Hildt, E. (2016). HCV and oxidative stress: implications for HCV life cycle and HCV-associated pathogenesis. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2016.
112. Medzhitov, R. (2001). Toll-like receptors and innate immunity. *Nature Reviews Immunology*, 1(2), 135-145.
113. Mohamed, A. A., Elbedewy, T. A., El-Serafy, M., El-Toukhy, N., Ahmed, W., & El Din, Z. A. (2015). Hepatitis C virus: A global view. *World journal of hepatology*, 7(26), 2676.
114. Pasare, C., & Medzhitov, R. (2005). Toll-like receptors: linking innate and adaptive immunity. *Mechanisms of lymphocyte activation and immune regulation X*, 11-18.
115. Patra, T., Ray, R. B., & Ray, R. (2019). Strategies to circumvent host innate immune response by hepatitis C virus. *Cells*, 8(3), 274.
116. Penas-Steinhardt, A., Barcos, L. S., Belforte, F. S., De Sere day, M., Vilariño, J., Gonzalez, C. D., ... & Leskow, F. C. (2012). Functional characterization of TLR4+ 3725 G/C polymorphism and association with protection against overweight. *PLoS One*, 7(12), e50992.
117. Petruzzello, A., Marigliano, S., Loquercio, G., Cozzolino, A., & Cacciapuoti, C. (2016). Global epidemiology of hepatitis C virus infection: An up-date of the distribution and circulation of hepatitis C virus genotypes. *World journal of gastroenterology*, 22(34), 7824.
118. Pol, S., & Lagaye, S. (2019). The remarkable history of the hepatitis C virus. *Genes & Immunity*, 20(5), 436-446.
119. Pradere, J. P., Troeger, J. S., Dapito, D. H., Mencin, A. A., & Schwabe, R. F. (2010, August). Toll-like receptor 4 and hepatic fibrogenesis. In *Seminars in liver disease* (Vol. 30, No. 03, pp. 232-244). © Thieme Medical Publishers.

120. Preveden, T., Scarpellini, E., Milić, N., Luzzza, F., & Abenavoli, L. (2017). Gut microbiota changes and chronic hepatitis C virus infection. *Expert Review of Gastroenterology & Hepatology*, 11(9), 813-819.
121. Riabokon, Y., Kalashnyk, K. V., & Riabokon, O. V. (2019). Influence of interleukin-6 gene polymorphism on the efficacy of antiviral treatment in patients with chronic hepatitis C. *Запорожский медицинский журнал*, (21,№1), 84-89.
122. Riabokon, Y., Tumanskiy, V. A., & Riabokon, E. V. (2018). The interaction of morphological changes in the liver with the development of extrahepatic manifestations in patients with chronic hepatitis C. *Патологія*, (15,№1), 45-48.
123. Saha, B., Kodys, K., & Szabo, G. (2016). Hepatitis C virus-induced monocyte differentiation into polarized M2 macrophages promotes stellate cell activation via TGF- $\beta$ . *Cellular and molecular gastroenterology and hepatology*, 2(3), 302-316.
124. Seki E., Schwabe R. F. Hepatic inflammation and fibrosis: functional links and key pathways. *Hepatology*. 2015. Vol. 61(3). P. 1066-1079.
125. Sepehri, Z., Kiani, Z., Kohan, F., Alavian, S. M., & Ghavami, S. (2017). Toll like receptor 4 and hepatocellular carcinoma; A systematic review. *Life sciences*, 179, 80-87.
126. Sepulveda-Crespo, D., Resino, S., & Martinez, I. (2020). Innate immune response against hepatitis C virus: Targets for vaccine adjuvants. *Vaccines*, 8(2), 313.
127. Sghaier, I., Zidi, S., Mouelhi, L., Ghazoueni, E., Brochot, E., Almawi, W. Y., & Loueslati, B. Y. (2019). TLR3 and TLR4 SNP variants in the liver disease resulting from hepatitis B virus and hepatitis C virus infection. *British journal of biomedical science*, 76(1), 35-41.
128. Shin, E. C., & Jeong, S. H. (2018). Natural history, clinical manifestations, and pathogenesis of hepatitis A. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 8(9), a031708.

129. Sofosbuvir (Sovaldi): Sofosbuvir is Indicated for the Treatment of Chronic Hepatitis C Virus (CHC) Infection in Adult Patients With Compensated Liver Disease, Including Cirrhosis [Internet]. Ottawa (ON): Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health; 2014 Oct. 2, OBJECTIVES AND METHODS.
130. Stasi, C., Silvestri, C., & Voller, F. (2020). Update on hepatitis C epidemiology: unaware and untreated infected population could be the key to elimination. *SN comprehensive clinical medicine*, 2(12), 2808-2815.
131. Stephen L. The Natural History of Hepatitis C Virus (HCV) Infection. *International Journal of Medical Sciences*. 2006. No 3(2). P. 47–52
132. Tanwar, S., Rhodes, F., Srivastava, A., Trembling, P. M., & Rosenberg, W. M. (2020). Inflammation and fibrosis in chronic liver diseases including non-alcoholic fatty liver disease and hepatitis C. *World journal of gastroenterology*, 26(2), 109.
133. Trifan, A., Cojocariu, C., Sfarti, C., Singeap, A. M., & Stanciu, C. (2012). Non-invasive evaluation of liver fibrosis in chronic hepatitis C. *The Medical-Surgical Journal*, 116(1), 135-138.
134. Virzi, A., Suarez, A. A. R., Baumert, T. F., & Lupberger, J. (2020). Rewiring host signaling: hepatitis C virus in liver pathogenesis. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 10(1), a037366.
135. Wong, M. T., & Chen, S. S. (2016). Emerging roles of interferon-stimulated genes in the innate immune response to hepatitis C virus infection. *Cellular & molecular immunology*, 13(1), 11-35.
136. Zeuzem, S. (2017). Treatment options in hepatitis C: the current state of the art. *Deutsches Ärzteblatt International*, 114(1-2), 11.

## ДОДАТОК А1

## СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Кучеренко, А. М., Мороз, Л. В., Бевз, Т. І., Булавенко, В. І., Антипкін, Ю. Г., Березенко, В. С., Дибба, М. Б., Городна, О. В., & Лівшиць, Л. А. (2019). Дослідження поліморфізму rs11536889+ 3725G/C гена TLR4 у пацієнтів з автоімунним та хронічним вірусним гепатитом. *Цитологія и генетика*, 53(4), 41-49.

2. Bevz, T. I., Kyrychenko, D. F., & Martynyuk, G. A. (2019). The value of polymorphism+ 3725G/C TLR4 gene as a marker of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. *Journal of Education, Health and Sport*, 9(10), 328- 336.

3. Bevz, T. I. (2020). Clinical and epidemiological features of chronic hepatitis C in the North-Western region of Ukraine. *Journal of Education, Health and Sport*, 10(2), 281-290.

4. Bevz, T. I., Martynyuk, G. A., Livshits, L. A., & Demchyshyn, Y. M. (2020). Laboratory-biochemical features of the course of chronic hepatitis C with polymorphism rs11536889 + 3725G/C of TLR-4 gene. *Journal of Education, Health and Sport*, 10(4), 254-261.

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

5. Бевз, Т. І., & Мороз, Л. В. (2017). Особливості клінічного перебігу хронічного гепатиту С при поліморфізмі гену TLR4. Програма та тези терапевтичної конференції молодих вчених ВНМУ імені М. І. Пирогова клініки МКЛ No1 м. Вінниці, м. Вінниця, 10 лютого 2017 р. – С. 2.

6. Бевз, Т., Мартинюк, Г., Куляс, С., Попович, О., & Медведєва, Л. (2017). Особливості клінічного перебігу та прогнозу хронічного гепатиту С при поліморфізмі гену TLR4. Інфекційні хвороби в практиці лікаря-інтерніста: сучасні аспекти: матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції, м. Суми, 25-26 травня 2017 р. Редакційна колегія: Чемич М. Д., Гльїна В. В., Мороз Л. В. та ін. - Суми: СумДУ, 2017. - С. 29-31.

7. Bevz, T. I. (2018). Clinical course of chronic hepatitis C with TLR4 gene polymorphism. Матеріали XV Міжнародної наукової конференції студентів та молодих вчених «Перший крок в науку – 2018», м. Вінниця, 18-20 квітня 2018 р. Члени редколегії: Білик О. О., Повshedна Т. Ю., Басінських О. Г. та ін. – С. 291.

8. Хоронжевська, І. С., Бевз, Т. І., & Мартинюк, Г. А. (2018). Молекулярно-генетичний моніторинг за циркуляцією вірусу гепатиту С серед населення Рівненської області. Збірник матеріалів тез науково-практичної конференції (з міжнародною участю) «Громадське здоров'я: проблеми та перспективи розвитку», м. Острог, 29 листопада 2018 р. Члени редколегії: Гущук І. В., Гільман А. Ю., Крайчинська Г. В. та ін. – С. 62-63.

9. Бевз, Т. І., Мороз, Л. В., & Мартинюк, Г. А. (2019). Значення поліморфізму гена TLR4 як предиктора розвитку тяжкого фіброзу у хворих на хронічний гепатит С. Актуальна інфектологія, 7(2), 40-41.

10. Бевз, Т. І., Мороз, Л. В., & Мартинюк, Г. А. (2019). Залежність прогресування хронічного гепатиту С від поліморфізму гену TLR4. Всеукраїнська науково-практична конференція інфекціоністів і пленум ГО «Всеукраїнська асоціація інфекціоністів» «Діагностика, лікування і профілактика інфекційних хвороб у період медичної реформи», м. Кропивницький, 3-4 жовтня 2019 р. Члени редколегії: Андрейчин М. А., Васильєва Н. А., Голубовська О. А. та ін. – С. 9-11.



## ДОДАТОК А2

### АПРОБАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ

Основні положення роботи викладено та обговорено на науково- практичних конференціях та конгресах різного рівня:

1. Терапевтична конференція молодих вчених ВНМУ імені М. І. Пирогова клініки МКЛ №1 м. Вінниці (м. Вінниця, 10 лютого 2017 р.);
2. XV Міжнародна студентська наукова конференція «Перший крок в науку» (м. Вінниця, 18-20 квітня 2018 р.);
3. Всеукраїнська науково-практична конференція інфекціоністів і пленумі ГО «Всеукраїнська асоціація інфекціоністів» « Сучасні діагностичні, лікувальні і профілактичні технології у практиці інфекціоніста» (м. Чернівці, 4-5 жовтня 2018 р.);
4. XVI Міжнародна студентська наукова конференція «Перший крок в науку» (м. Вінниця, 18-19 квітня 2019 р.);
5. Науково-практична конференція з міжнародною участю «Актуальні інфекційні захворювання в практиці сімейного лікаря» (м. Київ, 4–5 квітня 2019 р.);
6. Всеукраїнська науково-практична конференція інфекціоністів «Інфекційні хвороби і біобезпека» (м. Хмельницькій, 16-17 травня 2019 р.).

## ДОДАТОК Б1



## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Спосіб визначення поліморфізму rs11536889 +3725G/C гену TLR4 у хворих з ХГС в якості маркера важкого перебігу хронічного гепатиту С.

2. **Установа-розробник:** Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, 21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56.

Розроблювач: Бевз Тетяна Ігорівна, Мороз Лариса Василівна.

Джерела інформації: Bevz T. I., Martynyuk G. A., Livshits I. A., Demchyshyn Y. M. 2020. Laboratory-biochemical features of the course of chronic hepatitis C with polymorphism rs11536889 + 3725G/C of TLR-4 gene. Journal of Education, Health and Sport, 10(4), pp.254-261.

3. **Базова установа, яка проводить впровадження:** КНП "Центральна міська лікарня" Рівненської міської ради, Обласний лікувально-діагностичний гепатологічний центр.

4. **Результати застосування** пропозиції за період з травня 2020 по серпень 2020 р. обстежено 26 пацієнтів обласного лікувально-діагностичного гепатологічного центру.

5. **Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п. 3):** Перевага запропонованого способу полягає у можливості прогнозування важкого перебігу хронічного гепатиту С шляхом визначення поліморфізму rs11536889 +3725G/C гену TLR4.

6. **Зауваження, пропозиції:** не вносилися.

Відповідальний за впровадження:  
Завідувач обласним лікувально-діагностичним  
гепатологічним центром  
к. мед. н., доц.



Мартинюк Г. А.

## ДОДАТОК Б2

«ЗАТВЕРДЖУЮ»



Головний лікар  
"Центральна міська лікарня"  
Рівненської міської ради  
Кучерук С. Ф.  
20 20 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Спосіб визначення поліморфізму rs11536889 +3725G/C гену TLR4 у хворих з ХГС в якості предиктору формування важкого фіброзу печінки.

2. **Установа-розробник:** Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, 21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56.

Розроблювач: Бевз Тетяна Ігорівна, Мороз Лариса Василівна.

Джерела інформації: Кучеренко А. М., Мороз Л. В., Бевз Т. І., Булаченко В. І., Антипкін Ю. Г., Березенко В. С., Пампуха В. М., Діба М. Б., Городна О. В., and Лівшиць Л. А. 2019. Дослідження поліморфізму rs11536889+ 3725G/C гена TLR4 у пацієнтів з автоімунним та хронічним вірусним гепатитом. Цитология и генетика, 53(4), pp.41-49

3. **Базова установа, яка проводить впровадження:** КПІІ "Центральна міська лікарня" Рівненської міської ради, Обласний лікувально-діагностичний гепатологічний центр.

4. **Результати застосування** пропозиції за період з жовтня 2019 по березень 2020 р. обстежено 38 пацієнтів обласного лікувально-діагностичного гепатологічного центру.

5. **Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п. 3):** Перевага запропонованого способу полягає у можливості прогнозування розвитку вираженого фіброзу та цирозу печінки (F3 - F4) шляхом визначення поліморфізму rs11536889 +3725G/C гену TLR4.

6. **Зауваження, пропозиції:** не вносилися.

Відповідальний за впровадження:  
Завідувач обласним лікувально-діагностичним  
гепатологічним центром  
к. мед. н., доц.



Мартинюк Г. А.

## ДОДАТОК БЗ

«Затверджую»

Проректор з науково-педагогічної  
(навчальної) роботиВінницького національного медичного  
університету ім. М. І. Пирогова  
професор Гумінський Ю.Й.

06 2020 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Спосіб визначення поліморфізму rs11536889 +3725G/C гену TLR4 у хворих з ХГС в якості маркеру для прогнозування перебігу хронічного гепатиту С.

2. **Установа-розробник:** Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, 21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56.

3. **Розроблювач:** Бевз Тетяна Ігорівна, Мороз Лариса Василівна.

4. **Джерела інформації:** статті

- Кучеренко А. М., Мороз Л. В., Бевз Т. І., Булавенко В. І., Антипкін Ю. Г., Березенко В. С., Пампуха В. М., Діба М. Б., Городна О. В., and Лівшиць Л. А. 2019. Дослідження поліморфізму rs11536889+ 3725G/C гена TLR4 у пацієнтів з автоімунним та хронічним вірусним гепатитом. Цитологія и генетика, 53(4), pp.41-49
- Bevz T. I., Martynyuk G. A., Livshits L. A., Demchyshyn Y. M. 2020. Laboratory-biochemical features of the course of chronic hepatitis C with polymorphism rs11536889 + 3725G/C of TLR-4 gene. Journal of Education, Health and Sport, 10(4), pp.254-261.
- . Bevz, T. I., Kyrychenko, D. F., & Martynyuk, G. A. (2019). The value of polymorphism+ 3725G/C TLR4 gene as a marker of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. Journal of Education, Health and Sport, 9(10), 328- 336.

5. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова, кафедра інфекційних хвороб з курсом епідеміології.

6. **Термін впровадження:** 2020 - 2021 н. р.

7. **Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п. 3):** Перевага запропонованого способу полягає у можливості прогнозування перебігу хронічного гепатиту С та його наслідків, а

також обирати лікувальну тактику шляхом оцінки поліморфізму rs11536889 +3725G/C гену TLR4.

8. **Зауваження, пропозиції:** рекомендується для впровадження у науково-педагогічну та лікувальну роботи кафедри інфекційних хвороб з курсом епідеміології.

9. Затверджено на засіданні кафедри від 08.06.2020 (протокол № 12 )

Відповідальний за впровадження:  
Завідувачка кафедри інфекційних хвороб  
з курсом епідеміології  
Вінницького національного медичного  
університету ім. М. І. Пирогова  
професор, д. мед. н.



Мороз Л. В.

## ДОДАТОК Б4

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Головний лікар  
КНП "Вінницька міська клінічна лікарня №1"  
Ліваковський К. С.  
7 червня 2020 р.



## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Спосіб визначення поліморфізму rs11536889 +3725G/C гену TLR4 у хворих з ХГС в якості предиктору формування важкого фіброзу печінки.

2. **Установа-розробник:** Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, 21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56.

Розроблювач: Бевз Тетяна Ігорівна, Мороз Лариса Василівна.

Джерела інформації: Кучеренко А. М., Мороз Л. В., Бевз Т. І., Булавенко В. І., Антипкін Ю. Г., Березенко В. С., Пампуха В. М., Диба М. Б., Городна О. В., and Лівшиць Л. А. 2019. Дослідження поліморфізму rs11536889+ 3725G/C гена TLR4 у пацієнтів з автоімунним та хронічним вірусним гепатитом. Цитология и генетика, 53(4), pp.41-49

3. **Базова установа, яка проводить впровадження:** КНП "Вінницька міська лікарня №1", інфекційне відділення.

4. **Термін впровадження:** пропозиції на період з січня 2020 по січень 2021 р.

5. **Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п. 3):** Перевага запропонованого способу полягає у можливості прогнозування розвитку вираженого фіброзу та цирозу печінки (F3 - F4) шляхом визначення поліморфізму rs11536889 +3725G/C гену TLR4.

6. **Зауваження, пропозиції:** не вносилися.

Відповідальний за впровадження:  
Завідувач інфекційним відділенням



Чорний А.М.

## ДОДАТОК Б5

«ЗАТВЕРДЖУЮ»



Головний лікар  
КНП "Вінницька міська клінічна лікарня №1"  
Ліваковський К. С.  
\_\_\_\_\_ червня 20 20 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Спосіб визначення поліморфізму rs11536889 +3725G/C гену TLR4 у хворих з ХГС в якості маркера важкого перебігу хронічного гепатиту С.

2. **Установа-розробник:** Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, 21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56.

Розроблювач: Бевз Тетяна Ігорівна, Мороз Лариса Василівна.

Джерела інформації: Bevz T. I., Martynyuk G. A., Livshits L. A., Demchyshyn Y. M. 2020. Laboratory-biochemical features of the course of chronic hepatitis C with polymorphism rs11536889 + 3725G/C of TLR-4 gene. Journal of Education, Health and Sport, 10(4), pp.254-261.

7. **Базова установа, яка проводить впровадження:** КНП "Вінницька міська лікарня №1", інфекційне відділення.

8. **Термін впровадження:** пропозиції на період з червня 2020 по червень 2021 р.

3. **Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п. 3):** Перевага запропонованого способу полягає у можливості прогнозування важкого перебігу хронічного гепатиту С шляхом визначення поліморфізму rs11536889 +3725G/C гену TLR4.

4. **Зауваження, пропозиції:** не вносилися.

Відповідальний за впровадження:  
Завідувач інфекційним відділенням



Чорний А.М.