

Міністерство охорони здоров'я України  
Запорізький державний медичний університет  
Міністерство охорони здоров'я України  
Запорізький державний медичний університет

Кваліфікаційна наукова  
праця на правах рукопису

**КАЛАШНИК КИРИЛО ВАДИМОВИЧ**

616.153.962.4-008.61-06:616.36-002.2]-07:612.017.1.014]-085.281.8-037

**ДИСЕРТАЦІЯ**

**ДІАГНОСТИЧНА ЗНАЧИМІСТЬ ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНІВ  
ІНТЕРЛЕЙКІНІВ В РОЗВИТКУ ЗМІШАНОЇ КРІОГЛОБУЛІНЕМІЇ  
ПРИ ХРОНІЧНОМУ ГЕПАТИТІ С ТА ПРОГНОЗУВАННІ  
ЕФЕКТИВНОСТІ ПРОТИВІРУСНОГО ЛІКУВАННЯ**

222 – Медицина

22 Охорона здоров'я

Подається на здобуття ступеня доктора філософії

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

\_\_\_\_\_ К.В. Калашник

Науковий керівник - **Рябоконт Юрій Юрійович**, доктор медичних наук,  
професор

Запоріжжя 2020

## АНОТАЦІЯ

*Калашник К. В.* Діагностична значимість поліморфізму генів інтерлейкінів в розвитку змішаної кріоглобулінемії при хронічному гепатиті С та прогнозуванні ефективності противірусного лікування. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 «Медицина» (22 «Охорона здоров'я»). - Запорізький державний медичний університет МОЗ України, Запоріжжя, 2020

Запорізький державний медичний університет МОЗ України, 2020.

З метою удосконалення ранньої діагностики змішаної кріоглобулінемії та прогнозування ефективності ПВТ проведено комплексне обстеження 149 хворих на ХГС, які перебували на диспансерному обліку у гепатоцентрі Комунальної установи «Обласна інфекційна клінічна лікарня» Запорізької обласної ради. Всім хворим були проведені лабораторні та інструментальні дослідження згідно Уніфікованому протоколу МОЗ України. Спеціальні дослідження включали визначення ОП гену ІІ-6 (rs 1800795) та ІІ-17 (rs 612242) методом ПЛР; кількісного вмісту ІІ-6, ІІ-17, ревматоїдного фактору (загального, ІgM, ІgA) у сироватці крові методом ІФА; вмісту змішаних кріоглобулінів у сироватці крові спектрофотометричним методом, які проводилися на базі Навчально-лабораторного центру Запорізького державного медичного університету.

Серед обстежених хворих на ХГС було 98 (65,8 %) чоловіків та 51 (34,2 %) жінка. Тривалість документально підтвердженого ХГС коливалась від 1 до 21 року із медіаною та міжквартильним розмахом 4,0 [1,0; 8,0] роки. Хворі на ХГС переважно були інфіковані 1 генотипом вірусу (67,8 %) та мали високе вірусне навантаження (63,8 %). За результатами оцінки ступеня фібротичних змін в печінці переважали стадії F2 (35,5 %) та F3 (33,6 %).

ПВТ проведена 83 хворим згідно Уніфікованому протоколу МОЗ України за схемою peg-IFN $\alpha$ +SOF+RBV тривалістю 12 тижнів та оцінена її

ефективність за формуванням стійкої вірусологічної відповіді через 24 тижні після завершення лікування.

Поліморфізм гену ІІ-6 відіграє певну роль в хронізації HCV-інфекції, що підтверджує в 3 рази рідше виявлення генотипу СС ( $\chi^2=21,88$ ,  $p<0,001$ ) та в 1,7 разів частіше виявлення генотипів CG/GG ( $\chi^2=21,88$ ,  $p<0,001$ ) у хворих на ХГС, порівняно зі здоровими особами. У хворих на ХГС поліморфізм гену ІІ-6 (rs 1800795) не впливає на вірусне навантаження та виразність клінічних ознак печінкової симптоматики, проте за наявності у хворих на ХГС генотипу СС частота виявлення некрозо-запальної активності у печінці виразності А2 ступеня була в 2,2 рази вищою, ніж у пацієнтів з CG/GG-генотипами, а саме 36,0 % проти 16,1 % ( $\chi^2=5,24$ ,  $p<0,05$ ).

У хворих на ХГС генотипи CG/GG поліморфізму гену ІІ-6 (rs 1800795) асоціюються з появою біохімічних ознак змішаної кріоглобулінемії у 67,7 % пацієнтів проти 36,0 % хворих з генотипом СС ( $\chi^2=8,93$ ,  $p<0,01$ ).

За наявності біохімічних ознак змішаної кріоглобулінемії у хворих на ХГС генотипи CG/GG поліморфізму гену ІІ-6 (rs 1800795), на відміну від генотипу СС, асоціюються з вищим ( $p=0,03$ ) вмістом змішаних кріоглобулінів в сироватці крові та частішою появою клінічної маніфестації у вигляді вираженої загальної слабкості (71,4 % проти 22,2 %,  $\chi^2=8,86$ ,  $p=0,003$ ), болю в суглобах (63,1 % проти 22,2 %,  $\chi^2=5,62$ ,  $p=0,02$ ), шкірних ознак кріоглобулінемічного васкуліту з формуванням тріади Мельтцера (15,5 %). При цьому у хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією поліморфізм гену ІІ-6 (rs 1800795) не впливає на ступінь виразності морфологічних змін в печінці (за даними неінвазивних тестів) та зміни основних біохімічних параметрів функціонального стану печінки.

У хворих на ХГС кількісний вміст ІІ-6 в сироватці крові був вище ( $p<0,001$ ), ніж у здорових людей, а рівень його підвищення залежав від поліморфізму гену ІІ-6 (rs 1800795). Найвищий рівень ІІ-6 виявився у пацієнтів за наявності G-алелю (CG/GG-генотипи), порівняно із носіями СС-генотипу, у яких вміст цього цитокіну в сироватці крові не відрізнявся від

здорових людей ( $p > 0,05$ ). Патогенетичну роль ІЛ-6 в формуванні патології печінки при ХГС підтвердили встановлені кореляційні зв'язки між вмістом цього цитокіну та рівнем прямого білірубіну ( $R = 0,26$ ,  $p = 0,04$ ), кількісним вмістом еритроцитів ( $R = 0,26$ ,  $p = 0,02$ ) та тромбоцитів ( $R = -0,26$ ,  $p = 0,037$ ).

За наявності HCV-асоційованої змішаної кріоглобулінемії вміст ІЛ-6 в сироватці крові виявився вищим ( $p < 0,05$ ), ніж у хворих на ХГС без цієї позапечінкової ознаки. У хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією, які є носіями G-алелю (CG/GG-генотипи), імунологічні порушення виявилися найбільш вираженими за рахунок вищого кількісного вмісту в сироватці крові змішаних кріоглобулінів ( $p < 0,05$ ), ІЛ-6 ( $p < 0,05$ ), ревматоїдного фактору як загального ( $p < 0,05$ ), так й ревматоїдного фактору IgM ( $p < 0,05$ ), порівняно з хворими на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією носіями CC-генотипу. За відсутності у хворих на ХГС змішаної кріоглобулінемії та наявності CC-генотипу кількісний вміст ІЛ-6 в сироватці крові залишався в межах здорових людей ( $p > 0,05$ ). Роль імунологічних змін в прогресуванні ХГС у хворих зі змішаною кріоглобулінемією підтвердили виявлені позитивні кореляції між рівнем підвищення ІЛ-6 та ступенем фіброзу печінки ( $\tau = 0,25$ ,  $p = 0,01$ ), вмістом змішаних кріоглобулінів та активністю АСТ ( $R = 0,32$ ,  $p = 0,03$ ). Зафіксовано позитивну кореляцію між показниками загального ревматоїдного фактору та ревматоїдним фактором IgM ( $R = 0,66$ ,  $p < 0,001$ ).

Наявність C-алелю поліморфізму гену ІЛ-17 (rs 612242) мала певний вплив на хронізацію гепатиту С ( $\chi^2 = 14,36$ ;  $p < 0,001$ ), проте не мала впливу на перебіг ХГС за показниками вірусного навантаження ( $p > 0,05$ ), морфологічних змін в печінці за даними неінвазивних тестів ( $p > 0,05$ ), зміни основних біохімічних параметрів функціонального стану печінки ( $p > 0,05$ ) та розвиток HCV-асоційованої змішаної кріоглобулінемії.

Вміст ІЛ-17 в сироватці хворих на ХГС був вище ( $p < 0,001$ ), ніж у здорових осіб, проте рівень його підвищення не залежав ( $p > 0,05$ ) від поліморфізму гену ІЛ-17 (rs 612242). Рівень підвищення кількісного вмісту ІЛ-17 в сироватці крові хворих на ХГС не залежав від наявності HCV-

асоційованої змішаної кріоглобулінемії. У хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією не встановлено статистично значущих відмінностей як кількісного вмісту змішаних кріоглобулінів, так й кількісного вмісту ІЛ-17 в сироватці крові залежно від поліморфізму гену ІЛ-17 (rs 612242). Проте позитивним загальний ревматоїдний фактор був у 93,3 % носіїв СС-генотипу проти відсутності його виявлення у носіїв СG/GG-генотипів ( $p < 0,001$ ).

При ПВТ хворих на ХГС за схемою  $\text{peg-IFN}\alpha + \text{RBV} + \text{SOF}$  ОП гену ІЛ-6 (rs 1800795) мав певне прогностичне значення щодо формування СВВ 24. Так, всі хворі на ХГС з генотипом СС (14 – 100 %) відповіли на ПВТ за цією схемою, проте серед пацієнтів з генотипами СG/GG відповіли на лікування лише 85,5 % (59 із 69). У хворих на ХГС генотип СС асоціювався із коливанням кількісного вмісту ІЛ-6 в сироватці крові в межах референтних значень ( $p > 0,05$ ) та виявився прогностично сприятливим щодо формування СВВ 24. Генотипи СG/GG асоціювалися з найвищим рівнем ІЛ-6 в сироватці крові та неефективністю ПВТ. За наявності СG/GG-генотипів, у хворих на ХГС із формуванням СВВ 24, негативація НCV-RNA в крові відбувалася повільніше, на відміну від пацієнтів з СС-генотипами, у яких починаючи з 4-го тижня лікування зафіксовано стійке зникнення вірусу. За умов досягнення СВВ 24 у всіх хворих з СС-генотипом в цей термін спостереження відбулася нормалізація активності АЛТ. У переважній більшості хворих на ХГС із СВВ 24 та СG/GG генотипом після припинення ПВТ активність АЛТ також продовжувала знижуватися та нормалізувалася через 24 тижні спостереження у 94,9 % (56 із 59). Проте у пацієнтів, які не відповіли формуванням СВВ 24 та мали генотипи СG/GG, на момент оцінки СВВ 24 у 20,0 % хворих активність АЛТ в сироватці крові залишилася підвищеною. Ранговий кореляційний аналіз Кендела Тау підтвердив, що ОП гену ІЛ-6 мав вплив на негативацію НCV-RNA в крові як на момент завершення лікування ( $p = 0,04$ ), так й досягнення СВВ 24 ( $p = 0,03$ ). Відсутність вірусологічної відповіді на момент завершення ПВТ, а також відсутність формування СВВ 24

асоціювалися з наявністю генотипів CG/GG ОП гену ІЛ-6 та вищим рівнем АЛТ до початку ПВТ ( $\tau=-0,18$ ,  $p<0,01$ ).

Поліморфізм гену ІЛ-17 (rs 612242) мав вплив на результативність лікування за схемою  $\text{peg-IFN}\alpha+\text{RBV}+\text{SOF}$ . За наявності G-алелю, а саме CG/GG-генотипів, у всіх хворих відбулося формування СВВ 24, тоді як за наявності CC-генотипу формування СВВ 24 зафіксовано тільки у 87,2 % хворих. Відсутність негатиції HCV-RNA в крові після лікування за схемою  $\text{peg-IFN}\alpha+\text{RBV}+\text{SOF}$  асоціювалося з CC-генотипом поліморфізму гену ІЛ-17 (rs 612242) та вищою виразністю синдрому цитолізу. Встановлені закономірності підтверджено ранговою кореляцією між показником активності некрозо-запального процесу в печінці і негатицією HCV-RNA в крові як на момент завершення терапії ( $\tau=-0,20$ ,  $p=0,008$ ), так і на момент оцінки формування СВВ 24 ( $\tau=-0,21$ ,  $p=0,004$ ). ПВТ супроводжувалася зменшенням вмісту ІЛ-17 в сироватці крові ( $p<0,05$ ) у хворих на ХГС із його нормалізацією за умов формування СВВ 24. У пацієнтів з CC-генотипом та відсутністю СВВ 24 вміст ІЛ-17 в сироватці крові залишався вище, порівняно зі здоровими особами ( $p<0,05$ ).

Наявність змішаної кріоглобулінемії у хворих на ХГС призводило до зниження ефективності ПВТ за схемою  $\text{peg-IFN}\alpha+\text{SOF}+\text{RBV}$  із формуванням СВВ 24 у 85,4 % проти 91,4 % пацієнтів без цієї позапечінкової ознаки. У хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією наявність CG/GG-генотипів поліморфізму гену ІЛ-6 (rs 1800795) мала негативний вплив на ефективність ПВТ, знижуючи частоту досягнення СВВ 24 до 83,7 % проти 100 % хворих з CC-генотипом.

Динаміка імунологічних параметрів у хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією характеризувалася зниженням вмісту ревматоїдного фактору IgM, IgA ( $p<0,05$ ) та частоти виявлення змішаних кріоглобулінів в сироватці крові ( $p<0,05$ ), проте виразність цих змін мала залежність від досягнення СВВ 24 після ПВТ за схемою  $\text{peg-IFN}\alpha+\text{SOF}+\text{RBV}$ . За умов досягнення СВВ 24 вміст ревматоїдного фактору IgM, IgA ( $p<0,05$ ) в

сироватці крові виявилися нижче, ніж у пацієнтів, які не відповіли на лікування СВВ 24. У пацієнтів, які відповіли на лікування СВВ 24 в цей термін спостереження змішані кріоглобуліни виявлялися в сироватці крові значно рідше, ніж у пацієнтів без формування СВВ 24 (17,1 % проти 85,7 %,  $\chi^2=14,27$ ,  $p<0,001$ ). Встановлені закономірності підтвердила сильна позитивна кореляція між вмістом змішаних кріоглобулінів та ревматоїдним фактором IgM в сироватці крові до початку ПВТ у хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією, які відповіли формуванням СВВ 24 ( $r=0,72$ ,  $p=0,02$ ).

Аналіз змін вмісту ІЛ-6 та ІЛ-17 в сироватці крові хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією при проведенні ПВТ показав залежність динаміки їх вмісту від досягнення СВВ 24. На тлі ПВТ вміст ІЛ-6 та ІЛ-17 в сироватці крові знижувалися, порівняно з відповідними показниками до початку лікування ( $p<0,05$ ). Проте через 24 тижні після завершення лікування нормалізація вмісту ІЛ-6 та ІЛ-17 в сироватці крові відбулася лише у пацієнтів, які досягли формування СВВ 24.

Створено дискримінантну модель прогнозування успішності завершення ПВТ у хворих на ХГС. При створенні моделі визначено п'ять найбільш інформативних лабораторних показників, які достовірно асоціюються з успішністю завершення ПВТ, а саме кількісний вміст ІЛ-6 та ІЛ-17 у сироватці крові, ревматоїдного фактору IgA та ревматоїдного фактору IgM, рівень активності некрозо-запального процесу у печінці. Запропонована дискримінантна модель розрахунку зв'язку успішності завершення противірусної терапії за схемою  $\text{peg-IFN}\alpha\text{+RBV+SOE}$  у хворих на ХГС дає змогу прогнозувати ймовірність формування СВВ 24 (загальна точність методу – 80,0 %).

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше встановлено клініко-прогностичне значення поліморфізму гену ІЛ-6 (rs 1800795) в розвитку змішаної кріоглобулінемії у хворих на ХГС. Доведено, що генотипи CG/GG поліморфізму гену ІЛ-6 (rs 1800795) асоціюються з розвитком змішаної

кріоглобулінемії у 67,7 % пацієнтів проти 36,0 % хворих з генотипом СС ( $\chi^2=8,93$ ,  $p<0,01$ ). За наявності змішаної кріоглобулінемії у хворих на ХГС генотипи CG/GG, на відміну від генотипу СС, асоціюються з вищим вмістом змішаних кріоглобулінів ( $p=0,03$ ) та частішою маніфестацією клінічних ознак цього позапечінкового прояву, а саме вираженої загальної слабкості ( $p=0,003$ ), артралгій ( $p=0,02$ ), появою кріоглобулінемічного васкуліту з формуванням тріади Мельтцера (15,5 %).

Вперше доведено, що генотип СС поліморфізму гену ІЛ-6 (rs1800795) асоціюється у хворих на ХГС із коливанням кількісного вмісту ІЛ-6 в крові в межах референтних значень, що є прогностично сприятливим щодо формування СВВ 24 при проведенні ПВТ за схемою  $\text{peg-IFN}\alpha+\text{SOF}+\text{RBV}$ . За наявності у хворих на ХГС генотипів CG/GG ефективність ПВТ нижче, ніж у пацієнтів з генотипами СС (rs1800795) (85,5 % проти 100 %). Відсутність формування відповіді на момент завершення ПВТ та СВВ 24 асоціюється з наявністю генотипів CG/GG поліморфізму гену ІЛ-6, найвищим вмістом ІЛ-6 в сироватці крові ( $p<0,01$ ) та вищим рівнем активності АЛТ до початку проведення ПВТ ( $\tau=-0,18$ ,  $p<0,01$ ).

Поглиблено уявлення щодо прогностичних факторів ефективності ПВТ у хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією та з'ясовано особливості динаміки імунологічних змін при проведенні лікування за схемою  $\text{peg-IFN}\alpha+\text{SOF}+\text{RBV}$ . Показано, що у хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією наявність CG/GG-генотипів поліморфізму гену ІЛ-6 (rs 1800795) знижує частоту досягнення СВВ 24 до 83,7 % проти 100 % хворих з СС-генотипом. У хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією за умов досягнення СВВ 24 вміст ревматоїдного фактору IgM, IgA та частота виявлення змішаних кріоглобулінів в сироватці крові менше, ніж у пацієнтів без формування СВВ 24 (17,1 % проти 85,7 %,  $\chi^2=14,27$ ,  $p<0,001$ ). На тлі ПВТ вміст ІЛ-6 та ІЛ-17 в сироватці крові знижується, порівняно з початком лікування ( $p<0,05$ ), проте нормалізація їх вмісту відбувається лише при формуванні у пацієнтів СВВ 24.



Уточнені наукові дані про імунопатогенез HCV-асоційованої змішаної кріоглобулінемії. Показано, що у хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією за наявності CG/GG-генотипів поліморфізму гену ІЛ-6 (rs1800795) імунологічні порушення більш суттєво виражені за рахунок вищого вмісту в сироватці крові змішаних кріоглобулінів ( $p < 0,05$ ), ІЛ-6 ( $p < 0,05$ ), ревматоїдного фактору як загального ( $p < 0,05$ ), так і IgM ( $p < 0,05$ ) та IgA ( $p < 0,05$ ), порівняно з носіями CC-генотипу. Встановлені кореляції між рівнем підвищення ІЛ-6 та ступенем фіброзу печінки ( $\tau = 0,25$ ,  $p = 0,01$ ), вмістом змішаних кріоглобулінів та активністю АСТ ( $r = 0,32$ ,  $p = 0,03$ ) підтверджують роль імунологічних змін в прогресуванні ХГС у хворих зі змішаною кріоглобулінемією.

Практичне значення одержаних результатів. Рекомендовано визначати поліморфізм гену ІЛ-6 в локусі rs1800795 хворим на ХГС для виділення пацієнтів з високим ризиком розвитку змішаної кріоглобулінемії. За наявності CG/GG-генотипів ризик розвитку змішаної кріоглобулінемії вважати високим.

Запропоновано та впроваджено в практику спосіб прогнозування успішності противірусної терапії на підставі визначення поліморфізму гену ІЛ-6 (rs1800795).

Створено та запропоновано дискримінантну модель для стратифікації хворих на ХГС з високим ризиком відсутності формування СВВ при проведенні ПВТ за схемою peg-IFN $\alpha$ +SOF+RBV, для застосування якої в практиці слід визначати найбільш інформативні лабораторні показники: вміст ІЛ-6 та ІЛ-17, ревматоїдний фактор IgM та IgA, ступінь активності некрозо-запального процесу в печінці за даними неінвазивних тестів.

**Ключові слова:** *хронічний гепатит С, змішані кріоглобуліни, інтерлейкіни, однонуклеотидний поліморфізм, противірусна терапія.*

## SUMMARY

*Kalashnyk K.* Interleukin gene polymorphism diagnostic significance in the development of mixed cryoglobulinemia in chronic hepatitis C and predicting the effectiveness of antiviral treatment. – Manuscript.

Thesis submitted for a degree of a Doctor of Philosophy by speciality 222 «Medicine» (22 «Health care»). - Zaporizhzhia State Medical University, Ministry of Health of Ukraine, Zaporizhzhia, 2020

Zaporizhzhya State Medical University, Ministry of Health of Ukraine, 2020.

To improve the early diagnosis of mixed cryoglobulinemia and predict the effectiveness of antiviral treatment (AVT), a comprehensive examination of 149 patients with chronic hepatitis C (CHC), who were registered at the hepatocenter Municipal Institution «Regional Infectious Diseases Clinical Hospital» Zaporozhye Regional Council. All patients underwent laboratory and instrumental studies according to the Unified Protocol of the Ministry of Health of Ukraine. Special studies included the determination of the IL-6 gene (rs 1800795) and IL-17 (rs 612242) single nucleotide polymorphisms (SNPs) by PCR; quantitative content of IL-6, IL-17, rheumatoid factor (total, IgM, IgA) in serum by ELISA; content of mixed cryoglobulins in blood serum by spectrophotometric method, which were carried out on the basis of the Scientific medical-laboratory center of Zaporizhzhya State Medical University.

Among the examined patients with CHC were 98 (65,8 %) men and 51 (34,2 %) women. The duration of documented CHC ranged from 1 to 21 years with a median and interquartile range of 4.0 [1,0; 8,0] years. Patients with CHC were predominantly infected with 1 genotype of the virus (67,8 %) and had a high viral load (63,8 %). According to the results of the assessment of the degree of fibrotic changes in the liver, stages F2 (35,5 %) and F3 (33,6 %) prevailed.

AVT was performed in 83 patients according to the Unified Protocol of the Ministry of Health of Ukraine according to the scheme peg-IFN $\alpha$ +SOF+RBV for

12 weeks and its effectiveness was assessed by the formation of a stable virological response 24 weeks after treatment.

IL-6 gene polymorphism plays a role in the chronicity of HCV infection, which confirms 3 times less detection of CC genotype ( $\chi^2=21,88$ ,  $p<0,001$ ) and 1,7 times more frequent detection of CG/GG genotypes ( $\chi^2=21,88$ ,  $p<0,001$ ) in patients with CHC, compared with healthy individuals. In patients with CHC, the IL-6 gene polymorphism (rs 1800795) does not affect the viral load and the severity of clinical signs of liver symptoms, but in patients with CHC of the CC genotype, the frequency of necrosis-inflammatory activity in the liver was A2 times higher than in patients with CG/GG genotypes, namely 36,0 % vs. 16,1 % ( $\chi^2=5,24$ ,  $p<0,05$ ).

In patients with CHC genotypes CG/GG of IL-6 gene polymorphism (rs 1800795) are associated with the appearance of biochemical mixed cryoglobulinemia signs in 67,7 % of patients against 36,0 % of patients with CC genotype ( $\chi^2=8,93$ ,  $p<0,01$ ).

In the presence of biochemical mixed cryoglobulinemia signs in patients with CHC, CG/GG genotypes of the IL-6 gene polymorphism (rs 1800795), in contrast to genotype CC, are associated with higher ( $p=0,03$ ) content of mixed cryoglobulins in the serum and more frequent manifestations clinical symptoms, namely severe general weakness (71,4 % vs. 22,2 %,  $\chi^2=8,86$ ,  $p=0,003$ ), arthralgia (63,1 % vs. 22,2 %,  $\chi^2=5,62$ ,  $p=0,02$ ), the appearance of cryoglobulinemic vasculitis with the formation of the Meltzer triad (15,5 %). In patients with CHC with mixed cryoglobulinemia, the IL-6 gene polymorphism (rs 1800795) does not affect the severity of morphological changes in the liver (according to non-invasive tests) and changes in the basic biochemical parameters of the functional state of the liver.

In patients with CHC, the content of IL-6 in the serum was higher ( $p<0,001$ ) than in healthy people, and the level of its increase depended on the IL-6 gene polymorphism (rs 1800795). The highest level of IL-6 was found in patients with the G-allele (CG/GG-genotypes), compared with carriers of the CC-genotype,

in whom the content of this cytokine in the serum did not differ from healthy people ( $p>0,05$ ). The pathogenetic role of IL-6 in the formation of liver pathology in CHC was confirmed by the established correlations between the content of this cytokine and the level of direct bilirubin ( $R=0,26$ ,  $p=0,04$ ), the content of erythrocytes ( $R=0,26$ ,  $p=0,02$ ) and platelets ( $R=-0,26$ ,  $p=0,037$ ).

In the presence of HCV-associated mixed cryoglobulinemia, the content of IL-6 in the serum was higher ( $p<0,05$ ) than in patients with CHC without this extrahepatic symptom. In patients with CHC with mixed cryoglobulinemia, who are carriers of the G-allele (CG/GG-genotypes), immunological disorders were most pronounced due to the higher quantitative content in the serum of mixed cryoglobulins ( $p<0,05$ ), IL-6 ( $p<0,05$ ), rheumatoid factor of both total ( $p<0,05$ ) and rheumatoid factor IgM ( $p<0,05$ ), compared with patients with CHC with mixed cryoglobulinemia carriers of the CC genotype. In the absence of mixed cryoglobulins in patients with CHC and the presence of the CC genotype, the quantitative content of IL-6 in the serum remained within healthy people ( $p>0,05$ ). The role of immunological changes in the progression of CHC in patients with mixed cryoglobulinemia was confirmed by the positive correlations between the level of increased IL-6 and the degree of liver fibrosis ( $\tau=0,25$ ,  $p=0,01$ ), the content of mixed cryoglobulins and AST activity ( $R=0,32$ ,  $p=0,03$ ). There was a positive correlation between the indicators of total rheumatoid factor and rheumatoid factor IgM ( $R=0,66$ ,  $p<0,001$ ).

The presence of the C-allele of the IL-17 gene polymorphism (rs 612242) had some effect on the chronicity of hepatitis C ( $\chi^2=14,36$ ;  $p<0,001$ ), but had no effect on the course of CHC in terms of viral load ( $p>0,05$ ), morphological changes in the liver according to non-invasive tests ( $p>0,05$ ), changes in the main biochemical parameters of the functional state of the liver ( $p>0,05$ ) and the development of HCV-associated mixed cryoglobulinemia.

The content of IL-17 in the serum of patients with CHC was higher ( $p<0,001$ ) than in healthy individuals, but the level of its increase did not depend ( $p>0,05$ ) on the IL-17 gene polymorphism (rs 612242). The level of increase in the

content of IL-17 in the serum of patients with CHC did not depend on the presence of HCV-associated mixed cryoglobulinemia. In patients with CHC with mixed cryoglobulinemia, no statistically significant differences were found in both the content of mixed cryoglobulins and the content of IL-17 in the serum depending on the IL-17 gene polymorphism (rs 612242). However, the total rheumatoid factor was positive in 93,3 % of carriers of the CC genotype against the absence of its detection in carriers of CG/GG genotypes ( $p < 0,001$ ).

In AVT of patients with CHC according to the peg-IFN $\alpha$ +RBV+SOF scheme, the IL-6 gene SNP (rs 1800795) had a certain prognostic value for the formation of a stable virological response 24 weeks after treatment (SVR 24). Thus, all patients with CHC and genotype CC (14 – 100 %) responded to AVT according to this scheme, but among patients with genotypes CG/GG responded to treatment only 85,5 % (59 of 69). In patients with CHC and CC genotype was associated with fluctuations in the content of IL-6 in the serum within the reference values ( $p > 0,05$ ) and was prognostically favorable for the formation of SVR 24. CG/GG genotypes were associated with the highest level of IL-6 in blood serum and ineffectiveness of AVT. In patients with CHC and CG/GG genotypes who responded to AVT by forming SVR 24, the negation of HCV-RNA in the blood was slower, in contrast to patients with CC genotypes, who already from the 4th week of AVT persistent disappearance of the virus. Under conditions of achieving a SVR 24 in all patients with CC genotype in this period of observation there was a normalization of ALT activity. In the vast majority of patients with CHC with a SVR 24 and CG/GG genotypes after discontinuation of AVT, ALT activity also continued to decline and normalized after 24 weeks of follow-up in 94,9 % (56 of 59). However, in patients who did not respond to SVR 24 and had CG/GG genotypes, serum ALT activity remained elevated in 20,0 % of patients at the time of assessment of SVR 24. Kendall Tau's rank correlation analysis confirmed that the IL-6 gene SNP had an effect on the negation of HCV-RNA in the blood both at the end of treatment ( $p = 0,04$ ) and the achievement of SVR 24 ( $p = 0,03$ ). The absence of virological response at the end of antiviral therapy, as well as the lack

of SVR 24 were associated with the presence of CG/GG genotypes of the IL-6 gene SNP and higher ALT before AVT ( $\tau=-0,18$ ,  $p<0,01$ ).

IL-17 gene polymorphism (rs 612242) had some effect on the effectiveness of AVT according to the scheme peg-IFN $\alpha$ +RBV+SOF. In the presence of the G-allele (CG/GG genotypes), all patients responded by forming SVR 24, while among patients with the CC genotype responded to treatment by forming SVR 24 only 87,2 %. The lack of virological response to AVT according to the peg-IFN $\alpha$ +RB+SOF scheme was associated with CC genotype of the IL-17 gene polymorphism (rs 612242) and higher serum ALT activity, which was confirmed by a rank correlation between the level of necrosis activity, results of therapy both at the end of treatment ( $\tau=-0,20$ ,  $p=0,008$ ) and at the time of assessment of the formation SVR 24 ( $\tau=-0,21$ ,  $p=0,004$ ). AVT was accompanied by a decrease IL-17 content in the serum ( $p<0,05$ ) in patients with CHC with its normalization in terms of achieving SVR 24. In the presence of CC genotype and the absence of SVR 24, IL-17 content in blood serum remained higher than in healthy individuals ( $p<0,05$ ).

The presence of mixed cryoglobulinemia in patients with CHC led to a decrease in the effectiveness of AVT according to the scheme peg-IFN $\alpha$ +SOF+RBV with the formation SVR 24 in 85,4 % against 91,4 % of patients without this extrahepatic symptom. In patients with CHC with mixed cryoglobulinemia, the presence of CG/GG genotypes of the IL-6 gene polymorphism (rs 1800795) had a negative effect on the effectiveness of AVT by reducing the frequency of achieving SVR 24 to 83,7 % against 100 % of patients with CC genotype.

The dynamics of immunological parameters in patients with CHC with mixed cryoglobulinemia was characterized by a decrease in the content of rheumatoid factor IgM, IgA ( $p<0,05$ ) and the frequency of detection of mixed cryoglobulins in serum ( $p<0,05$ ). The severity of these changes was dependent on the achievement SVR 24 after AVT according to the scheme peg-IFN $\alpha$ +SOF+RBV. Under conditions of achieving SVR 24, the content of rheumatoid factor IgM, IgA ( $p<0,05$ ) in the serum was lower than in patients who

did not respond to treatment by forming SVR 24. In patients who responded to treatment with SVR 24, in this observation period mixed cryoglobulins were detected in the serum much less frequently than in patients without the formation SVR 24 (17,1 % vs. 85,7 %,  $\chi^2=14,27$ ,  $p<0,001$ ). The established patterns were confirmed by a strong positive correlation between the content of mixed cryoglobulins and rheumatoid factor IgM in serum before AVT in patients with CHC with mixed cryoglobulinemia, who responded by forming SVR 24 ( $R=0,72$ ,  $p=0,02$ ).

Analysis of changes in the content of IL-6 and IL-17 in the serum of patients with CHC with mixed cryoglobulinemia during AVT showed the dependence of the dynamics of their content on achieving SVR 24. Against the background of AVT, the content of IL-6 and IL-17 in serum decreased compared to pre-treatment values ( $p<0,05$ ). However, 24 weeks after completion of treatment, normalization of serum IL-6 and IL-17 occurred only in patients who achieved SVR 24.

A mathematical model for predicting the success of AVT in patients with CHC (discriminant analysis) has been created. When creating the model, the five most informative laboratory indicators were identified, which are reliably associated with the success of AVT, namely the content of IL-6 and 17 in serum, rheumatoid factor IgA and rheumatoid factor IgM, the level of necrosis-inflammatory process in the liver. The proposed discriminant formula for calculating the relationship between the success of AVT completion according to the scheme peg-IFN $\alpha$ +RBV+SOF in patients with CHC allows to predict the probability of a SVR 24 (overall accuracy of the method – 80,0 %).

Scientific novelty of the obtained results. The clinical and prognostic value of IL-6 gene polymorphism (rs 1800795) in the development of mixed cryoglobulinemia in patients with CHC was established for the first time. It was proved that the genotypes of CG/GG polymorphism of the IL-6 gene (rs 1800795) are associated with the development of mixed cryoglobulinemia in 67,7 % of patients against 36,0 % of patients with CC genotype ( $\chi^2=8,93$ ,  $p<0,01$ ). In the

presence of mixed cryoglobulinemia in patients with CHC, the CG/GG genotypes, in contrast to the CC genotype, are associated with a higher content of mixed cryoglobulins ( $p=0,03$ ) and more frequent manifestation of clinical signs of this extrahepatic manifestation, namely severe general weakness ( $p = 0,003$ ), arthralgia ( $p = 0,02$ ), the appearance of cryoglobulinemic vasculitis with the formation of the Meltzer triad (15,5 %).

It was first proved that the CC genotype of the IL-6 gene polymorphism (rs1800795) is associated in patients with CHC with fluctuations in the quantitative content of IL-6 in the blood within the reference values, which is prognostically favorable for the formation of a SVR 24 during AVT bypeg-IFN $\alpha$ +SOF+RBV. If patients with CHC have CG/GG genotypes, the effectiveness of AVT is lower than in patients with CC genotypes (rs1800795) (85,5 % vs. 100 %). Lack of response at the time of completion of AVT and SVR 24 is associated with the presence of genotypes CG/GG polymorphism of the IL-6 gene, the highest content of IL-6 in serum ( $p<0,01$ ) and higher levels of ALT before AVT ( $\tau=-0,18$ ,  $p<0,01$ ).

The understanding of the prognostic factors of the AVT effectiveness in patients with CHC with mixed cryoglobulinemia is deepened and the peculiarities of the dynamics of immunological changes during treatment with peg-IFN $\alpha$ +SOF+RBV are clarified. It has been shown that in patients with CHC with mixed cryoglobulinemia the presence of CG/GG genotypes of the IL-6 gene polymorphism (rs 1800795) reduces the rate of achieving a SVR from 24 to 83,7 % against 100 % of patients with CC genotype. Patients with CHC with mixed cryoglobulinemia with SVR 24 rheumatoid factor IgM, IgA and the frequency of detection of mixed cryoglobulins in the serum is less than in patients without SVR24 (17,1 % vs. 85,7 %,  $\chi^2=14.27$ ,  $p<0.001$ ). Against the background of AVT, the content of IL-6 and IL-17 in the serum decreases compared to the beginning of treatment ( $p<0,05$ ), but the normalization of their content occurs only in the formation of patients with SVR 24.

Scientific data on the immunopathogenesis of HCV-associated mixed cryoglobulinemia have been updated. It is shown that in patients with CHC with



mixed cryoglobulinemia in the presence of CG/GG genotypes of IL-6 gene polymorphism (rs 1800795) immunological disorders are more pronounced due to higher serum content of mixed cryoglobulins ( $p < 0,05$ ), IL-6 ( $p < 0,05$ ), rheumatoid factor of both total ( $p < 0,05$ ) and IgM ( $p < 0,05$ ) and IgA ( $p < 0,05$ ), compared with carriers of the CC genotype. The established correlations between the level of IL-6 increase and the degree of liver fibrosis ( $\tau = 0,25$ ,  $p = 0,01$ ), the content of mixed cryoglobulins and AST activity ( $r = 0,32$ ,  $p = 0,03$ ) confirm the role of immunological changes in progression of CHC in patients with mixed cryoglobulinemia.

The practical significance of the obtained results. It is recommended to determine the polymorphism of the IL-6 gene at the rs1800795 locus in patients with CHC to identify patients at high risk of developing mixed cryoglobulinemia. In the presence of CG/GG genotypes, the risk of developing mixed cryoglobulinemia is considered high.

A method for predicting the success of antiviral therapy based on the determination of IL-6 gene polymorphism (rs1800795) has been proposed and put into practice.

A discriminant model for stratification of patients with chronic hepatitis C with a high risk of no stable virological response during AVT according to the scheme peg-IFN $\alpha$ +SOF+RBV, for which the most informative laboratory parameters should be determined in practice: IL-6 content and IL-17, rheumatoid factor IgM and IgA, the degree of the necro-inflammatory process activity in the liver according to non-invasive tests.

**Key words:** *chronic hepatitis C, mixed cryoglobulins, interleukins, single nucleotide polymorphism, antiviral therapy.*

**СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ АВТОРОМ ПРАЦЬ НА ТЕМУ  
ДИСЕРТАЦІЇ**

1. Riabokon, Y., Kalashnyk, K., & Riabokon, O. Influence of interleukin-6 gene polymorphism on the efficacy of antiviral treatment in patients with chronic hepatitis C. *Запорожский медицинский журнал*. 2019. Т. 21, № 1 (112). С. 84-89 (Дисертантом проведено аналіз літератури, відбір, клінічне обстеження хворих, аналіз лабораторних показників, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка статті до друку). <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2019.1.155826>
2. Kalashnyk, K., Riabokon, Y., & Riabokon, O. Interaction of polymorphism of the interleukin-6 gene with immunological damages and their role in the development of mixed cryoglobulinemia in patients with chronic hepatitis C. *Pathologia*. 2019. Т. 16, № 1 (45). С. 27-32. (Дисертантом проведено аналіз літератури, відбір, клінічне обстеження хворих, аналіз лабораторних показників, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка статті до друку). <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2019.1.166189>
3. Kalashnyk K., Riabokon Yu., Riabokon O. Clinical-pathogenetical role of dynamics of concentration of interleukin-6 depending on polymorphism of its gene in conducting antiviral therapy for patients with chronic hepatitis C. *Georgian Med News*. 2018. №10 (283). Р. 85-88. (Дисертантом проведено аналіз літератури, відбір, клінічне обстеження хворих, аналіз лабораторних показників, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка статті до друку). <https://doi.org/10.11603/1681-2727.2018.2.9032>.
4. Kalashnyk, K.V., & Riabokon, Yu.Yu. The role of interleukin-17 gene polymorphism (RS612242 C11139G) in the formation of the cryoglobulinemic syndrome in patients with chronic hepatitis C. *Journal Of Education, Health And Sport*. 2019. Vol. 9, №11. Р. 248-258. (Дисертантом проведено аналіз літератури, відбір, клінічне

- обстеження хворих, аналіз лабораторних показників, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка статті до друку).*  
<https://doi.org/10.5281/zenodo.3558948>
5. Riabokon, Y., Kalashnyk, K., Kamyshnyi, O., & Riabokon, O. Роль поліморфізму гена інтерлейкіну-6 у перебігу хронічного гепатиту С та формуванні змішаної кріоглобулінемії. *Інфекційні Хвороби*. 2018. № 2 (92). С. 36-41. *(Дисертантом проведено аналіз літератури, відбір, клінічне обстеження хворих, аналіз лабораторних показників, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка статті до друку).*  
<https://doi.org/10.11603/1681-2727.2018.2.9032>
  6. Калашник К.В., Рябоконт Ю.Ю., Абрамов А.В., Рябоконт О.В. Вплив поліморфізму гену ІІ-17 (rs 612242) на перебіг хронічного гепатиту С, ефективність противірусної терапії та динаміку вмісту ІІ-17 в сироватці крові залежно від результатів лікування. *Гепатологія*. 2019. №4 (46). С. 28-39. *(Дисертантом проведено аналіз літератури, відбір, клінічне обстеження хворих, аналіз лабораторних показників, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка статті до друку).*
  7. Рябоконт Е.В., Калашник К.В., Іпатова Д.П., Рябоконт Ю.Ю. Эффективность комбинированной противовирусной терапии с включением препарата с прямым механизмом действия у пациентов с хроническим гепатитом С (по результатам выполнения Государственной целевой программы в Запорожской области). *Клиническая инфектология и паразитология*. 2017. Т. 6, №3. С. 330-334. *(Дисертантом проведено аналіз літератури, відбір, клінічне обстеження хворих, аналіз лабораторних показників, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка статті до друку).*
  8. Калашник К.В., Рябоконт Ю.Ю., Іпатова Д.П. Аналіз ефективності противірусного лікування із застосуванням препарату з прямим механізмом дії у хворих на хронічний гепатит С з різним генотипом вірусу. *Епідеміологічні та клінічні ускладнення інфекційних і*

- паразитарних хвороб у сучасних умовах : матеріали всеукр. наук.-практ. конф. і пленуму ГО «Всеукраїнська асоціація інфекціоністів», м. Житомир, 5-6 жовт. 2017 р., Ж. 2017. С. 74-76. (Дисертантом проведено аналіз літератури, відбір та клінічне обстеження хворих, аналіз лабораторних показників, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка тез до друку).*
9. Калашник К.В., Рябокони Ю.Ю., Абрамов А.В. Роль змін вмісту інтерлейкіну-6 залежно від поліморфізму його гена в ефективності противірусного лікування хворих на хронічний гепатит С. *Актуальна інфектологія*. 2018. Т. 6, №5. С. 81-82. *(Дисертантом проведено аналіз літератури, відбір та клінічне обстеження хворих, аналіз лабораторних показників, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка тез до друку, усна доповідь на конференції).*
10. Калашник К.В. Аналіз вірусологічної відповіді у хворих на хронічний гепатит С на фоні противірусної терапії софосбувір-вмісними схемами. *Сучасні аспекти медицини і фармації-2017* : зб. матеріалів всеукр. наук.-практ. конф., м. Запоріжжя, 11-12 травн. 2017 р., 3., 2017. С. 75. *(Дисертантом проведено аналіз літератури, відбір та клінічне обстеження хворих, аналіз лабораторних показників, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка тез до друку).*
11. Калашник К.В. Ефективність противірусного лікування із застосуванням препарату з прямим механізмом антивірусної дії (Софосбувір). *Інфекційні хвороби в практиці лікаря-інтерніста: сучасні аспекти* : зб. матеріалів всеукр. наук.-практ. конф., м. Суми, 25-26 травн. 2017 р., С., 2017. С. 129-131. *(Дисертантом проведено аналіз літератури, відбір та клінічне обстеження хворих, аналіз лабораторних показників, статистичний аналіз отриманих даних, стендова доповідь на конференції).*
12. Калашник К.В. Клінічне значення поліморфізму гену інтерлейкіну-6 в маніфестації HCV-асоційованої змішаної кріоглобулінемії. *Актуальні*

- питання сучасної медицини та фармації. До 50-річчя заснування ЗДМУ : зб. матеріалів всеукр. наук.-практ. конф. з міжнародн.уч., м. Запоріжжя, 18-25 квітн. 2018 р. З., 2018. С. 110-111. (Дисертантом проведено аналіз літератури, відбір та клінічне обстеження хворих, аналіз лабораторних показників, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка тез до друку, усна доповідь на конференції).*
13. Калашник К.В. Роль поліморфізму гену інтерлейкіну-17 у виникненні HCV-асоційованої змішаної кріоглобулінемії. *Інфекційні хвороби в практиці лікаря-інтерніста: сучасні аспекти : зб. матеріалів всеукр. наук.-практ. конф., м. Суми, 30-31 травн. 2018 р., С., 2018. С. 57-59. (Дисертантом проведено аналіз літератури, відбір та клінічне обстеження хворих, аналіз лабораторних показників, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка тез до друку).*
14. Калашник К.В., Рябоконт Ю.Ю., Камишний О.М. Роль поліморфізму гену інтерлейкіну-17 у прогнозуванні ефективності різних схем противірусної терапії хворих на хронічний гепатит С. *Сучасні діагностичні, лікувальні і профілактичні технології у практиці інфекціоніста : зб. матеріалів всеукр. наук.-практ. конф., м. Чернівці, 4-5 жовтн. 2018 р. Ч., 2018. С. 40-42. (Дисертантом проведено аналіз літератури, відбір та клінічне обстеження хворих, аналіз лабораторних показників, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка тез до друку).*
15. Калашник К.В., Рябоконт Ю.Ю., Камишний О.М. Ефективність противірусного лікування хворих на хронічний гепатит с за схемою рег-IFN $\alpha$ +SOF+RBV залежно від поліморфізму гену інтерлейкіна-6. *Інфекційні хвороби сучасності: етіологія, епідеміологія, діагностика, лікування, профілактика, біологічна безпека : зб. матеріалів всеукр. наук.-практ. конф. з міжнародн.уч., м. Київ, 11-12 жовт. 2018 р., К., 2018. С. 74-76. (Дисертантом проведено аналіз літератури, відбір та*

*клінічне обстеження хворих, аналіз лабораторних показників, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка тез до друку).*

16. Калашник К.В., Рябоконт Ю.Ю. Взаємозв'язки автоімунних порушень з кількісним вмістом інтерлейкіну-17 залежно від поліморфізму його гену у хворих на хронічний гепатит С. *Актуальні питання сучасної медицини та фармації 2019*: зб. матеріалів всеукр. наук.-практ. конф., м. Запоріжжя, 13-17 травн. 2019 р. З., 2019. С. 55-56. *(Дисертантом проведено аналіз літератури, відбір та клінічне обстеження хворих, аналіз лабораторних показників, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка тез до друку).*
17. Калашник К.В. Роль поліморфізму гену інтерлейкіну-17 в розвитку змішаної кріоглобулінемії та ефективності противірусного лікування хворих на хронічний гепатит С. *Інфекційні хвороби в практиці лікаря-інтерніста: сучасні аспекти*: зб. матеріалів всеукр. наук.-практ. конф., м. Суми, 29-30 травн. 2019 р. С., 2019. С. 49-51. *(Дисертантом проведено аналіз літератури, відбір та клінічне обстеження хворих, аналіз лабораторних показників, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка тез до друку).*
18. Калашник К.В., Рябоконт Ю.Ю., Камишний О.М. Клініко-патогенетична роль поліморфізму гену інтерлейкін-6 та його кількісного вмісту в розвитку змішаної кріоглобулінемії та ефективності противірусної терапії хворих на хронічний гепатит С. *Всеукраїнська асоціація інфекціоністів*: зб. матеріалів всеукр. наук.-практ. конф., м. Кропивницький, 3-4 жовтн.. 2019 р. Кр., 2019. С. 68-70. *(Дисертантом проведено аналіз літератури, відбір та клінічне обстеження хворих, аналіз лабораторних показників, статистичний аналіз отриманих даних, публікація тез).*
19. Спосіб прогнозування успішності терапії у хворих на хронічний гепатит С / Рябоконт Юрій Юрійович (UA); Калашник Кирило Вадимович (UA); заявник та патентовласник: Запорізький державний

медичний університет (UA) // Промислова власність. – Оубл. 25.07.2019, Бюл. № 14. Патент на корисну модель № 136009 Україна, МПК G01N 33/49 (2006.01) *(Дисертантом проведено аналіз літератури, відбір та клінічне обстеження хворих, аналіз лабораторних показників, статистичний аналіз отриманих даних)*

## ЗМІСТ

Перелік умовних позначень, символів, скорочень .....	27
Вступ.....	28
Розділ 1 Сучасні уявлення про механізми формування та особливості клінічних проявів HCV-асоційованої змішаної кріоглобулінемії, підходи до противірусного лікування хронічного гепатиту С та предиктори його ефективності.....	37
1.1 Сучасні уявлення про імунопатогенетичні механізми формування змішаної кріоглобулінемії як позапечінкового прояву хронічного гепатиту С .....	37
1.2 Однонуклеотидний поліморфізм генів інтерлейкінів та його роль в перебігу захворювань печінки.....	43
1.3 Роль поліморфізму генів інтерлейкінів в їх продукції та імунопатогенезі захворювань печінки.....	49
1.4 Противірусна терапія хворих на хронічний гепатит С з урахуванням наявності змішаної кріоглобулінемії, предиктори успішності терапії.....	56
Розділ 2 Матеріали і методи дослідження.....	65
2.1 Клінічна характеристика обстежених хворих на хронічний гепатит С, здорових осіб контрольної групи, включених в дослідження.....	65
2.2 Спеціальні методи дослідження.....	71
2.3 Методи статистичної обробки даних досліджень.....	74
Розділ 3 Клініко-лабораторна характеристика хворих на хронічний гепатит С залежно від однонуклеотидного поліморфізму генів інтерлейкіну-6 (rs 1800795), інтерлейкіну-17 (rs 612242) та наявності змішаної кріоглобулінемії.....	76
3.1 Клініко-лабораторна характеристика хворих на хронічний гепатит С залежно від однонуклеотидного поліморфізму гену	



ІЛ-6 (rs 1800795).....	76
3.2 Клініко-лабораторна характеристика хворих на хронічний гепатит С зі змішаною кріоглобулінемією залежно від однонуклеотидного поліморфізму гену ІЛ-6 (rs 1800795).....	83
3.3 Клініко-лабораторна характеристика хворих на хронічний гепатит С залежно від однонуклеотидного поліморфізму гену ІЛ-17 (rs 612242) та з урахуванням наявності змішаної кріоглобулінемії.....	88
Розділ 4 Взаємозв'язки однонуклеотидного поліморфізму генів інтерлейкінів 6 (rs 1800795) та 17 (rs 612242) з імунологічними порушеннями та розвитком змішаної кріоглобулінемії у хворих на хронічний гепатит С.....	94
4.1 Вміст ІЛ-6 та ІЛ-17 в сироватці крові хворих на хронічний гепатит С залежно від однонуклеотидного поліморфізму генів, що їх кодують.....	94
4.2 Вміст ІЛ-6 та ревматоїдного фактору в сироватці крові хворих з HCV-асоційованою змішаною кріоглобулінемією залежно від однонуклеотидного поліморфізму гену ІЛ-6 (rs 1800795).....	99
4.3 Вміст ІЛ-17 та ревматоїдного фактору в сироватці крові хворих з HCV-асоційованою змішаною кріоглобулінемією залежно від однонуклеотидного поліморфізму гену ІЛ-17 (rs 612242).....	108
Розділ 5 Ефективність противірусної терапії лікування хворих на хронічний гепатит С залежно від однонуклеотидного поліморфізму генів інтерлейкінів 6 (rs 1800795) та 17 (rs 612242), динаміка імунологічних змін при різних результатах лікування та наявності змішаної кріоглобулінемії.....	116
5.1 Ефективність противірусної терапії за схемою рег-	

IFN $\alpha$ +RBV+SOF хворих на хронічний гепатит С залежно від ОП гену ІЛ-6 (rs 1800795) та динаміка вмісту ІЛ-6 в сироватці крові залежно від результатів лікування.....	116
5.2 Ефективність противірусної терапії за схемою рег-IFN $\alpha$ +RBV+SOF хворих на хронічний гепатит С залежно від ОП гену ІЛ-17 (rs 612242) та динаміка вмісту ІЛ-17 в сироватці крові залежно від результатів лікування.....	125
5.3 Ефективність противірусної терапії хворих на хронічний гепатит С зі змішаною кріоглобулінемією за схемою рег-IFN $\alpha$ +RBV+SOF хворих залежно від однонуклеотидних поліморфізмів генів ІЛ-6 (rs 1800795) та динаміка імунологічних змін в сироватці крові залежно від результатів лікування.....	133
5.4 Моделювання зв'язку змін лабораторних параметрів з формуванням стійкої вірусологічної відповіді 24 після противірусної терапії за схемою рег-IFN $\alpha$ +RBV+SOF у хворих на хронічний гепатит С на основі дискримінантного аналізу.....	143
Розділ 6 Аналіз та узагальнення отриманих результатів.....	153
Висновки.....	172
Практичні рекомендації.....	175
Список використаних джерел.....	176
Додаток А Акти впровадження .....	207
Додаток Б Список публікацій .....	215
Додаток В Апробація результатів дисертації .....	221

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, СКОРОЧЕНЬ**

95 % CI	– Довірчивий інтервал
HCV	– Вірус гепатиту С
IgA	– Імуноглобуліни класу А
IgM	– Імуноглобуліни класу М
OR	– Відношення шансів
peg-IFN $\alpha$	– Пегельовані інтерферони альфа
RBV	– Рибавірин
SOF	– Софосбувір
АЛТ	– Аланінамінотрансфераза
АСТ	– Аспартатамінотрансфераза
ВООЗ	– Всесвітня організація охорони здоров'я
ГГТ	– $\gamma$ глутамілтрансфераза
ІІ	– Інтерлейкін
ІФА	– Імуноферментний аналіз
ЛФ	– Лужна фосфатаза
ОП	– Однонуклеотидний поліморфізм
ПВТ	– Противірусна терапія
ПЛР	– Полімеразна ланцюгова реакція
СВВ 12	– Стійка вірусологічна відповідь через 12 тижнів
СВВ 24	– Стійка вірусологічна відповідь через 24 тижні
УЗД	– Ультразвукове дослідження
ХГС	– Хронічний гепатит С
ШВВ	– Швидка вірусологічна відповідь

## ВСТУП

### Обґрунтування вибору теми дослідження

Хронічний гепатит С (ХГС) є однією з найчастіших причин хронічного ураження печінки у світі [1]. Згідно оцінкам Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ) у світі нараховується 71 мільйон хворих на ХГС, при цьому найвища розповсюдженість цієї інфекції спостерігається у Східному Середземномор'ї та Європейському регіоні, що складає 2,3 % та 1,5 % населення відповідно [1 - 2]. Значною особливістю ХГС є не лише високий ризик прогресування фіброзу печінки із розвитком цирозу печінки та гепатоцелюлярної карциноми, а й поява поза печінкових ознак хвороби, які можуть підвищувати ризик смертності цих хворих [3 - 4]. Роль вірусу гепатиту С (НСV) вважається доведеною у розвитку НCV-асоційованої змішаної кріоглобулінемії та обумовленого нею кріоглобулінемічного синдрому [4]. Дані літератури свідчать, що змішані кріоглобуліни реєструються у 40-70 % хворих на ХГС, проте клінічні ознаки кріоглобулінемічного синдрому розвиваються не більш, ніж у 10-15 % [5]. Типовою клінічною тріадою кріоглобулінемічного синдрому, а саме тріади Мельтцера, є шкірна пурпура, виражена загальна слабкість та артралгії, при формуванні якої виникає високий ризик розвитку кріоглобулінемічного нефриту, периферичної сенсорної полінейропатії тощо, обумовлюючи значні труднощі не тільки в діагностиці, а й в лікуванні цих хворих [6]. Навіть при проведенні протівірусної терапії (ПВТ) в поєднанні з імунодепресантами або без них, НCV-асоційований кріоглобулінемічний васкуліт залишається вкрай тяжким захворюванням з 5-річною смертністю у 25 % пацієнтів [7].

Дослідженню імунопатогенезу ХГС з визначенням ролі різних цитокінів в прогресуванні захворювання, а саме фіброзу печінки, присвячена значна кількість робіт [8 - 9]. При цьому роль імунологічних порушень в формуванні НCV-асоційованої змішаної кріоглобулінемії залишається недостатньо з'ясованою. Відомо, що маніфестація змішаної кріоглобулінемії

пов'язана із тропністю вірусу до В-лімфоцитів, внаслідок чого відбувається надмірна антигенна стимуляція з наступним підвищенням продукції аутоантитіл та змішаних кріоглобулінів [10 - 11]. Тому особливу увагу привертає з'ясування ролі інтерлейкіну-6 (ІЛ-6) та інтерлейкіну-17 (ІЛ-17) в формуванні змішаної кріоглобулінемії у хворих на ХГС. ІЛ-6 має вплив на диференціювання В-лімфоцитів у плазматичні клітини, приймає участь у регуляції імунної відповіді в якості прозапального цитокіну, у гемопоезі та онкогенезі [12]. ІЛ-17 на сьогодні розглядається як багатofункціональний регулятор імунної відповіді: стимулює епітеліальні, ендотеліальні та фібробластичні клітини для секреції регуляторів запалення, В-клітинну та Т-клітинну імунну відповідь при інфекційних та аутоімунних захворюваннях [13 - 14].

В сучасних дослідженнях імунопатогенезу ХГС особлива увага приділяється визначенню не лише вмісту окремих цитокінів, але й поліморфізму генів, що їх кодують. Це пов'язано з тим, що поліморфізм генів інтерлейкінів може вплинути не лише на природній перебіг захворювання, а й на результативність лікування, проте ці питання лише починають вивчатися. Так, в дослідженні [15] було продемонстровано, що наявність GG/GA-генотипів поліморфізму ІЛ-17 (rs2275913) асоціюється з високим ризиком розвитку HCV асоційованої гепатоцелюлярної карциноми. Найбільш визначеною вважається роль поліморфізму гену ІЛ-28В як предиктора успішності подвійної ПВТ пегельованим інтерфероном (peg-IFN $\alpha$ ) та рибавірином (RBV) хворих на ХГС, інфікованих 1 генотипом вірусу [16]. В формуванні вірусологічної відповіді на подвійну ПВТ було також доведено клінічне значення поліморфізму генів ІЛ-10 [17] та ІЛ-15 [18]. Однак ці предиктори втратили своє прогностичне значення з появою препаратів з прямим противірусним механізмом дії [19].

Сучасні підходи до ПВТ хворих на ХГС останнім часом зазнали суттєвих змін. Поява противірусних препаратів з прямим противірусним механізмом дії другого покоління дозволила суттєво скоротити тривалість

ПВТ та використовувати різні схеми лікування, ефективність яких сягає 90 % й вище [19 - 20]. Згідно існуючих міжнародних рекомендацій [21], переважна більшість схем ПВТ включають софосбувір (SOF) - потужний інгібітор HCV NS5B полімерази з високим генетичним бар'єром резистентності та сприятливим профілем безпеки [22 - 23]. З 2015 року в Україні з'явилася можливість ПВТ хворих на ХГС за сучасною схемою лікування рег-IFN+SOF+RBV, яка триває лише 12 тижнів та є пангенотипичною [24]. Поява нових комбінованих схем лікування потребує пошуку нових прогностичних предикторів успішності терапії.

Таким чином, недостатнє вивчення імунопатогенезу формування змішаної кріоглобулінемії у хворих на ХГС з урахуванням клініко-патогенетичної ролі поліморфізму генів, що кодують імунну відповідь, необхідність пошуку інформативних предикторів успішності ПВТ при застосуванні нових схем терапії й обумовило напрямок нашого дослідження.

#### **Зв'язок роботи із науковими програмами, планами, темами**

Дисертаційна робота є фрагментом науково-дослідної роботи кафедри інфекційних хвороб Запорізького державного медичного університету «Оптимізація ранньої діагностики та лікування хворих на найбільш поширені інфекційні захворювання, що перебігають на тлі коморбідної патології у дорослих та дітей» (№ державної реєстрації 0117U006956). У межах зазначеної теми дисертантом особисто проведено підбір, комплексне клініко-лабораторне обстеження, динамічне спостереження та лікування хворих на ХГС.

**Мета дослідження:** удосконалення ранньої діагностики змішаної кріоглобулінемії у хворих на хронічний гепатит С та прогнозування ефективності противірусної терапії на підставі визначення клініко-патогенетичної ролі поліморфізму генів інтерлейкінів у взаємозв'язку з імунологічними змінами.

**Задачі:**

1. З'ясувати прогностичну роль поліморфізму генів ІЛ-6 (rs 1800795) та ІЛ-17 (rs 612242) в формуванні змішаної кріоглобулінемії у хворих на хронічний гепатит С.

2. Проаналізувати імунологічні зміни у хворих на хронічний гепатит С зі змішаною кріоглобулінемією залежно від поліморфізму гену ІЛ-6 (rs 1800795).

3. Визначити роль поліморфізму гену ІЛ-6 (rs 1800795) у взаємозв'язку зі змінами вмісту ІЛ-6 в формуванні стійкої вірусологічної відповіді 24 при противірусній терапії хворих на хронічний гепатит С за схемою peg-IFN $\alpha$ +SOF+RBV.

4. Визначити роль поліморфізму гену ІЛ-17 (rs 612242) у взаємозв'язку зі змінами вмісту ІЛ-17 в формуванні стійкої вірусологічної відповіді 24 при противірусній терапії хворих на хронічний гепатит С за схемою peg-IFN $\alpha$ +SOF+RBV.

5. Провести аналіз частоти формування стійкої вірусологічної відповіді 24 у хворих на хронічний гепатит С залежно від наявності змішаної кріоглобулінемії та з'ясувати вплив поліморфізму гену ІЛ-6 (rs 1800795) на ефективність противірусної терапії у взаємозв'язку з динамікою імунологічних змін у пацієнтів з HCV-асоційованою змішаною кріоглобулінемією.

6. Встановити інформативні прогностичні критерії та створити модель прогнозування ефективності противірусної терапії за схемою peg-IFN $\alpha$ +SOF+RBV у хворих на хронічний гепатит С

*Об'єкт дослідження:* хронічний гепатит С зі змішаною кріоглобулінемією.

*Предмет дослідження:* клінічні та біохімічні прояви хронічного гепатиту С зі змішаною кріоглобулінемією, поліморфізм генів ІЛ-6 (rs 1800795) та ІЛ-17 (rs 612242), рівень ІЛ-6, ІЛ-17, змішаних кріоглобулінів, ревматоїдного фактору в динаміці противірусного лікування.

### Наукова новизна отриманих результатів

Вперше встановлено клініко-прогностичне значення поліморфізму гену ІЛ-6 (rs 1800795) в розвитку змішаної кріоглобулінемії у хворих на ХГС. Доведено, що генотипи CG/GG поліморфізму гену ІЛ-6 (rs 1800795) асоціюються з розвитком змішаної кріоглобулінемії у 67,7 % пацієнтів проти 36,0 % хворих з генотипом CC ( $\chi^2=8,93$ ,  $p<0,01$ ). За наявності змішаної кріоглобулінемії у хворих на ХГС генотипи CG/GG, на відміну від генотипу CC, асоціюються з вищим вмістом змішаних кріоглобулінів ( $p=0,03$ ) та частішою маніфестацією клінічних ознак цього позапечінкового прояву, а саме вираженої загальної слабкості ( $p=0,003$ ), артралгій ( $p=0,02$ ), появою кріоглобулінемічного васкуліту з формуванням тріади Мельтцера (15,5 %).

Вперше доведено, що генотип CC поліморфізму гену ІЛ-6 (rs1800795) асоціюється у хворих на ХГС із коливанням кількісного вмісту ІЛ-6 в крові в межах референтних значень, що є прогностично сприятливим щодо формування СВВ 24 при проведенні ПВТ за схемою peg-IFN $\alpha$ +SOF+RBV. За наявності у хворих на ХГС генотипів CG/GG ефективність ПВТ нижче, ніж у пацієнтів з генотипами CC (rs1800795) (85,5 % проти 100 %). Відсутність формування відповіді на момент завершення ПВТ та СВВ 24 асоціюється з наявністю генотипів CG/GG поліморфізму гену ІЛ-6, найвищим вмістом ІЛ-6 в сироватці крові ( $p<0,01$ ) та вищим рівнем активності АЛТ до початку проведення ПВТ ( $\tau=-0,18$ ,  $p<0,01$ ).

Поглиблено уявлення щодо прогностичних факторів ефективності ПВТ у хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією та з'ясовано особливості динаміки імунологічних змін при проведенні лікування за схемою peg-IFN $\alpha$ +SOF+RBV. Показано, що у хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією наявність CG/GG-генотипів поліморфізму гену ІЛ-6 (rs 1800795) знижує частоту досягнення СВВ 24 до 83,7 % проти 100 % хворих з CC-генотипом. У хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією за умов досягнення СВВ 24 вміст ревматоїдного фактору IgM, IgA та частота виявлення змішаних кріоглобулінів в сироватці крові менше, ніж у пацієнтів



без формування СВВ 24 (17,1 % проти 85,7 %,  $\chi^2=14,27$ ,  $p<0,001$ ). На тлі ПВТ вміст ІЛ-6 та ІЛ-17 в сироватці крові знижується, порівняно з початком лікування ( $p<0,05$ ), проте нормалізація їх вмісту відбувається лише при формуванні у пацієнтів СВВ 24.

Уточнені наукові дані про імунопатогенез HCV-асоційованої змішаної кріоглобулінемії. Показано, що у хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією за наявності CG/GG-генотипів поліморфізму гену ІЛ-6 (rs 1800795) імунологічні порушення більш суттєво виражені за рахунок вищого вмісту в сироватці крові змішаних кріоглобулінів ( $p<0,05$ ), ІЛ-6 ( $p<0,05$ ), ревматоїдного фактору як загального ( $p<0,05$ ), так і ІgМ ( $p<0,05$ ) та ІgА ( $p<0,05$ ), порівняно з носіями СС-генотипу. Встановлені кореляції між рівнем підвищення ІЛ-6 та ступенем фіброзу печінки ( $\tau=0,25$ ,  $p=0,01$ ), вмістом змішаних кріоглобулінів та активністю АСТ ( $r =0,32$ ,  $p=0,03$ ) підтверджують роль імунологічних змін в прогресуванні ХГС у хворих зі змішаною кріоглобулінемією.

### **Практичне значення одержаних результатів**

Рекомендовано визначати поліморфізм гену ІЛ-6 в локусі rs1800795 хворим на ХГС для виділення пацієнтів з високим ризиком розвитку змішаної кріоглобулінемії. За наявності CG/GG-генотипів ризик розвитку змішаної кріоглобулінемії вважати високим.

Запропоновано та впроваджено в практику спосіб прогнозування успішності противірусної терапії на підставі визначення поліморфізму гену ІЛ-6 (rs1800795).

Створено та запропоновано дискримінантну модель для стратифікації хворих на ХГС з високим ризиком відсутності формування СВВ при проведенні ПВТ за схемою reg-IFN $\alpha$ +SOF+RBV, для застосування якої в практиці слід визначати найбільш інформативні лабораторні показники: вміст ІЛ-6 та ІЛ-17, ревматоїдний фактор ІgМ та ІgА, ступінь активності некрозо-запального процесу в печінці за даними неінвазивних тестів.

Практичні рекомендації, що базуються на основних положеннях дисертації, впроваджені в практику роботи Комунальної установи «Обласна інфекційна клінічна лікарня» Запорізької обласної ради м. Запоріжжя, Комунального неприбуткового підприємства «Обласна клінічна інфекційна лікарня» Харківської обласної ради м. Харків, Обласної клінічної інфекційної лікарні м. Івано-Франківськ, інфекційного відділення Комунального неприбуткового підприємства «Вінницька міська клінічна лікарня №1» м. Вінниця. Результати роботи впроваджені у педагогічний процес та наукову роботу кафедри інфекційних хвороб Запорізького державного медичного університету, кафедри інфекційних хвороб Харківського національного медичного університету, кафедри інфекційних хвороб та епідеміології Івано-Франківського національного медичного університету, кафедри інфекційних хвороб з курсом епідеміології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова.

### **Особистий внесок автора**

Дисертаційна робота є самостійним завершеним науковим дослідженням. Автором особисто здійснено патентно-інформаційний пошук, аналіз вітчизняної та зарубіжної літератури за темою дисертації, визначено напрям наукового дослідження, проведено підбір тематичних хворих, здійснено повне клінічне обстеження пацієнтів контрольної групи, забезпечено проведення додаткових лабораторних та інструментальних обстежень. Здобувачем сформовано комп'ютерну базу даних, виконано статистичну обробку отриманих результатів, їх аналіз і теоретичне узагальнення. Автором написано всі розділи дисертації, забезпечено їх впровадження, підготовлені та направлені до друку наукові праці, підготовлені виступи на конференціях. Висновки і практичні рекомендації сформульовано разом із науковим керівником. Запозичень ідей та розробок співавторів у публікаціях не було.

Визначення загальноклінічних показників проводилось в лабораторіях КУ «Запорізька обласна інфекційна клінічна лікарня» ЗОР

(Головний лікар – Шинкаренко В.Л.); молекулярно-генетичні, імуноферментні та спектрофотометричні дослідження проводили на базі Навчально-лабораторного центру ЗДМУ (завідувач – доктор медичних наук, професор Абрамов А.В.).

### **Апробація результатів дисертації**

Основні положення дисертаційної роботи і результати дослідження висвітлені на Всеукраїнській науково-практичній конференції ГО «Всеукраїнська асоціація інфекціоністів» «Епідеміологічні та клінічні ускладнення інфекційних і паразитарних хвороб у сучасних умовах» (м. Житомир, 2017 р.); Всеукраїнській науково-практичній конференції «Сучасні аспекти медицини і фармації-2017» (м. Запоріжжя, 2017 р.); Всеукраїнській науково-практичній конференції, присвяченої 20-річчю кафедри інфекційних хвороб з епідеміологією СумДУ «Інфекційні хвороби в практиці лікаря-інтерна: сучасні аспекти» (м. Суми, 2017 р.); Всеукраїнській науково-практичній конференції «Кров'яні інфекції як загальнодержавна проблема» (м. Луцьк, 2018 р.); Всеукраїнській конференції молодих вчених та студентів з міжнародною участю «Актуальні питання сучасної медицини та фармації. До 50-річчя заснування ЗДМУ» (м. Запоріжжя, 2018 р.); Всеукраїнській науково-практичній конференції «Інфекційні хвороби в практиці лікаря-інтерна: сучасні аспекти» (м. Суми, 2018 р.); Всеукраїнській науково-практичній конференції інфекціоністів і пленуму ГО «Всеукраїнська асоціація інфекціоністів» «Сучасні діагностичні, лікувальні і профілактичні технології у практиці інфекціоніста» (м. Чернівці, 2018 р.); Науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвяченої щорічним «читанням» пам'яті академіка Л.В. Громашевського та приуроченої до 25-річчя національної академії медичних наук України «Інфекційні хвороби сучасності: етіологія, епідеміологія, діагностика, лікування, профілактика, біологічна безпека» (м. Київ, 2018 р.); Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Актуальні інфекційні захворювання.

Сучасні аспекти клініки, діагностики, лікування та профілактики» (м. Київ, 2018 р.); Науково-практичній конференції з міжнародною участю молодих вчених та студентів «Актуальні питання сучасної медицини та фармації 2019» (м. Запоріжжя, 2019 р.); Всеукраїнській науково-практичній конференції «Інфекційні хвороби в практиці лікаря-інтерніста: сучасні аспекти» (м. Суми, 2019 р.); Всеукраїнській науково-практичній конференції інфекціоністів і пленуму ГО «Всеукраїнська асоціація інфекціоністів» (м. Кропивницький, 2019 р.).

Апробація дисертаційної роботи відбулась на фаховому семінарі з апробації дисертаційної роботи Запорізького державного медичного університету 13 жовтня 2020 року.

### **Публікації**

За матеріалами дисертації опубліковано 19 наукових праць (19 публікацій та 1 патент на корисну модель), з них 7 статей, серед яких 4 - у фахових наукових виданнях України (2 статті відносяться до міжнародної наукометричної бази «Web of Science»); 3 статті - у виданнях інших держав, 1 з яких надрукована у журналі, який включено до наукометричної бази «Scopus»; 1 стаття у науковому виданні зарубіжної країни, яка входить до Європейського Союзу (Польща); 1 стаття у науковому виданні Республіки Білорусь), 11 тез у матеріалах конгресів та конференцій.

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертаційна робота викладена державною мовою на 222 сторінки і складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів та методів дослідження, 3 розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення отриманих результатів, висновків та практичних рекомендацій, списку використаних джерел (із них кирилицею – 28, латиницею – 213), та додатків. Роботу ілюстровано 38 таблицями, 15 рисунками.

## РОЗДІЛ 1

# СУЧАСНІ УЯВЛЕННЯ ПРО МЕХАНІЗМИ ФОРМУВАННЯ ТА ОСОБЛИВОСТІ КЛІНІЧНИХ ПРОЯВІВ HCV-АСОЦІЙОВАНОЇ ЗМІШАНОЇ КРІОГЛОБУЛІНЕМІЇ, ПІДХОДИ ДО ПРОТИВІРУСНОГО ЛІКУВАННЯ ХРОНІЧНОГО ГЕПАТИТУ С ТА ПРЕДИКТОРИ ЙОГО ЕФЕКТИВНОСТІ

### 1.1 Сучасні уявлення про імунопатогенетичні механізми формування змішаної кріоглобулінемії як позапечінкового прояву хронічного гепатиту С

Вірус гепатиту С (HCV) є найчастішою причиною ураження печінки через високу частоту хронізації цієї інфекції, а саме більш ніж в 80 % випадках. Згідно останніх даних у світі зареєстровано 71 млн хворих на ХГС, або приблизно 1 % від усього населення планети. Поширеність ХГС у Східній Європі складає за офіційними даними 2,1-3,4 % (від 4,2 до 7,0 мільйонів людей). В Україні розповсюдженість ХГС перевищує як загально світові, так і регіональні показники та складає 5,0 %, що ставить нас у топ 10-ти країн, в яких зафіксовано 80 % від усіх випадків ХГС у світі [25]. У 2016 році HCV став причиною смерті 399 тисяч людей у всьому світі. ХГС є головною причиною розвитку цирозу печінки та гепатоцелюлярної карциноми, що разом у 2015 році призвело до 1,2 мільйона смертей. Діагностика ХГС ускладнюється скудністю клінічної симптоматики, наявністю у частини хворих позапечінкової симптоматики, слабким епідемічним контролем, відносно високою вартістю комплексу лабораторних тестів. Лікування цієї інфекції існує та удосконалюється, проте воно досі має високу вартість, що потребує розробки методів прогнозування його ефективності та розробки індивідуальних підходів до вибору схеми ПВТ [1 - 2].

У процесі дослідження HCV було відкрито, що вірус може розмножуватися не лише у гепатоцитах, а й поза них – у лімфоцитах, моноцитах, периферичних дендритних клітинах, макрофагах [26 - 28]. Дана властивість вірусу є причиною виникнення позапечінкових клінічних проявів хвороби. Цей процес пов'язаний із наявністю на поверхні зазначених клітин рецептору CD81 [29]. Саме на цьому рецепторі формується комплекс із CD19/CD21 до якого вже приєднуються оболонкові рецептори вірусу (E1/E2) задля проникнення HCV усередину клітини [30 - 31]. У результаті цього процесу у незрілому В-лімфоциті активується проліферація клітини, але це відбувається на тлі генетичних транслокацій з 18 на 14 хромосому гену *b1c2*, що зустрічається у 35-38 % випадків ХГС [32 - 34]. Це викликає зниження порогу активації лімфоциту (через продукцію зміненого *b1c2*-білку), його ненормально довге життя, підтримує монотипічну селекцію мутантного варіанту клітини та початок продукування  $\gamma$ -глобулінів класу М із властивостями ревматоїдного фактору, тобто автоантитіл, які можуть осідати (преципітувати) за температури нижче 37°C. Перші опубліковані дані про наявність білків сироватки крові, які спонтанно зворотно осідають на стінках пробірки при обов'язковому охолодженні до температури нижче 37°C, датуються першою половиною 20-го сторіччя, коли дослідники використали описи 9 клінічних випадків холодової преципітації глобулінів у хворих. У результаті невідомий на той час новий  $\gamma$ -глобулін назвали «кріоглобуліном» та почали вивчати це явище [35]. Багаточисельні дослідження [36 - 40] лише підтверджували теорію, що ХГС є головною причиною появи кріоглобулінів у сироватці крові. Це давало змогу більш досконально вивчати патогенез розвитку кріоглобулінемії у контексті з'ясування патогенезу ХГС [26, 30, 41].

У подальших дослідженнях було виявлено, що кріоглобуліни включають в себе різні імуноглобуліни: IgA, моно- та поліклональні IgM, IgG, білок Бенс-Джонса. На основі аналізу їх співвідношення та частоти визначення у сироватці крові різних хворих, кріоглобуліни були розділені на 3 типи. I тип складає 24,5 % від досліджених випадків та представлений із

моноклональних IgM (13,0 %), IgG (8,0 %), IgA (2,5 %) та білку Бенс-Джонса (1,0 %). До II типу були віднесені 25,5 % хворих зі змішаними кріоглобулінами до яких входили як моноклональні, так і поліклональні поєднання імуноглобулінів, а саме IgM-IgG (22,0 %), IgG-IgG (2,5 %) та IgA-IgG (1,0 %). III тип виявився найбільшим за частотою виявлення серед пацієнтів (50,0 %) та був представлений змішаними поліклональними кріоглобулінами, які поєднувалися у зв'язки IgM-IgG (43,0 %) та IgM-IgG-IgA (7,0 %). У подальшому через найбільшу розповсюдженість II та III типи кріоглобулінів об'єднують у одну групу – змішані кріоглобуліни [42 - 43].

Змішані кріоглобуліни у судинному руслі зв'язуються з IgG до HCV та антигенами самого вірусу, що в результаті формує циркулюючий імунний комплекс (ЦІК) [44]. У нормі ЦІК повинні бути фагоцитованими макрофагами та знищеними, проте наявність у його складі антигенів HCV, блокує функціонування лізосомальних ферментів у складі фагоцитів, що нівелює цей процес [45]. Хронічна стимуляція антигенами HCV та селекція мутантного варіанту В-лімфоцитів призводить до імунної дисрегуляції, що у подальшому викликає маніфестацію змішаної кріоглобулінемії та злоякісної трансформації В-лімфоцитів у В-клітинну лімфому [46, 49].

Як вже було зазначено вище, при наявності транслокації з 18 на 14 хромосому гену *b1c2* та наявності змішаної кріоглобулінемії спостерігається продукція ревматоїдного фактору класу М. Дана асоціація зустрічається за даними різних авторів від 12,0 до 70,0 % [47 - 50]. Також можуть зустрічатися ізотопи у вигляді ревматоїдного фактору класу А та G [51].

Ревматоїдний фактор класу М у складі змішаних кріоглобулінів та ЦІК викликає активацію системи комплементу (найбільше С4-компоненту) у судинному руслі. В результаті даної активації С4-компоненту його кількість знижується у сироватці крові. Слід зазначити, у той самий час ЦІК не зв'язуються із компонентами системи комплементу, а через блокування лізосомальних ферментів у макрофагах та моноцитах, ЦІК продовжують вільно циркулювати та відкладатися у ендотелію судин. Ці процеси

(активація системи комплементу та відкладання ЦК) в результаті викликають кріоглобулінемічний васкуліт, що може проявлятися різноманітною клінічною картиною [46, 52].

За спектром поглинаючого ультрафіолетового випромінювання та вмістом азоту змішані кріоглобуліни нагадують  $\gamma$ -глобуліни, проте перші не розчинні у сольових розчинах. Тому був зроблений висновок, що його маса та в'язкість більша, що пояснювало локалізацію його випадіння, а саме у дистальних судинах, де температура тіла могла знижуватися нижче за 37°C [35]. Сучасні дослідники повідомляють, що найбільш частими клінічними проявами змішаної кріоглобулінемії є наступні [49, 53 - 56]: шкірна пурпура (40-98 %), артралгічний синдром (20-90 %), периферична нейропатія (20-80 %), виражена загальна слабкість (50 %), ураження нирок (20-50 %), синдром Рейно (20-30 %). До більш рідкісних проявів, які зустрічаються до 15 % від усіх зареєстрованих, відносять дистальні виразки та некрози, холодову кропивницю, ураження центральної нервової системи, травного тракту, серцево-судинної системи та легень. Пурпура може поєднуватися з проявами синдрому Рейно та розвитком виразок чи некрозів у дистальних відділах кінцівок у разі наявності у хворого кріоглобулінів I типу. Артралгічний синдром частіше за все уражає кисті, коліна та стегна, на відміну від ліктів та щиколоток, біль у яких турбує пацієнтів значно рідше. Нейропатія представлена дистальною сенсорною, моторною чи сенсорно-моторною полінейропатією, більш рідше – невропатичними болями та парестезіями. Ураження нирок, як правило, є пізнім проявом змішаної кріоглобулінемії та проявляється у вигляді нефротичного чи нефритичного синдромів. При біопсії виявляються ознаки розвитку мембранопрліферативного гломерулонефриту з мезангіальною проліферацією, еозинофільні тромбози судин, васкуліт, фібриноїдний некроз [43, 53]. Тобто найбільш розповсюджені симптоми HCV-асоційованої змішаної кріоглобулінемії повністю відповідають тріаді Мельтцера, дані про яку були опубліковані автором у 1966 році [57].



Згідно сучасних даних HCV є причиною 80-90 % усіх випадків зареєстрованої змішаної кріоглобулінемії [33, 46]. З них біохімічно змішана кріоглобулінемія виявляється у 40-60 % пацієнтів, а клінічні прояви з'являються значно рідше, при цьому частота їх виявлення коливається від 5 % до 10 % [5, 46, 58].

HCV-асоційована змішана кріоглобулінемія часто поєднується із автоімунними захворюваннями, найбільш розповсюдженими з яких є: синдром Шегрена [59 - 60], системний червоний вовчак [61], ревматичний артрит [46, 50], вузликовий поліартеріт [62]. Також рідше можуть спостерігатися онкологічні захворювання – В-клітинна неходжкінська лімфома (наприклад, макроглобулінемія Вальдестрема) та мієломна хвороба [55, 62]. Серед інших позапечінкових уражень, що можуть розвинути у хворих на ХГС, слід зазначити ендокринологічні порушення: автоімунні порушення щитоподібної залози [63], цукровий діабет 2-го типу, резистентність до інсуліну [64].

Згідно систематичного огляду даних щодо причин смертності хворих від синдрому Шегрена, який включав у себе 7888 випадків, було виявлено достовірний сумарний рівень ризику (RR) впливу змішаної кріоглобулінемії (RR=2,62, (95 % CI 1,77, 3,90)) та васкуліту (RR=7,27 (95 % CI 2,70, 19,57)) [65]. Також було опубліковано дані про розповсюдженість HCV-інфекції серед хворих на синдром Шегрена, а саме 13 % з майже 800 пацієнтів [66]. За результатами мета-аналізу наявність ХГС підвищує ризик розвитку синдрому Шегрена у 3 рази, порівняно зі здоровими людьми [67]. ХГС може бути тригером розвитку системного червоного вовчаку у пацієнтів, які мають генетичні передумови. Часто клінічні прояви «ідіопатичного» системного червоного вовчаку мають багато спільного із проявами (шкірні та неврологічні прояви, артралгії, виражена загальна слабкість, синдром Рейно) ХГС зі змішаною кріоглобулінемією [61, 68]. У хворих з ХГС-асоційованим вузликовим поліартерітом у клініці часто спостерігаються підвищення температури тіла, зниження маси тіла, артеріальна гіпертензія, тяжкі

сенсорно-моторні мультифокальні мононейропатії, мікроанверизми у нирках та печінці [62]. Опубліковані дані, що у хворих на ХГС жіночої статі з наявними змішаними кріоглобулінами є підвищений ризик розвитку порушень щитоподібної залози у вигляді гіпотиреозу на тлі підвищеної циркуляції автоантитіл до тиреопероксидази [63]. Це може призводити до підвищення частоти розвитку папілярного раку щитоподібної залози, порівняно зі здоровими людьми [69]. Печінка відіграє велику роль у вуглеводному обміні та за наявності її ураження при ХГС, виникає ризик розвитку резистентності до інсуліну та цукрового діабету 2-го типу [64]. Аналіз хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією без цирозу печінки показав, що цукровий діабет 2-го типу зустрічається достовірно частіше, порівняно зі здоровими людьми [62].

Зазначені вище процеси пов'язані як з зовнішніми тригерами, так і внутрішніми. З появою молекулярно-генетичних досліджень стало можливим з'ясування впливу певних генетичних факторів на розвиток змішаної кріоглобулінемії. Наприклад, однонуклеотидний поліморфізм генів поблизу NOTCH4 (rs2071286) на 6 хромосомі та людського лейкоцитарного комплексу гістосумісності (HLA) II класу (rs9461776) показали зв'язок між мінорними алелями та розвитком кріоглобулінемічного синдрому й лімфопроліферативних захворювань. Для NOTCH4 rs2071286 це був T-алель, а саме у складі СТ-генотипу, для HLA-II rs9461776 – G-алель у складі гомозиготи [70 - 71]. Проте слід зазначити, що генетичні причини розвитку змішаної кріоглобулінемії та маніфестації кріоглобулінемічного синдрому ще тільки на початку вивчення.

Діагностика змішаного кріоглобулінемічного синдрому базується на клінічних проявах захворювання, виявлення у сироватці крові змішаних кріоглобулінів, антитіл до HCV (anti-HCV), рибонуклеїнової кислоти вірусу гепатиту С (HCV-RNA), вмісту ревматоїдного фактору IgM та зниження кількості С4-компоненту системи комплементу (непряма ознака). Для виключення автоімунних захворювань проводять дослідження на виявлення

антинуклеарних антитіл, антимітохондріальних антитіл, антитіл до гладкої мускулатури та антитіл до ядерних антигенів [44, 46, 53]. В Україні діагностика змішаної кріоглобулінемії базується на спектрофотометричному методі, за допомогою якого визначається різниця між оптичною щільністю досліджуваної сироватки крові при температурі 4°C та 37°C [72].

Проблемою сучасної інфектології є той факт, що у більшості хворих ХГС перебігає асимптомно, а частота клінічних проявів змішаної кріоглобулінемії не перевищує 10 % [5, 46, 58]. При цьому має місце прогресування фіброзу печінки з формуванням цирозу печінки та гепатоцелюлярної карциноми [55, 62].

Таким чином, ХГС з розвитком позапечінкових проявів у вигляді змішаної кріоглобулінемії залишається актуальною проблемою інфектології. Нез'ясованим залишається питання причин значної різниці між біохімічно діагностованою змішаною кріоглобулінемією та її клінічною маніфестацією. Це потребує подальших досліджень імунопатогенетичних аспектів та пошуку інформативних молекулярно-генетичних предикторів розвитку цього позапечінкового прояву ХГС.

## **1.2 Однонуклеотидний поліморфізм генів інтерлейкінів та його роль в перебігу захворювань печінки**

Однонуклеотидний поліморфізм (ОП) є варіацію зміни розміщення у парі нуклеотидів (Аденін-Тимін, Гуанін-Цитозін) в дезоксирибонуклеїновій кислоті індивідуумів. Це найбільш розповсюджений тип генетичної мінливості у людей. Щоб такі зміни у парах нуклеотидів назвали ОП, він повинен зустрічатися менш ніж у 1 % населення планети. Загалом у дезоксирибонуклеїновій кислоті такі заміни зустрічаються один раз на 1000 нуклеотидів. У однієї людини може спостерігатися від 4 до 5 млн таких поліморфізмів. На даний час відомо приблизно про 100 млн ОП в популяції у всьому світі. Такі заміни нуклеотидів призводять до зміни амінокислотної

структури білку, що буде синтезовано з матриці дезоксирибонуклеїнової кислоти, що у свою чергу призведе до змін у його активності. ОП може впливати на схильність до різних захворювань [73 - 74].

Дослідження ролі ОП при різних патологічних станах у теперішній час проводиться активно по всьому світі. Наприклад, численні дослідження є у пульмонології щодо ризику розвитку бронхіальної астми та можливості передбачення ефективності призначеного лікування. Так, ОП у генах ADRB2 (rs1042714) [75] та CD14 (-159 C/T) [76] має захисні властивості від розвитку бронхіальної астми як у загальній популяції людей, так і серед дитячого населення. У протипагу цьому ОП у гені CTLA4 (+49A/G) є важливим фактором ризику розвитку бронхіальної астми, особливо у азіатського населення, дітей та хворих з атопією [77], так само як ОП у гені ADAM33 (rs2280090 G/A, rs612709 G/A та rs511898 C/T) [78], TLR2 (rs3804099) та TLR4 (rs4986791) [79], TLR2 (rs4696480) [80], TSLP (rs10455025) та IL13 (rs20541) [81]. Паралельно з цим проводиться пошук предикторів успішності призначення патогенетичного лікування бронхіальної астми. На теперішній час найбільш перспективним є ОП у гені ADRB2 (Arg16) який підвищує ефект від використання довготривалих агоністів  $\beta$ 2-адренорецепторів [82].

Систематичний огляд літератури показав, що ОП в гені AIRE, а саме у локусах rs2075876 (A/G) та rs760426 (A/G) підвищує частоту виявлення ревматоїдного артриту у азіатської раси [83]. Інший мета-аналіз продемонстрував, що ОП у районі гену-кодувальника мікро-RNA (головною функцією якої є регуляція процесів проліферації, диференціації, апоптозу, імунної відповіді та запалення), а саме в позиції rs2910164 (G/C) пов'язується із підвищеним ризиком маніфестації ревматоїдного та псоріатичного артриту. При цьому ОП у локалізації rs3746444 (T/C) був фактором розвитку ревматичного артриту серед Кавказького населення [84]. Великий мета-аналіз робіт, пов'язаних із ОП гену RTPN22 алелю 1858 (C/T), показав глобальне значення цього поліморфізму у ризику розвитку 12 автоімунних захворювань (ревматоїдний артрит, цукровий діабет тип 1, системний

червоний вовчак, ювенільний ідіоматичний артрит, міастенія та інші) [85]. Також ОП починають використовувати для прогнозування успішності лікування автоімунних захворювань. У мета-аналізі показано, що ОП у генах MTHFR 677C>T (rs1801133), ATIC 347C>G (rs2372536), RFC-1 80G>A (rs1051266) та ABCB1 3435C>T (rs1045642) пов'язаний з більшою токсичністю метотрексату при лікуванні ревматоїдного артриту [86].

Серед дослідників багато уваги приділяється з'ясуванню ролі поліморфізму генів інтерлейкінів через його вплив на активність медіаторів із запальними та протизапальними властивостями. Мета-аналіз щодо поліморфізму гену IL-10 -1082G/A показав, що саме генотип AA, підвищує ризик розвитку ревматичної хвороби серця [87]. При ОП гену IL-19 (rs17581834) та наявності алелю T спостерігається підвищення ризику розвитку інсульту та інфаркту у хворих на системний червоний вовчак. Це пов'язують також із вищим вмістом IL-10 у сироватці крові хворих [88].

Нами був знайдений мета-аналіз [89], який продемонстрував сильний зв'язок вірогідності розвитку та прогресування виразкового коліту з ОП гену IL-17. Схожі дані отримані у іншому мета-аналізі [90] щодо впливу на канцерогенез у цілому. При аналізі публікацій, які включали дослідження ОП генів IL-17A (rs2275913 G197A) та IL-17F (rs763780 T7488C), було визначено, що обидва поліморфізми мають сильний вплив на розвиток пухлин. Генотип GG поліморфізму гену IL-17A (rs2275913) частіше спостерігався у хворих на колатеральний рак, а генотип CC IL-17F (rs763780) – у хворих на рак шлунку. Вивчення ролі поліморфізму IL-6 та його зв'язку зі симптомами та гістопатологічними змінами у хворих на целиацію [91] показало, що у хворих достовірно частіше зустрічався поліморфізм гену IL-6 (-572G/C) (rs1800796), порівняно зі здоровими людьми, але він не впливав на симптоми та гістопатологічні зміни. Також спостерігався значно вищий рівень IL-6 у хворих на целиацію, порівняно зі здоровими людьми [92].

Дослідження ОП генів інтерлейкінів у контексті вивчення імунопатогенезу інфекційних захворювань є особливо актуальним. В

результаті дослідження зв'язку поліморфізму гену ІЛ-10 (rs1800872) з перебігом вітряної віспи та оперізувального герпесу отримано дані, що при наявності ТТ-генотипу достовірно частіше спостерігається тяжкий перебіг зазначених хвороб, що можливо було пов'язано із більш високим вмістом ІЛ-10 у сироватці хворих в дебюті захворювання [93].

В дослідженні [94] доведено роль поліморфізму генів TLR4 (Asp299Gly) та TLR7 (Gln11Leu) в перебігу ВІЛ-інфекції в поєднанні з ХГС. За наявності алелю 299Gly гену TLR4 спостерігалось підвищення ризику коінфекції. Також було виявлено гендерну асоціацію носійства алелю 11Leu гену TLR7 серед жінок із ВІЛ-моно та коінфекцією ХГС при порівнянні із чоловіками. Носійство алелей DRB1\*11, DRB1\*03 та DRB1\*16 поліморфізму гена HLA-DRB1 II класу показало високий ризик захворіти на ВІЛ-інфекцію [95]. При цьому у ВІЛ-інфікованих чоловіків із DRB1\*01 та жінок із DRB1\*16 достовірно частіше спостерігалось ураження головного мозку. Були виявленні позитивні та негативні кореляції між швидкістю прогресування ВІЛ-інфекції та поліморфізмом гену HLA-DRB1 II класу [95].

Прогнозуванню розвитку фіброзу печінки при вірусних гепатитах присвячена певна кількість публікацій. Так, результати дослідження TLR4 у локусі rs11536889 (G/C) виявили вплив алелю С на фібротичні зміни у печінці, що демонструє більш високі ступені фіброзу печінки у носіїв даного алелю [96]. Доведено вплив «мутантних» генотипів Gln11Leu+Leu11Leu та 11Leu гена TLR7 на швидкість прогресування фіброзу печінки у хворих з ВІЛ/ХГС, а саме вказані поліморфізми можуть відігравати протективну роль у цьому процесі [97].

Дослідження імунопатогенетичних аспектів перебігу HCV-інфекції привело дослідників до думки про генетично обумовлену різницю між людьми у яких відбувається спонтанна елімінація вірусу та тими, у яких відбувається хронізація процесу. Доведено, що алель Т поліморфізму гену ІЛ-28В (rs74597329), алель С поліморфізму гену HLA-DQB1 (rs2647006) та алель А поліморфізму гену GPR158 (rs1410932) мають високий вплив на

процес спонтанної елімінації HCV у людей як європейської, так і африканської раси. Про вплив перших двох поліморфізмів повідомлялось і раніше [98 - 100], проте у нещодавньому мета-аналізі вони підтвердились на більшій когорті пацієнтів та доповнились новим предиктором у вигляді поліморфізму гену GPR158 [101].

Поліморфізм генів інтерлейкінів можна використовувати у якості маркерів-предикторів динаміки розвитку фібротичних змін у печінці. Було проведено дослідження швидкості фібротичних змін у печінці у хворих, які не відповіли на ПВТ за ІФН-вмісними схемами терапії. Оцінку проводили за результатами морфологічного дослідження гепатобіоптатів до та після лікування із середнім інтервалом в 6,2 роки. Було показано, що генотипи TG/GG поліморфізму гену IL28B (rs8099917) та генотипи CG/GG поліморфізму гену PNPLA3 (rs738409) асоціювалися з достовірно вищою швидкістю зростання рівню фібротичних змін. Разом із підвищеною активністю АЛТ у сироватці крові після закінчення ПВТ, вказані поліморфізми були незалежними предикторами швидкого прогресування фіброзу печінки [102]. Аналіз поліморфізму гену TNF $\alpha$  (-G308A) показав також вплив на швидкість та частоту розвитку патологічних змін у печінці. Алель А даного ОП асоціювалася із високими стадіями фіброзу печінки, а саме F2-F4. Також генотипи GA/AA виявлялися достовірно частіше у пацієнтів із запаленням, стеатозом та фіброзом печінки, згідно поетапного логістичного регресійного аналізу [103]. Поліморфізм TLL-1 (rs17047200) показав наявність більш високої швидкості відновлення печінки після проведення ПВТ у пацієнтів із AA-генотипом та рівнем фіброзу, який не перевищував F2 включно, порівняно із пацієнтами з більш високим рівнем фібротичних змін [104]. За результатами аналізу поліморфізму гену IL-6 було отримано дані про вплив різних генотипів на ураження печінки. Наприклад, згідно домінантної моделі успадкування носії генотипів GG/CG (rs1800795) мали більший ризик захворіти на ХГС у порівнянні із носіями CC-генотипу. За іншим локусом (rs1800796) поліморфізму гену IL-6 рецесивна модель, а

саме порівняння гомозиготи з G-алелем та носіїв CC/CG-генотипів, показала що пацієнти із GG-генотипом мають більший ризик розвитку захворювання. G-алель у локусі rs1800797 також асоціювався із вищевказаним ризиком [105]. Поліморфізм гену  $\alpha$ -ланцюга рецептору до ІЛ-7 у локусі rs6897932 показав, що носії T-алелю були схильні до більш швидкого розвитку високих ступенів фіброзу печінки (F3-F4) [106].

З моменту появи перших препаратів для лікування ХГС почався пошук предикторів, які б могли персоніфікувати високоякісну терапію та підвищити частоту формування стійкої вірусологічної відповіді (СВВ). В одному з метааналізів досліджували вплив поліморфізму ІЛ-10 – а саме промотори -1082G/A, -819C/T, -592C/A та їх гаплотипів на успішність досягнення пацієнтом СВВ під час лікування рег-IFN $\alpha$ +RBV. У результаті дослідження було виявлено, що гетерозигота G/A та алель G у промоторі -1082 були асоційовані зі зниженням частоти досягнення СВВ. За даними єгипетських дослідників наявність поліморфізму цього нуклеотиду поряд з інфікуванням 4 генотипом HCV має зв'язок зі зниженням ефективності ПВТ. Алель T у промоторі -819 достовірно підвищував успіх застосування рег-IFN $\alpha$ +RBV. Не було виявлено будь якого впливу гаплотипів -592C/A на результативність лікування хворих [17]. Вивчався зв'язок рецепторопоглинача типу В класу 1 (SCARB1 rs10846744) і ІЛ-15 (rs10833) та їх вплив на ефективність ПВТ у пацієнтів, які раніше самостійно лікувалися ІФН-вмісними схемами. Було виявлено, що SCARB1 rs10846744 генотип CC та ІЛ-15 rs10833 генотип AA є сильними предикторами відповіді на ПВТ [18].

Першим сильним предиктором для інтерферонвмісної схеми, який увійшов у національні рекомендації багатьох країн світу став поліморфізм гену ІЛ-28B (rs12979860). Було показано, що у хворих-носіїв CC-генотипу інфікованих 1 генотипом HCV достовірно частіше ПВТ за схемою рег-IFN $\alpha$ +RBV приводило до формування СВВ, на відміну від носіїв генотипів СТ/ТТ [177, 181]. Проте з появою перших препаратів із прямою



протівірусною дією значущість цього маркеру повністю нівелювалася, тому виникла потреба у пошуку нових предикторів для нових схем лікування [19].

Таким чином, дослідження клінічної ролі поліморфізмів генів у теперішній час проводиться досить широко у різних напрямках. Проте у доступній нам літературі ми не знайшли даних щодо впливу поліморфізму генів на процес формування змішаної кріоглобулінемії у хворих на ХГС та ефективність нових схем ПВТ.

### **1.3 Роль поліморфізму генів інтерлейкінів в їх продукції та імунопатогенезі захворювань печінки**

Цитокіни є чисельною групою глікопротеїнів, які виконують роль зв'язку між клітинами організму, в тому числі і імунними. Класифікацій цитокінів існує багато та загалом їх можуть поділяти за: головною активністю (фактор некрозу пухлин та інші), роллю у процесі запалення (ранній або пізній, вроджений або адаптивний, а також прозапальний або протизапальний), місцем продукування (лімфокіни, монокіни, хемокіни, інтерлейкіни), порядковим номером відкриття (ІЛ-1 був відкритий першим у 1948 році [107]), місцем активності (авто-, пара- та ендокринні реакції), впливом на інші цитокіни (синергічний або антагоністичний). У нормі продукція цитокінів відсутня або мінімальна. Вони починають синтезуватися у відповідь на фізіологічні або патологічні стимули, що зумовлює клітинну відповідь. Цей процес має каскадний характер, коли один цитокін посилює продукцію іншого або послаблює. Саме баланс цих протилежних процесів дозволяє дати адекватну відповідь на стимул. Коли цей баланс порушується, виникає патологія [108 - 109].

Дослідження впливу змін у вмісті цитокінів у крові пацієнта є актуальним для різних галузей медицини. У травматології проводили вивчення динаміки концентрації ІЛ-1 $\beta$  та ІЛ-10 у хворих на торакоабдомінальні травми. Було виявлено, що найвищі концентрації цих

цитокінів реєструвалися під час проведення оперативного втручання. Натомість найменші – протягом першої доби після втручань. Особливістю даних змін було те, що виявлялися вони у людей до 40 років, в той час як у хворих старше 40 років зазначені зміни були протилежними [110].

В онкології, а саме під час вивчення хворих на гострий мієлобластний лейкоз, було визначено домінуючу роль змін ІЛ-1 та його рецептору. Дослідники виявили, що ІЛ-1 стимулював ріст попередників мієлоїдних клітин у кістковому мозку у 67 % пацієнтів. Одночасно з цим було виявлено підвищення кількості розчинних рецепторів ІЛ-1 $\beta$  та ІЛ-1. На фоні цього визначалась дефектність зазначених рецепторів, що призводило до порушень контролю клоногенності клітин та прогресуванню гострого мієлобластного лейкозу. У майбутньому на основі зазначених даних можлива розробка препаратів націлених саме на ці патогенетичні ланцюги хвороби [111].

Дослідження у кардіології показали можливий захисний потенціал ІЛ-10. Проводилось дослідження хворих на есенціальну гіпертензію з та без ускладнень. Було виявлено, що рівень ІЛ-10 у хворих без ускладнень був вищим, порівняно із пацієнтами з ускладненнями ( $p < 0,001$ ). Логістичний регресійний аналіз показав асоціацію із 25 % зниженням вірогідності виникнення ускладнень у хворих на есенціальну гіпертензію [112].

Багато робіт по вивченню цитокінів проводять у контексті хвороб з автоімунною, алергічною чи ревматичною складовою. Під час дослідження імунопатогенезу ревматоїдного артрити було виявлено, що у різні стадії захворювання достовірно свій вміст у сироватці крові змінювали наступні цитокіни: TNF- $\alpha$ , ІЛ-6, ІЛ-17, ІЛ-12/23, ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-8, IFN-тип I, гранулоцитарно-макрофагальний колонієстимулюючий фактор (GM-CSF). При оцінці динаміки змін вмісту цих цитокінів було виявлено, що у доклінічній фазі їх концентрація була найбільшою, в подальшому відносно знижувалась у ранню стадію та виходила на плато у хронічну стадію, проте не досягала рівню здорових людей [113]. Було доведено їх роль у патогенезі ревматоїдного артрити. Так, TNF- $\alpha$  викликав активацію остеобластів,

хондроцитів, ендотелію судин, що в результаті призводило до виникнення запалення з подальшою гіпертрофією та пошкодженням суглобів. Одночасно з цим TNF- $\alpha$  потенціював інші цитокіни, зокрема ІЛ-6, GM-CSF та родину ІЛ-1, що призводило до активації та диференціювання Т-лімфоцитів, макрофагів та дендритних клітин [114]. Проте клінічно значущими виявилися не всі з них. Було проведено вивчення можливості досягнення ремісії шляхом блокування вищевказаних цитокінів і було виявлено, що антитіла до ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-17 та ІЛ-12/23 не призводили до клінічного покращення [115 - 117].

Під час дослідження імунопатогенезу системного червоного вовчаку було відзначено, що саме з гіпопродукцією ІЛ-2 пов'язаний початок каскадних імунологічних змін [118]. Було виявлено, що біохімічні та молекулярні дефекти у Т-лімфоцитах пов'язані із абераціями у регуляції генів, що призводили до формування аномального пулу Т-клітин у хворих на системний червоний вовчак, який був причиною недостатньої продукції ІЛ-2. Одночасно з цим відбувалася гіперпродукція ІЛ-17 Т-хелперами 17 типу, що у свою чергу поглиблювало запальний процес у тканинах [118 - 119]. Ці дані підтверджувалися експериментально шляхом екзогенного введення піддослідним мишам ІЛ-2 та зменшення кількості Т-хелперів, що продукували ІЛ-17, що сприяло зменшенню запалення у легенях, нирках та шкірі [120]. Було доведено, прозапальні цитокіни ІЛ-6, ІЛ-21 та ІЛ-23 викликають активацію транскрипційних мішеней STAT3, включаючи ІЛ-17 та VCL6, сприяючи запаленню та підтримуючи вироблення антитіл з В-клітин [121 - 123]. У іншому дослідженні було показано, що комбінація рівню вмісту ІЛ-6 та ЦК мала найбільшу прогностичну значущість в формуванні тяжкості перебігу системного червоного вовчаку [124]. Під час вивчення ролі інших цитокінів була визначена кореляція між IFN- $\lambda$ 1 та вмістом ІЛ-17 при більш тяжких ураженнях органів та систем. Високу активність хвороби також пов'язують із одночасним підвищенням вмісту IFN- $\lambda$ 1 та IFN- $\alpha$ , або ізольованим IP-10, що дає підстави для розробки нових видів терапії [125].

Активно вивчається на сьогодні й імунопатогенез бронхіальної астми. Було показано, що багато цитокінів підвищуються у хворих на бронхіальну астму та хронічні обструктивні захворювання легень, такі як: ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-4, ІЛ-5, ІЛ-6, ІЛ-8, ІЛ-9, ІЛ-10, ІЛ-12, ІЛ-13, TNF $\alpha$  [126 - 129]. У патогенезі бронхіальної астми беруть участь багато ланок. Однією з таких є складовою патогенезу ревматоїдного артриту: активовані Т-клітини диференціюються у Т-хелпери 17 типу та активують процес синтезу ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-6, ІЛ-21 та ІЛ-23. Вони у свою чергу запускають STAT3-механізм у клітині-ефекторі, які у подальшому починають продукувати цитокіни (ІЛ-17 різних сімейств, ІЛ-22, ІЛ-26), які запускають молекулярне та функціональне ремоделювання тканин. В результаті цього починає маніфестувати бронхіальна астма [130]. Дослідження ролі цитокінів у патогенезі хвороб з алергічною складовою має практичне значення. Вплив на цитокіновий вміст у курсі лікування бронхіальної астми є перспективним напрямком терапії. На сьогодні вже існують препарати, які можуть блокувати цілий ряд цих глікопротеїнів: ІЛ-4 та ІЛ-13 [131 - 132], ІЛ-5 [133].

Розглядаючи імунопатогенез вищевказаних хвороб ми можемо побачити, що ІЛ-6 та ІЛ-17 відіграють велику роль у розвитку хвороб із автоімунним компонентом, а також беруть участь у процесах хронічного запалення. Так, наприклад, було встановлено, що вміст ІЛ-6 підвищувався при травмах, після операцій або за наявності первинного чи вторинного інфікування рани. Після проведення операції по заміні суглобу у нормі рівень ІЛ-6 знижувався у перші 48 годин, але при наявності перипротезного ураження суглобу, цього не відбувалося, що дозволило використовувати ІЛ-6 як ранній маркер запалення [134]. У хворих із тяжкою травмою нижніх кінцівок ІЛ-6 у першу добу значно підвищувався за наявності ускладнення, а саме жирової емболії, що дало змогу використовувати цей показник в якості маркера [135 - 136]. Підвищений рівень цього цитокіну спостерігають при ангіотензін-індукованій дисфункції ендотелію [137], що пов'язано з розвитком гіпоксії, яка значно знижується на блокуванні ІЛ-6 антитілами.

Також ІЛ-6 підвищує активність фіброзу у судинній стінці, тим самим знижуючи її еластичні можливості та вносить вклад у розвиток артеріальної гіпертензії [138]. Високий рівень ІЛ-6 стимулює розвиток мієломної хвороби [139], є одним із факторів ризику раку передміхурової [140] та підшлункової залоз [141], холангіокарциноми та гепатоцелюлярної карциноми [142 - 143]. Клінічне значення ІЛ-17 вивчається в багатьох галузях медицини: хірургія [144], онкологія [145], дерматологія [146 - 147]. Було визначено, що при багатьох захворюваннях з наявністю хронічного та гострого запалення, рівні ІЛ-17 значно підвищені. Наприклад, при анальному абсцесі з формуванням фістули [144], атеросклерозі [148], остеоартриті [149], грипі [150]. У дослідженні [151] було виявлено, що підвищений рівень ІЛ-17 сприяє розвитку сепсису у хворих на політравму.

На моделі мишей [152] було доведено, що підвищений рівень ІЛ-17 спостерігається при розвитку фібротичних змін у печінці. Причиною тому була активація перицитів у перисинусиальному просторі печінки. Високі рівні ІЛ-17 також були виявлені при моделюванні [153] автоімунного гепатиту.

Дані сучасної літератури щодо ролі ІЛ-17 при ХГС мають певні протиріччя. Так, при дослідженні ІЛ-17 у хворих на ХГС було виявлено, що концентрація цього інтерлейкіну достовірно вища, ніж у здорових людей [154 - 156]. У той же час дослідники [157 - 158] навпаки виявили, що у хворих ХГС рівень ІЛ-17 був нижчим, ніж у здорових осіб. При подальшому дослідженні нами знайдені суперечливі дані що до зв'язку ІЛ-17 та рівню АЛТ у крові до початку ПВТ. У дослідженні [155] отримана позитивна кореляція між показниками, у той час як в іншому [156] виявлено негативну кореляцію між ІЛ-17 та АЛТ. З'явилися лише поодинокі дослідження щодо взаємозв'язку ІЛ-17 та ступенем фіброзу печінки [155]. Дослідники [159] виявили сильну кореляцію між рівнем вірусного навантаження та кількістю ІЛ-17 у сироватці крові.

Визначення ролі ІЛ-6 в перебігу ХГС на сьогодні також привертає увагу дослідників. Виявлено, що при ХГС рівень ІЛ-6 був достовірно вищим, ніж у здорових людей [160]. При цьому дослідниками було звернуто увагу на те, що жінки з ХГС, ступенем фіброзу вищим за F2 мали збільшення кількості цитокіну у 2,7 разів, порівняно із здоровими людьми [161]. У той же час не було виявлено статистично значущої різниці вмісту ІЛ-6 між пацієнтами з ХГС без фіброзу та здоровими особами [161].

На сьогодні відомо, що на продукцію цитокінів можуть впливати генетичні фактори хворого, насамперед ОП. Вивчення взаємозв'язку ОП та рівню цитокінів проводили хворим на бронхіальну астму. Було виявлено, що рівні ядерно-транскрипційного фактора NF- $\kappa$ B у хворих на інтермітуючу бронхіальну астму були статистично більші при порівнянні зі здоровими. Вміст ІЛ-6 у носіїв G-алелю поліморфізму гену ІЛ4RA (Ile50Val, A<G) перевищував як показники носіїв A-алелю, так і гетерозигот. Найбільша концентрація ІЛ-4 була зафіксована у носіїв AA-генотипу поліморфізму гену ІЛ4RA з частково контрольованою бронхіальною астмою у порівнянні зі здоровими [162]. При дослідженні впливу поліморфізму гену ІЛ-17A на його вміст було виявлено, що у хворих на бешиху з ОП у локусі rs2275913 (генотип AG) спостерігалась гіперпродукція пов'язаного інтерлейкіну [163]. Інший локус ОП ІЛ-17A (rs8193036) також мав вплив на кількість ІЛ-17A у сироватці крові. Хворі на бешиху із генотипами CC та CT мали статистично більшу концентрацію ІЛ-17A у порівнянні зі здоровими людьми. У той же час, хворі-носії CC-генотипу так само мали більший вміст вищевказаного інтерлейкіну у порівнянні із носіями CT-генотипу [164]. ІЛ-1 $\beta$  та його поліморфізми вивчали також у хворих на онкологічні захворювання. У дослідженні пацієнтів із раком грудей було виявлено, що поліморфізм гену ІЛ-1 $\beta$  у локусах rs1143623 (генотип GC), rs16944 (генотип AG) та rs10490571 (генотип TC) були пов'язані із вищим ризиком його виникнення. Також була зазначена суттєва кореляція вищевказаних поліморфізмів із вмістом ІЛ-1 $\beta$  у сироватці крові та іншими пухлинними маркерами [165].

В інфектології вивчення однонуклеотидний поліморфізмів генів інтерлейкінів також є актуальною темою. У дослідженні хворих на інфекцію пов'язану із вірусом *Varicella Zoster* (вітряна віспа та оперізувальний герпес) було виявлено, що наявність у хворого ТТ-генотипу поліморфізму гену ІЛ-10 (rs 1800872) обумовлювало більш високий вміст самого інтерлейкіну у сироватці крові. Аналіз динаміки змін ІЛ-10 у крові показав достовірне зниження в крові на момент виписки зі стаціонару, проте не до рівню здорових людей [93]. Проводилось дослідження ОП у хворих а бруцельоз, в якому показано, що носійство СТ-генотипу поліморфізму гену ІЛ-4 (С-589Т) обумовлювало значно вищу частоту ризику захворіти на вищезазначене захворювання, той час як СС-генотип – навпаки мало захисний характер. Це підтверджувалося фактом наявності цього генотипу у хворих із легким перебігом гострого бруцельозу. Доведено також роль ОП гену ІЛ-6 (-174 G/C) в перебігу гострого бруцельозу, а саме показано більш легкий перебіг хвороби у носіїв GG-генотипу. Носійство гетерозиготи ОП гену TLR-4 (Asp299Gly) також асоціювалося з легким перебігом бруцельозу [166].

При вивченні впливу поліморфізму генів інтерлейкінів на перебіг ХГС, нами було знайдені роботи також пов'язані із ІЛ-17. Дослідники [15] виявили зв'язок поліморфізму ІЛ-17 (rs2275913 G197A) з розвитком гепатоцелюлярної карциноми у хворих на ХГС. За їх даними, генотипи GG та GA+GG підвищували ризик появи цього ускладнення, у той час як генотип AA мав протективний ефект. Але дослідження проводилося на малій кількості хворих і потребує подальшого вивчення. Проводилися дослідження що до впливу поліморфізму ІЛ-17 (rs 8193036 та rs 2275913) на результативність ПВТ у хворих на ХГС. Вивчали на схемі, яка включала reg-IFN+RBV. Отримані дані свідчили, що ці поліморфізми не впливали на успішність завершення ПВТ на всіх етапах і на той час єдиним клінічно значущим маркером був поліморфізм ІЛ-28В, а саме генотип ТТ [167]. При вивченні поліморфізму гену ІЛ-6 (-174 G/C, rs1800795) [168] дослідники констатували, що наявність СС-генотипу була лише у хворих на ХГС. Вплив

поліморфізму гену ІЛ-6 (-174 G/C, rs1800795) також виявили на кількісний вміст самого цитокіну, а саме у носіїв CG та GG генотипів концентрація ІЛ-6 була найвищою [169]. Поліморфізми гену ІЛ-6 (-174 G/C та -572 G>C), а саме носійство G та C алелю відповідно, впливали на швидкість розвитку фібротичних змін у печінці хворих на ХГС, які не отримували ПВТ [169]. Іншими ОП були поліморфізм гену  $\alpha$ 1-антитрипсіну. Виявлено, що S поліморфізм  $\alpha$ 1-антитрипсіну (Glu264Val, rs 17580) зустрічався частіше у хворих з циротичними змінами у печінці, порівняно зі здоровими людьми. У той же час Z поліморфізм  $\alpha$ 1-антитрипсіну (Glu342Lys, rs28929474) реєструвався частіше у хворих на ХГС, порівняно зі здоровими [168].

Таким чином, цитокіни відіграють велику роль у захворюваннях з автоімунним, алергічним та ревматичними складовими. Вивчення клініко-патогенетичної ролі цитокінів проводиться у багатьох галузях медицини, в тому числі і в інфектології. З представлених даних, ми бачимо що робіт з вивчення кількісних змін цитокінів у взаємозв'язку з ОП відповідних генів досить мало. В доступній нам літературі було знайдено ще менше робіт, які відносяться до захворювань печінки, а саме хворих із ХГС. Тому це питання потребує вивчення.

#### **1.4 Протівірусна терапія хворих на хронічний гепатит С з урахуванням наявності змішаної кріоглобулінемії, предиктори успішності терапії**

Сучасні підходи до ПВТ хворих на ХГС останнім часом зазнали суттєвих змін у зв'язку із появою протівірусних препаратів з прямим механізмом дії [170]. З моменту відкриття HCV та з'ясуванні його ролі в формуванні хронічного ураження печінки, дослідники почали пошук ефективної терапії ХГС. На перших етапах при використанні монотерапії стандартним IFN $\alpha$  ефективність ПВТ не перевищувала 6 % при контролі СВВ [171]. Тривалий час існувала монотерапія peg-IFN $\alpha$  та в подальшому



комбінація  $\text{peg-IFN}\alpha\text{+RBV}$ , яка мала ефективність в межах 40-65 % [172 - 173]. Результативність лікування хворих на ХГС за схемою  $\text{peg-IFN}\alpha\text{+RBV}$  мала чітку залежність від генотипу HCV, що потребувало різної тривалості ПВТ [24, 174]. Крім факторів HCV, в якості предикторів ефективності подвійної ПВТ приймалися до уваги й фактори хазяїна, а саме вік та стать хворих на ХГС, тривалість захворювання, ступінь виразності фіброзу печінки, наявність позапечінкових проявів та дані щодо проведеної раніше ПВТ [175 - 176].

Вивчення імунопатогенезу ХГС з появою молекулярно-генетичних досліджень дало змогу звернути увагу на поліморфізм гену ІЛ-28В, який виявився сильним предиктором успішності завершення ПВТ за схемою  $\text{peg-IFN}\alpha\text{+RBV}$  у пацієнтів інфікованих 1 генотипом HCV [16]. Багаточисельні дослідження довели, що генотип СС гену ІЛ-28В (rs12979860) асоційований з найвищою частотою досягнення СВВ, в той час як генотип ТТ навпаки, асоційований з низькою ефективністю при застосуванні комбінації  $\text{peg-IFN}\alpha\text{+RBV}$  у хворих на ХГС. Поліморфізм гену ІЛ-28В (rs12979860) певний час використовувався як фактор відбору пацієнтів на терапію [100, 177 - 181].

В сучасній літературі представлена низька досліджень [182 - 183] щодо пошуку інформативних молекулярно-генетичних предикторів ефективності ПВТ ХГС. Так, дослідниками [182] ретроспективно проведено аналіз впливу ОП генів хемокінів CCL3 (rs1063340) та CCL4 (rs1049807) на ефективність ПВТ за схемою  $\text{IFN-}\alpha\text{+RBV}$ . Було визначено, що серед носіїв CG-генотипу CCL3 (rs1063340) та AG-генотипу CCL4 (rs1049807) була найбільша кількість пацієнтів без формування СВВ 24. При подальшому аналізі даних, а саме визначення кумулятивного впливу кількості захисних генотипів у геномі людини (для CCL3 (rs1063340) – генотип GG, для CCL4 (rs1049807) – генотип AA), отримано дані про підвищення частоти кліренсу HCV з організму людини з підвищенням кількості цих алелів (OR=1,76, 95 % CI=1,07-2,91, p=0,027).

Інші дослідники вивчали поліморфізм гену ІЛ-27 (rs153109) у хворих на ХГС [183]. Дослідження проводилось серед пацієнтів, які не відповіли на ПВТ або мали рецидив захворювання після лікування за схемою рег-IFN $\alpha$ +RBV. Було встановлено, що наявність А-алелю поліморфізму гену ІЛ-27 (rs153109) мала позитивний вплив на досягнення хворим СВВ 24 [203].

В роботі інших авторів [184] було виявлено вплив поліморфізму гену IFN- $\lambda$ 4 у локусах rs8099917 (С/Т) та rs12979860 (С/Т) на ефективність ПВТ у хворих на ХГС. Доведено, що у носіїв ТТ-генотипу rs8099917 та СС-генотипу rs12979860 значно підвищувалася частота досягнення СВВ 24 при використанні схеми рег-IFN $\alpha$ +RBV. Ці дані стали основою для проведення багатофакторного аналізу, до якого також включили наявність 1 генотипу HCV, вік (люди старші за 24 роки), відсутність цирозу печінки та низьке вірусне навантаження. При інфікуванні 3 генотипом HCV предиктором успішного завершення лікування стало лише наявність СС-генотипу поліморфізму гену IFN- $\lambda$ 4 rs12979860 [184].

Поява противірусних препаратів з прямим механізмом дії 1-го покоління, а саме боцепревіру та телапревіру дозволили підвищити ефективність ПВТ у хворих на ХГС інфікованих 1 генотипом HCV при проведенні комбінованої потрійної противірусної терапії рег-IFN $\alpha$ +боцепревір/телапревір+RBV. Згідно існуючих на той час рекомендацій EASL (2012) [185] доцільним був диференційований підхід до вибору подвійної або потрійної схеми ПВТ з урахуванням саме поліморфізму гену ІЛ-28В, а саме хворим носіям ТТ-генотипу призначалася терапія посилена боцепревіром або телапревіром через вірогідність низького шансу відповіді на схему рег-IFN $\alpha$ +RBV. Проте у наступні роки було отримано достатньо даних для проведення мета-аналізу, де були зазначені рекомендації [19] та доведено відсутність впливу поліморфізму ІЛ-28В на ефективність ПВТ при проведенні потрійної терапії рег-IFN $\alpha$ +боцепревір/телапревір+RBV хворим на ХГС інфікованих 1 генотипом HCV.

Застосування ПВТ за схемами рег-IFN $\alpha$ +боцепревір/телапревір+RBV в клінічній практиці достатньо швидко показало цілу низьку небажаних ефектів такого лікування, пов'язаних саме із зазначеними препаратами з прямим механізмом дії. Найбільш частими небажаними проявами лікування із застосування боцепревіру були гематологічні. Частота розвитку анемії при лікуванні за схемою рег-IFN $\alpha$ +боцепревір+RBV була у 1,7 рази вища, ніж при лікуванні рег-IFN $\alpha$ +RBV (49 % проти 29 %) та частіше розвиток такої анемії потребував корекції еритропоєтинами (43 % проти 24 %). Іншими за частотою небажаних явищ такої ПВТ були нейтропенія та тромбоцитопенія [186]. При включенні до схеми ПВТ телапревіру найчастішими небажаними ефектами лікування виявилися шкірні прояви, а саме свербіж шкіри та висип (у вигляді екзем, макул, папул та ліхініфікації шкіри), що реєструвалися відповідно у 50 % та 56 % в досліджуваній групі та було значно вище, ніж у групі контролю (28 % та 34 % відповідно). У 5 % хворих висип мав тяжкий перебіг. Зазначені шкірні прояви з'являлися вже на 16-20 день від початку ПВТ та регресували через 4-6 тижнів після закінчення ПВТ. Одночасно із шкірними проявами була зареєстрована більш висока частота анемії у порівнянні із контрольною групою (37 % проти 19 %). Іншими небажаними проявами такої ПВТ були геморой, печіння та свербіж у аноректальній області, що були виявлені майже у третини хворих досліджуваної групи у порівнянні із контролем (29 % проти 7 %) [170, 187 - 188]. Зазначені небажані ефекти ПВТ потребували розробки наступного покоління протівірусних препаратів із прямою дією, які б мали більший профіль безпеки.

З 2014 року поява протівірусних препаратів з прямим механізмом дії другої генерації дозволила скоротити тривалість курсів ПВТ та застосовувати різні схеми лікування, ефективність яких перевищує 90 % [170, 189]. Згідно рекомендацій EASL (2016) [21], практично всі схеми лікування, за виключенням 3D-режиму, включають софосбувір (SOF), який представляє собою інгібітор HCV NS5B полімерази з високим генетичним бар'єром резистентності [22 - 23]. SOF є нуклеотидним попередником діючої

речовини, яка внутрішньоклітинно перетворюється на активний уридинаналоговий трифосфат (GS-461203), який вбудовується у HCV за допомогою ферменту NS5B RNA-полімерази, що спричиняє пригнічення синтезу рибонуклеїнової кислоти вірусу [190]. З 2015 року в Україні здійснюється ПБТ хворих на ХГС за сучасною схемою лікування рег-IFN $\alpha$ +SOF+RBV протягом 12 тижнів, при цьому тривалість курсу не залежить від генотипу HCV [24]. ПБТ за схемами, в які входить SOF показали високу ефективність у пацієнтів, які не відповіли або мали рецидив при проведенні ПБТ за схемами, які використовувалися раніше [191 - 192].

При проведенні ПБТ особливо складну категорію пацієнтів представляють хворі на ХГС з наявністю позапечінкових проявів, зокрема змішаної кріоглобулінемії. Дані літератури свідчать, що при монотерапії рег-IFN $\alpha$  або подвійної терапії рег-IFN $\alpha$ +RBV ефективність такого лікування значно нижче, ніж у хворих без цієї позапечінкової ознаки [193 - 194]. Так, мета-аналіз [193] показав, що у пацієнтів зі змішаними кріоглобулінами частота успішності завершення ПБТ склала у середньому 52 % (95 % CI: 40 %-63 %), що було значно менше при порівнянні із хворими без кріоглобулінемії. Дані великого проспективного когортного контрольованого дослідження лише підтвердили ці дані та виявили у хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією частоту досягнення СВВ 24, що була значно нижчою при порівнянні із когортою хворих без цього позапечінкового прояву хвороби (48,6 % проти 61,4 %) [194]. Тому наявність такого позапечінкового прояву ХГС як змішана кріоглобулінемія вважається одним з предикторів низької ефективності ПБТ за схемою рег-IFN $\alpha$ +RBV. До того ж, частота небажаних ефектів лікування також є вищою [195 - 196].

Слід зазначити, що за наявності клінічних проявів HCV-асоційованої змішаної кріоглобулінемії на тлі ПБТ є ризик загострення кріоглобулінемічного васкуліту із розвитком ураження нирок, появою нейропатії та/або виразково-некротичного васкуліту. До того ж, при проведенні ПБТ хворих на ХГС з наявністю лише біохімічних ознак

змішаної кріоглобулінемії, у частини хворих може відбутися маніфестація клінічних проявів HCV-асоційованого кріоглобулінемічного васкуліту [195 - 196].

Тому на особливу увагу заслуговує з'ясування ефективності та переносимості ПВТ з використанням нових схем, до яких включені препарати з прямим механізмом дії у хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією. В сучасній літературі представлений мета-аналіз [197] в якому проведено оцінку ефективності різних методів лікування хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією. Встановлено, що головним у лікуванні хворих з HCV-асоційованою змішаною кріоглобулінемією є елімінація HCV, видалення змішаних кріоглобулінів із сироватки крові шляхом плазмаферезу (імуноабсорбції) та використання ритуксімабу для пригнічення клонів В-лімфоцитів, що синтезують ці імуноглобуліни [197]. В зазначений мета-аналіз увійшли дані щодо ПВТ за схемою  $\text{peg-IFN}\alpha + \text{RBV}$  через наявність рандомізованих досліджень. Дослідники повідомляють, що також аналізували схеми з включенням нових препаратів з прямою противірусною дією, проте відзначають факт відсутності на момент дослідження достатніх даних про вплив зазначених препаратів на перебіг HCV-асоційованого кріоглобулінемічного синдрому та потребують більшої кількості досліджень [197]. Більшість таких досліджень є не рандомізованими та не контрольованими [198], а також являють собою публікації окремих випадків [199]. Інші дослідження включали у себе порівняння ефективності інтерферон-вмісних схем ПВТ ( $\text{IFN}\alpha$ ,  $\text{peg-IFN}\alpha$  окремо та разом із RBV) із ритуксімабом та використанням стероїдів. Дослідження проводилося протягом 20-ти років та за результатами оцінки клінічного ефекту на прояви HCV-асоційованого кріоглобулінемічного синдрому було виявлено, що найкращий ефект був при лікуванні за схемою  $\text{peg-IFN}\alpha + \text{RBV}$  у порівнянні із використанням зазначених засобів окремо [200].

Вибір оптимальної схеми лікування хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією є складним питанням. З одного боку, дослідники

повідомляють, що за рахунок протипроліферативної активності інтерферонів при застосуванні інтерферон-вмісних схем знижується проліферація клонів В-лімфоцитів, що у свою чергу сприяє зниженню синтезу змішаних кріоглобулінів у хворих на ХГС [201]. Проте при порівнянні результатів ПВТ із застосуванням ІФН-вмісних схем з безінтерферонових режимів була виявлена більш висока частота досягнення СВВ у хворих на ХГС, які отримували безінтерферонове лікування. Однак якщо враховувати вплив ПВТ на регрес клінічної симптоматики, пов'язаної з HCV-асоційованою змішаною кріоглобулінемією, то більший регрес клінічних проявів HCV-асоційованого кріоглобулінемічного синдрому та зменшення кількісного вмісту змішаних кріоглобулінів у сироватці крові досягається у хворих при лікуванні саме ІФН-вмісними схемами, ніж при застосуванні безінтерферонових режимів. Так, регрес клінічних проявів HCV-асоційованої змішаної кріоглобулінемії був відзначений у 76 % проти 68 %, а зменшення кількісного вмісту змішаних кріоглобулінів в сироватці крові у 56 % проти 47 % хворих відповідно [202]. Через досить невелику кількість досліджень [203] ефективності нових схем ПВТ хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією та впливу на прояви HCV-асоційованої змішаної кріоглобулінемії цей напрям потребує подальшого дослідження.

Таким чином, поява нових схем ПВТ із включенням препаратів із прямою противірусною дією потребує пошуку предикторів ефективності лікування та з'ясування впливу ПВТ на динаміку проявів HCV-асоційованого кріоглобулінемічного синдрому.

## **Резюме**

Вірус гепатиту С є найчастішою причиною хронічного ураження печінки з наступним формуванням цирозу печінки та гепатоцелюлярної карциноми. Вивчення патогенезу ХГС показало, що захворювання має системний характер, оскільки HCV здатний уражати не тільки гепатоцити, а й імунні клітини. Доведено, що HCV є головною причиною формування

змішаної кріоглобулінемії через надмірну антигенну активацію В-лімфоцитів, що призводить до синтезу кріоглобулінів та автоантитіл. Внаслідок цього виникає ураження судин з розвитком васкулітів та порушенням функції багатьох органів та систем. Проте імунопатогенетичні механізми формування та маніфестації цього позапечінкового прояву ХГС на сьогодні вивчені недостатньо, а саме залишається відкритим питання визначення факторів ризику клінічної маніфестації HCV-асоційованої змішаної кріоглобулінемії.

На сьогодні на особливу увагу заслуговує вивчення імунологічних змін, зокрема інтерлейкінів, у взаємозв'язку із ОП генів, що їх кодують. При вивченні патогенетичних механізмів формування HCV-асоційованої змішаної кріоглобулінемії привертають увагу прозапальні ІЛ-6 та ІЛ-17 через їх участь в імунопатогенезі захворювань з автоімунними, ревматичними та алергічними складовими, проте їх роль в імунопатогенезі ХГС вивчена недостатньо. ОП генів інтерлейкінів можуть мати вплив на кількісний їх вміст, що у свою чергу впливає на перебіг захворювання.

В сучасній літературі існує багато даних що до використання ОП генів інтерлейкінів у практичній діяльності різних галузей медицини. Однак в гепатології існує лише незначна кількість робіт на цю тему, зокрема пропонується використовувати ОП для прогнозування фібротичних змін у печінці та успішності завершення ПВТ у хворих на ХГС. Найбільш дослідженим є поліморфізм гену ІЛ-28В, який використовували для диференційованого застосування ПВТ за схемою рег-IFN $\alpha$ +RBV. Проте з появою препаратів з прямою противірусною дією цей предиктор втратив свою актуальність, що потребує пошуку нових.

Хворі на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією є більш складною когортою через ризик маніфестації клінічних проявів кріоглобулінемічного синдрому та меншу ефективність ПВТ. Було доведено, що найефективнішим методом зменшення рівню змішаних кріоглобулінів у сироватці крові пацієнтів з ХГС є елімінація вірусу. Найбільшу ефективність у цьому

показали ІФН-вмісні схеми ПВТ через їх протипроліферативний вплив на В-лімфоцити. Проте в доступній нам літературі не було знайдено даних що до впливу поліморфізму генів ІЛ-6 та ІЛ-17 та їх кількісного вмісту на перебіг ХГС у хворих зі змішаною кріоглобулінемією та ефективність ПВТ за схемою peg-IFN $\alpha$ +RBV+SOF, що й обумовило напрямок нашого дослідження.



## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

#### 2.1 Клінічна характеристика обстежених хворих на хронічний гепатит С, здорових осіб контрольної групи, включених в дослідження

У дослідження було включено 149 хворих на ХГС, які були на диспансерному спостереженні в гепатоцентрі Комунальної установи «Запорізька обласна інфекційна клінічна лікарня» Запорізької обласної ради (КУ «ОІКЛ» ЗОР) (головний лікар – Шинкаренко В.Л.). Всі хворі на ХГС були включені у дослідження за добровільною інформованою згодою.

Критерії включення хворих у дослідження:

- Ø Хворі на ХГС віком від 18 років.
- Ø Наявність згоди пацієнта на включення в дослідження.

Критерії виключення хворих з дослідження:

- Ø Хворі віком до 18 років.
- Ø Хворі на ХГС, які мають інфікування іншими гепатотропними вірусами або вірусом імунодефіциту людини.
- Ø Хворі з HCV-асоційованим декомпенсованим цирозом печінки.
- Ø Наявність соматичної коморбідної патології в стадії декомпенсації.
- Ø Відсутність згоди пацієнта на включення в дослідження.

Усі взяті у дослідження особи відповідали критеріям включення у дослідження.

Діагноз ХГС верифікували за допомогою виявлення у крові специфічних антитіл методом імуноферментного аналізу (ІФА) (anti-HCV сумарні, anti-HCVcor, anti-HCVNS3, anti-HCVNS4, anti-HCVNS5) та HCV-RNA за допомогою полімеразною ланцюговою реакцією (ПЛР) з наступним його генотипуванням та визначенням кількісного рівня у всіх пацієнтів. У

всіх хворих результати тестування на маркери інших гепатотропних вірусів були негативні (HBsAg, IgManti-HBcorAg, IgManti-HAV).

Усі хворі були протестовані на наявність антитіл до вірусу імунодефіциту людини у сироватці крові та мали негативний результат. Дослідження проводилось на базі Комунальної установи «Запорізький обласний центр з профілактики та боротьби зі СНІДом» Запорізької обласної ради (головний лікар – Петровська О. Д.).

Група контролю склала 45 здорових осіб, яка статистично не відрізнялась від досліджуваної когорти хворих ні за віком (від 20 до 65 років, медіана та міжквартильний розмах – 38,0 [33,0; 51,0] років), ні за статевим розподілом (чоловіків 30 (66,7 %), жінок – 15 (33,3 %)). Критерії виключення здорової людини із групи контролю були: наявність хронічної патології у стадії декомпенсації чи з тяжким перебігом, інфікування іншими гепатотропними вірусами, вірусом імунодефіциту людини та відсутність інформованої згоди на включення у дослідження.

Вік хворих коливався від 24 до 73 років та склав 42,0 [37,0; 51,0] роки. Серед хворих чоловіків було 98, жінок – 51. Слід зазначити, що найбільша кількість хворих на ХГС, які увійшли до нашого дослідження, відносилися до молодого та середнього віку (141 із 149, 94,7 %) (рис. 2.1).

На момент взяття хворих у дослідження тривалість лабораторно підтвердженого ХГС складала 4,0 [1,0; 8,0] роки. При бесіді із хворим та виявлення можливих шляхів зараження, нами було виявлено, що ймовірна тривалість ХГС на основі клініко-епідеміологічних даних склала 15,0 [6,0; 22,5] років.

Шляхом опитуваннями нами були також зібрані скарги хворих за загальноприйнятою методикою. Ми звертали увагу на наявність чи відсутність вираженої загальної слабкості, артралгій, шкірних проявів, тяжкості у правому підребер'ї, диспепсичних проявів, збільшення розмірів печінки та селезінки.

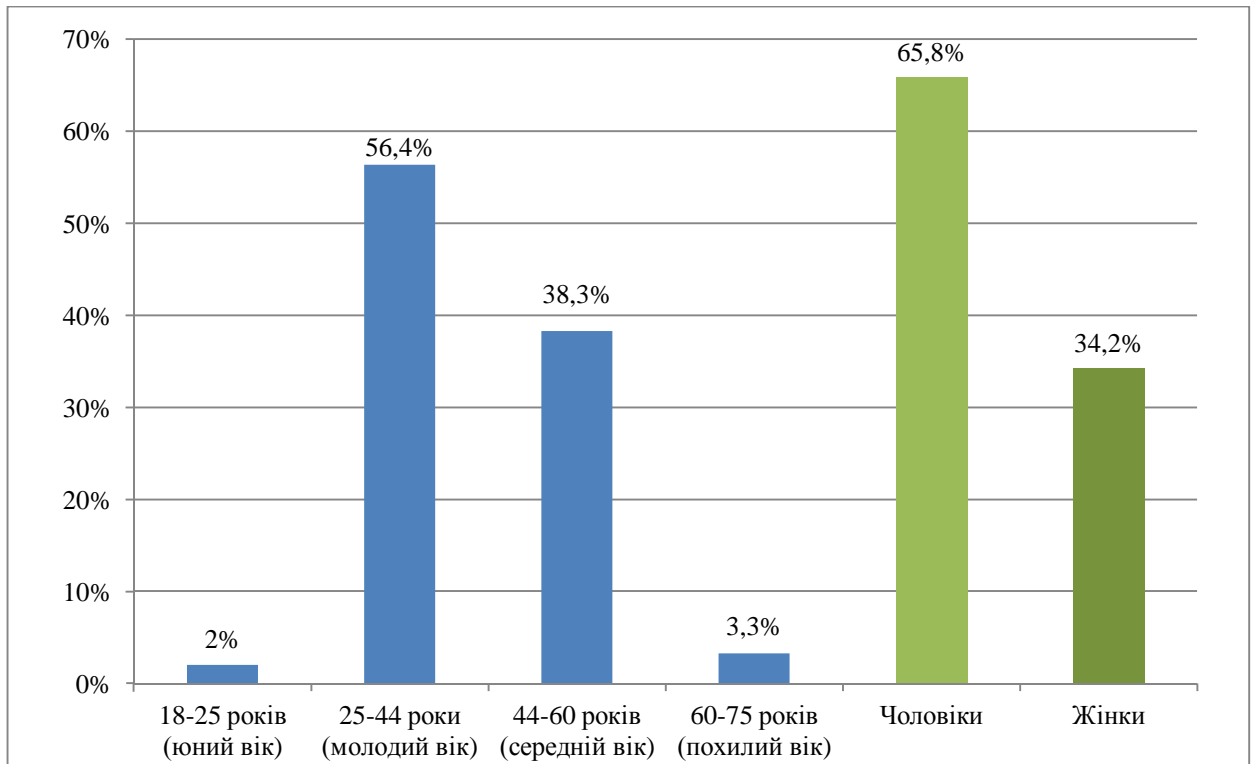


Рисунок 2.1 – Розподіл хворих на ХГС за віковими групами (згідно класифікації ВООЗ) та статтю.

Всі хворі на ХГС були обстежені згідно Наказу МОЗ України від 18.07.2016 № 729 «Про затвердження та впровадження медико-технологічних документів зі стандартизації медичної допомоги при вірусному гепатиті С» [24]. Всім хворим проводили біохімічне дослідження крові з визначенням печінкових проб, а саме рівня загального та прямого білірубіну, активності аланінамінотрансферази (АЛТ), аспартатамінотрансферази (АСТ), лужної фосфатази (ЛФ),  $\gamma$ -глутамілтрансферази (ГГТ) та показника тимолової проби. Всім хворим проводили загальний аналіз крові та загальний аналіз сечі. Хворим проведено ультразвукове дослідження (УЗД) органів гепатобіліарної системи.

Хворим були проведені обстеження на наявність HCV-асоційованого ураження щитоподібної залози, а саме в сироватці крові визначено вміст тиреотропного гормону, тироксину та трийодтироніну. Всім хворим визначали рівень глюкози в крові. За показаннями хворі були консультовані лікарем ендокринологом.

Серед хворих на ХГС було виявлено інфікування 1 та 3 генотипами HCV: 101 (67,8 %) та 48 (32,2 %) пацієнтів відповідно. Вірусне навантаження у 95 (63,8 %) хворих визначалось як високе та перевищувало 400000 МО/мл, відповідно у 54 (36,2 %) хворих на ХГС вірусне навантаження визначалось як низьке (рис. 2.2).

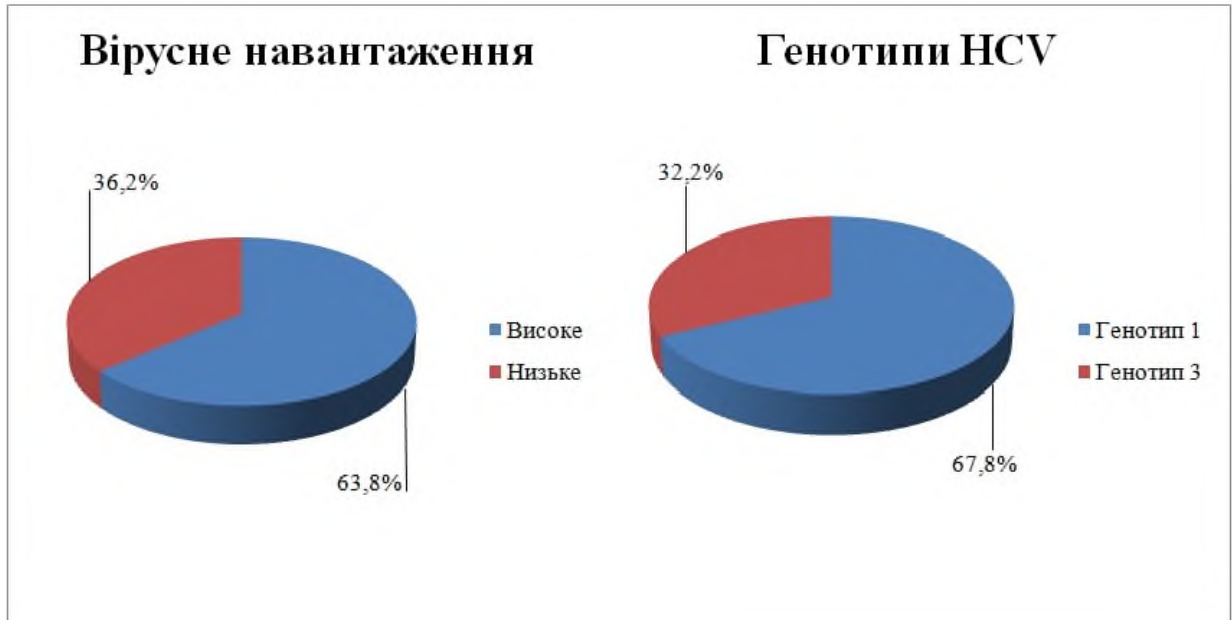


Рисунок 2.2 – Розподіл різних генотипів HCV та рівні вірусного навантаження у хворих на ХГС.

Хворим на ХГС визначали ступінь фіброзу печінки різними методами. Найчастіше для цього використовували неінвазивні тести, а саме фібротест (64 пацієнти – 43,0 %) та еластометрію (82 пацієнта – 55,0 %). Пункційну біопсію печінки з подальшим морфологічним дослідженням гепатобіоптата проведено 3 (2,0 %) хворим. Були отримані наступні дані: найчастіше реєструвалися стадії фіброзу печінки F2 – у 53 (35,6 %) та F3 – у 50 (33,6 %) хворих, рідше було діагностовано стадії F0 – у 11 (7,4 %), F1 – у 23 (15,4 %), F4 – у 12 (8,0 %) хворих (рис. 2.3).

Для визначення ступеня виразності некрозо-запальної активності в печінці використано неінвазійний актитест у 64 (43,0 %) хворих, у інших пацієнтів – за рівнем елевації активності АЛТ в сироватці крові. Розподіл хворих на ХГС за ступенем виразності некрозо-запальної активності в

печінці виявився таким: A0 – у 24 (16,1 %), A1 – у 55 (36,9 %), A2 – у 29 (19,5 %), A3 – у 41 (27,5 %) пацієнтів (рис. 2.3).

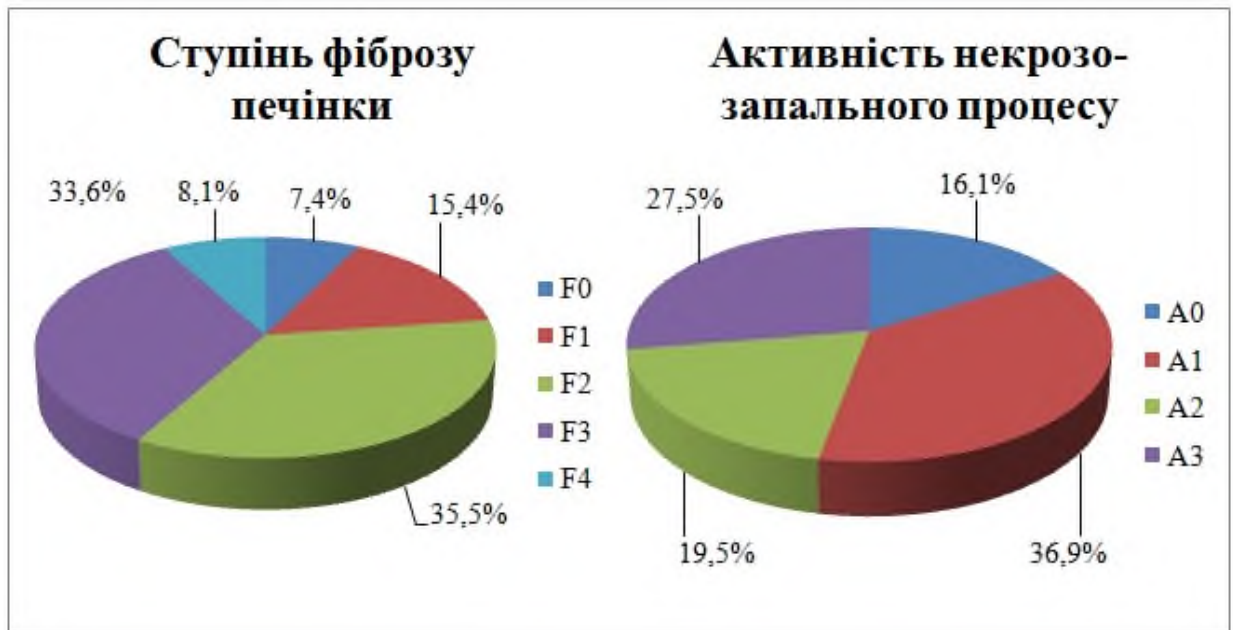


Рисунок 2.3 – Ступінь фіброзу печінки та рівень активності некрозо-запального процесу у хворих на ХГС.

Враховуючи тему та мету нашої роботи всі хворі на ХГС (n=149) були поділені на групи залежно від:

- поліморфізму гену ІЛ-6 в локусі rs1800795:
  - хворі-носії СС-генотипу (n=25)
  - хворі-носії СG/GG-генотипів (n=124)
- поліморфізму гену ІЛ-17 в локусі rs612242:
  - хворі-носії СС-генотипу (n=140)
  - хворі-носії СG/GG-генотипів (n=9)
- наявності змішаної кріоглобулінемії у сироватці крові:
  - виявлена змішана кріоглобулінемія (n=93)
  - немає змішаної кріоглобулінемії (n=56)

Хворі на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією (n=93) були поділені на групи залежно від:

- поліморфізму гену ІЛ-6 в локусі rs1800795:
  - хворі-носії СС-генотипу (n=9)
  - хворі-носії СG/GG-генотипів (n=84)

В нашій роботі включено 83 хворих на ХГС, які отримали курс ПВТ згідно Наказу МОЗ України від 18.07.2016 № 729 «Про затвердження та впровадження медико-технологічних документів зі стандартизації медичної допомоги при вірусному гепатиті С» в рамках виконання Державної цільової програми [24]. Комбіновану ПВТ проводили за схемою рег-IFN+SOF+RBV тривалістю 12 тижнів. При оцінці ефективності лікування враховували негативацію HCV-RNA в крові на 4-му тижні ПВТ – швидка вірусологічна відповідь (ШВВ), вірусологічну відповідь на момент завершення лікування, стійку вірусологічну відповідь (СВВ) на 12-му тижні після завершення ПВТ та СВВ 24 на 24-му тижні після ПВТ.

Хворі на ХГС, які отримували ПВТ (n=83), були розділені на групи залежно від:

- поліморфізму гену ІЛ-6 в локусі rs1800795:
  - хворі-носії СС-генотипу (n=14)
  - хворі-носії СG/GG-генотипів (n=69)
- поліморфізму гену ІЛ-17 в локусі rs612242:
  - хворі-носії СС-генотипу (n=78)
  - хворі-носії СG/GG-генотипів (n=5)
- наявності змішаної кріоглобулінемії у сироватці крові:
  - виявлена змішана кріоглобулінемія (n=48)
  - немає змішаної кріоглобулінемії (n=35)
- наявність відповіді на ПВТ:
  - відповіли формуванням СВВ 24 (n=73)
  - не відповіли формуванням СВВ 24 (n=10)

## 2.2 Спеціальні методи дослідження

Всі спеціальні дослідження були проведені на базі Навчально-лабораторного центру Запорізького державного медичного університету (завідувач – доктор медичних наук, професор Абрамов А.В.).

Всі хворі а також особи контрольної групи за національністю були українцями, які проживали на території Запорізької області мінімум 3 покоління. Всім хворим на ХГС було проведено визначення поліморфізму генів ІЛ-6 (rs 1800795) та ІЛ-17 (rs 612242) методом ПЛР; визначення вмісту ІЛ-6 та ІЛ-17, ревматоїдного фактору (загального, ІgА, ІgМ) у сироватці крові методом ІФА; визначення рівню змішаних кріоглобулінів у сироватці крові спектрофотометричним методом.

Кров для генетичних досліджень відбиралась за допомогою вакутайнерів у спеціальні транспортувальні пробірки з етилендіамінтетрауксусною кислотою з подальшим заморожуванням до -50°C та зберіганням на базі Навчально-лабораторного центру Запорізького державного медичного університету.

Визначення поліморфізмів генів інтерлейкінів ІЛ-6 (rs 1800795) та ІЛ-17 (rs 612242) проводились згідно інструкції з використанням наборів NP-512-100 (Синтол, Россия) для ІЛ-6 (rs1800795) та NP-524-100 (Синтол, Россия) для ІЛ-17 (rs612242).

Після успішної калібровки виконувався аналіз методом дискримінації алелей. Це виконувалось за допомогою корекції порогових ліній (у порівнянні з позитивними контролями) таким чином, щоб зразки розділились на 3 групи, які і були трьома генотипами. Отримані результати формувалися у звіт та виводились у таблицю Excel. У результаті дослідження поліморфізму нами було отримані наступні генотипи для кожного з генів інтерлейкінів: CC, CG та GG. Ці дані використовувались для формування груп та підгруп під час статистичного аналізу.

Для кількісного визначення вмісту ІЛ-6 та ІЛ-17 була використана сироватка крові, яка була отримана шляхом центрифугування цільної крові зі швидкістю 3000 обертів на хвилину на лабораторній центрифугі СМ-6 МТ з подальшим забором не менш ніж 1 мл у епендорф, заморожуванням до  $-50^{\circ}\text{C}$  та зберіганням на базі Навчально-лабораторного центру Запорізького державного медичного університету. У подальшому сироватка використовувалась для визначення вмісту ІЛ-6 та ІЛ-17 за допомогою повноплашкового імуноферментного аналізатора SIRIO-S (Seac, Італія).

Суть методики визначення кількісного вмісту інтерлейкінів виглядає так: на плашки з лунками, в яких на дно нанесені антитіла до інтерлейкінів, вносяться контрольні та досліджувані зразки. Під час інкубації вільна молекула інтерлейкіну зв'язується з антитілами, після чого реакція зупиняється фосфорною кислотою та залишки видаляються. До комплексу інтерлейкін-антитіло додають субстрат, який змінює своє забарвлення прямопропорційно концентрації цього комплексу. Ці розчини розміщують у повноплашковий імуноферментний аналізатор та порівнюють з контрольними зразками, в яких концентрація інтерлейкіну стандартизована.

Перед початком усіх етапів, нами були відібрані пробірки та пронумеровані на листі А4 згідно їх розподілу по плашкам з реактивами.

Дослідження вмісту ІЛ-6 проводилися з використанням набору Human ІЛ-6 HighSensitivity ELISA BMS213HS (Invitrogen, Австрія) та інструкції до нього. Вивід результатів проводився у таблицю Excel. На одному з етапів, згідно інструкції до набору, досліджувані зразки були розведені у 2 рази, відповідно отримані концентрації ІЛ-6 помножувалися на 2 для отримання істинного результату вмісту вказаного цитокіну у сироватці крові.

Дослідження вмісту ІЛ-17 в сироватці крові проводилися використовуючи набір Human ІЛ-17 Platinum ELISA BMS2082 (Invitrogen, Austria) та інструкції до нього. Вивід результатів проводився у таблицю Excel.

Нами було проведено визначення вмісту загального ревматоїдного фактору та окремих його фракцій, а саме ІgА та ІgМ у сироватці крові хворих



на ХГС і здорових людей. Для цього використано повноплашковий імуноферментний аналізатор SIRIO-S з наборами реактивів: загальний ревматоїдний фактор – AeskulisaRf-Check 3160 (AESKU.Diagnostics, Німеччина); ревматоїдний фактор IgA – AeskulisaRf-AGM 3161 (AESKU.Diagnostics, Німеччина) (червоний ковпачок); ревматоїдний фактор IgM – AeskulisaRf-AGM 3161 (AESKU.Diagnostics, Німеччина) (зелений ковпачок). Вивід результатів проводився у таблицю Excel.

Усі зразки сироватки крові були перевірені на наявність змішаної кріоглобулінемії. Принцип методу оснований на здатності змішаних кріоглобулінів зворотно преципітувати при зниженні температури нижче за 37°C.

Змішану кріоглобулінемію діагностували спектрофотометричним методом, визначаючи вміст змішаних кріоглобулінів у сироватці крові. Принцип цієї методики полягає у визначення різниці оптичної щільності розчину сироватки крові у буфері (pH=8,6) при 4°C та 37°C [72]. До 1,0 мл сироватки крові підігрітої до температури +37°C, додавали 1,0 мл нагрітого до такої ж температури 14 % розчину поліетиленгліколя, приготовленого на основі фосфатно-сольового буфера. Після інкубації протягом 2 годин при температурі +37 °C пробу центрифугували протягом 10 хвилин при 3000 об/хв. Супернатант відокремлювали від осаду, інкубували 30 хвилин при температурі +37°C, а потім спектрофотометрично визначали оптичну щільність (OD<sub>37</sub>) при довжині хвилі 500 нм (в якості контролю був 7 % розчин поліетиленгліколю). Після цього сироватку крові протягом 1 години охолоджували при температурі +4 °C та повторно визначали оптичну щільність (OD<sub>4</sub>) при довжині хвилі 500 нм (в якості контролю був 7 % розчин поліетиленгліколю). Вміст змішаних кріоглобулінів визначали шляхом вирахування різниці оптичної щільності розчину сироватки крові із застосуванням формули:  $\Delta OD = OD_4 - OD_{37}$ . Контрольну групу склали 20 здорових осіб. Вважали, що за умов 2,2 опт.од. та вище змішані

кріоглобуліни наявні в сироватці крові. При проведенні дослідження використано спектрофотометр Libra S32PS (Німеччина).

### 2.3 Методи статистичної обробки даних досліджень

Статистичну обробку даних здійснювали з використанням сформованої бази даних пацієнтів в програмі «STATISTICA for Windows 13» (StatSoftInc., №JPZ804I382130ARCN10-J).

Перед початком статистичної обробки даних ми виконали визначення виду розподілу за допомогою тесту Шапіро-Уїлка. В результаті проведеного тестування даних ми визначили, що розподіл даних відрізняється від нормального. Тому у подальшому ми використовували непараметричні методи статистики. Результати кількісних значень ми подавали у вигляді медіани та міжквартильного розмаху – Me [25%; 75%]. Статистичну різницю між кількісними показниками у незалежних групах ми визначали за допомогою критерію Мана-Уїтні, у залежних – критерій Вілкоксона. Відмінності у якісних та порядкових величинах ми визначали за допомогою критерію  $\chi^2$ . Цей метод ми також використовували для пошуку різниці між частотою реєстрації різних генотипів поліморфізмі генів ІЛ-6 (rs 1800795) та ІЛ-17 (rs 612242). Відношення шансів (OR) визначали з використанням формули:  $OR = ad/bc$ , де  $a$  – частота певної алелі у досліджуваної групи,  $b$  – частота певної алелі у групі порівняння,  $c$  і  $d$  – сумарна частота інших алелей в групі дослідження та порівняння відповідно. Межі довірчого інтервалу (95% CI) для OR визначали за допомогою методу Вульфа. Кореляційні зв'язки між кількісними ознаками визначалися за допомогою кореляції Спірмена ( $r$ ), між кількісними та ранговими ознаками – рангової кореляції Кендала Тау ( $\tau$ ). Достовірно значущими вважали відмінності при  $p < 0,05$ . Дискримінантний аналіз проводився за допомогою вищезазначеної програми «STATISTICA for Windows 13» з початковим визначенням найбільш перспективних параметрів, що можуть вплинути на результативність ПВТ. У

подальшому параметри з найменшою достовірністю виключалися з розрахунку.

**РОЗДІЛ 3**

**КЛІНІКО-ЛАБОРАТОРНА ХАРАКТЕРИСТИКА ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ ГЕПАТИТ С ЗАЛЕЖНО ВІД ОДНОНУКЛЕОТИДНОГО ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНІВ ІНТЕРЛЕЙКІНУ-6 (rs 1800795), ІНТЕРЛЕЙКІНУ-17 (rs 612242) ТА НАЯВНОСТІ ЗМІШАНОЇ КРІОГЛОБУЛІНЕМІЇ**

**3.1 Клініко-лабораторна характеристика хворих на хронічний гепатит С залежно від однонуклеотидного поліморфізму гену ІЛ-6 (rs 1800795)**

За результатами проведеного молекулярно-генетичного дослідження ОП гену ІЛ-6 (rs 1800795) у хворих на ХГС та здорових осіб було встановлено, що у пацієнтів частіше виявлялися генотипи з наявністю G-алелю. При цьому GG-генотип було виявлено у 58 (38,9 %) хворих, CG-генотип – у 66 (44,3 %) пацієнтів, а CC-генотип – у 25 (16,8 %) хворих. На відміну від пацієнтів з ХГС, у здорових осіб превалювала частота виявлення генотипів з C-алелю, а саме CC-генотип, який був встановлений у 23 (51,1 %) осіб контрольної групи (табл. 3.1).

Таблиця 3.1 – Частота виявлення генотипів ОП гену ІЛ-6 (rs 1800795) у хворих на ХГС та здорових осіб, абс. (%)

Показник	Здорові люди (n=45)	Хворі на ХГС (n=149)
генотип CC	23 (51,1 %)	25 (16,8 %) *
генотип CG	10 (22,2 %)	66 (44,3 %) *
генотип GG	12 (26,7 %)	58 (38,9 %)

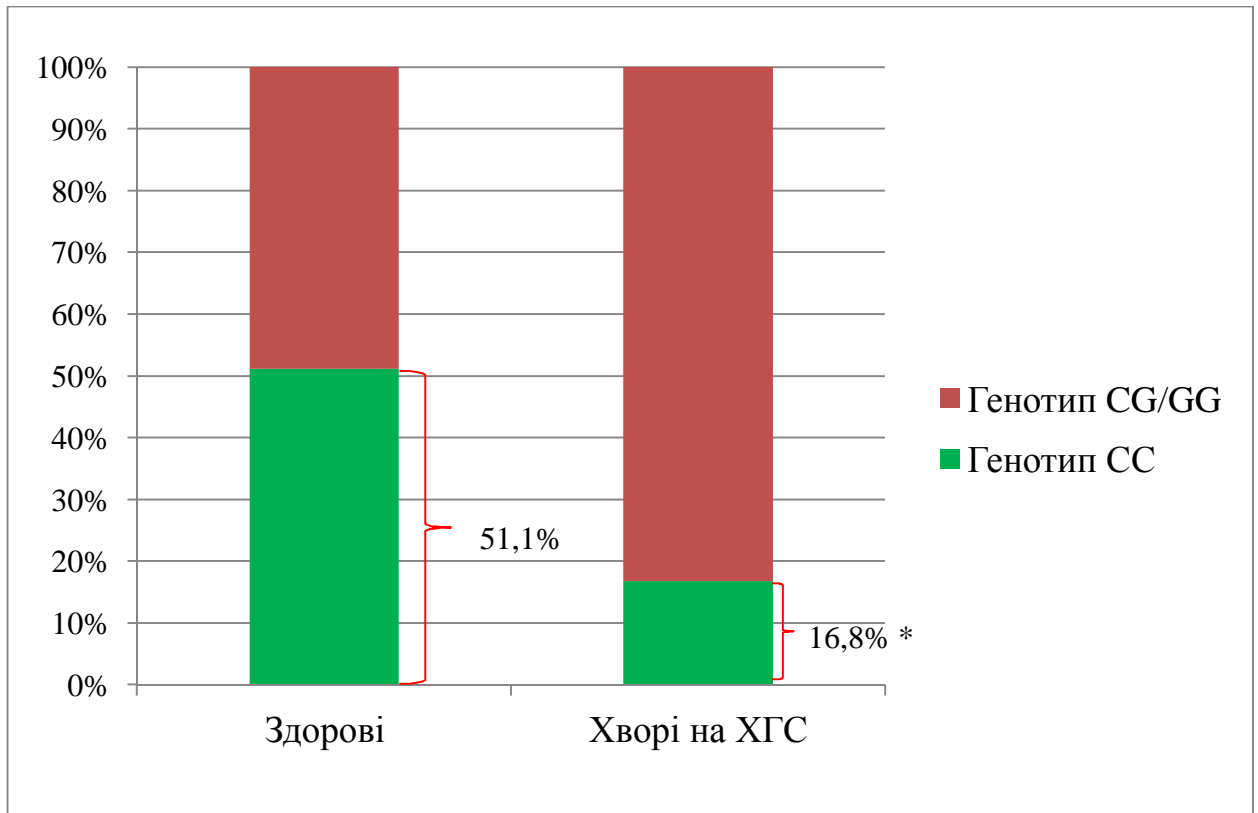
Примітка. \* – різниця достовірна, порівняно зі здоровими людьми (p<0,001).

Отримані нами дані щодо частоти виявлення окремих генотипів ОП гену ІІ-6 (rs 1800795) у хворих на ХГС та здорових людей було проаналізовано згідно домінантної моделі успадкування. За результатами відношення шансів (OR) кожного генотипу щодо можливості впливу на хронізацію гепатиту С було встановлено, що саме значення у генотипів CG та GG більше за одиницю. Наведена модель дала змогу стверджувати про найбільший вплив генотипів CG/GG на ймовірність хронізації HCV-інфекції, що підтверджувалося достовірним значенням OR та довірчим інтервалом (95 % CI) (табл. 3.2).

Таблиця 3.2 – Домінантна модель частоти виявлення генотипів ОП гену ІІ-6 (rs 1800795) у хворих на ХГС та здорових людей

Алелі	Хворі	Здорові	$\chi^2$	p	OR (odd ratio)	
	ХГС	люди			Значення	95 % CI
	n=149	n=45				
Генотип CC	0,168	0,511	21,88	<0,0001	0,19	0,09-0,40
Генотипи CG/GG	0,832	0,489			5,19	2,51- 10,71

Нами було проведено порівняльний аналіз частоти виявлення CC-генотипу та генотипів з наявністю G-алелю (CG/GG-генотипів) ОП гену ІІ-6 (rs 1800795) серед хворих на ХГС та здорових осіб. Встановлено, що CC-генотип у пацієнтів з ХГС зустрічався у 3 рази рідше (25 із 149), ніж у здорових осіб (23 із 45) ( $\chi^2=21,88$ ,  $p<0,0001$ ). На відміну від CC-генотипу, CG/GG-генотипи відповідно у 1,7 рази частіше виявлялися у хворих на ХГС (124 із 149), ніж у здорових людей (22 із 45) (рис. 3.1).



Примітка. \* - різниця достовірна, порівняно зі здоровими людьми ( $p < 0,0001$ ).

Рисунок 3.1 – Порівняння частоти виявлення CC- та CG/GG-генотипів ОП гену ІЛ-6 (rs 1800795) у хворих на ХГС, порівняно зі здоровими особами.

Частота інфікування різними генотипами HCV у хворих на ХГС з наявністю як CC-генотипів, так і CG/GG-генотипів ОП гену ІЛ-6 (rs 1800795) мала ті ж самі закономірності, що й в загальній когорті пацієнтів, а саме виявлялися 1 генотип HCV виявлявся у 18 (72,0 %) та 83 (66,9 %) хворих, а 3 генотип вірусу у 7 (28,0 %) та 41 (33,1 %) пацієнтів відповідно. Слід зазначити, що ОП гену ІЛ-6 (rs 1800795) не впливав на ступінь виразності вірусного навантаження, про що свідчить відсутність статистично достовірної різниці ( $p > 0,05$ ) кількісного визначення HCV-RNA, що склала  $7,0 \times 10^5$  [ $3,4 \times 10^3$ ;  $9,8 \times 10^5$ ] МО/мл у пацієнтів з CC-генотипом та  $6,0 \times 10^5$  [ $2,1 \times 10^5$ ;  $1,4 \times 10^6$ ] МО/мл у хворих з CG/GG-генотипів поліморфізму гену ІЛ-6 (rs 1800795).

Аналіз стадії фіброзу печінки у хворих на ХГС з різними генотипами ОП гену ІЛ-6 (rs 1800795) показав, що у пацієнтів з наявністю як CC-

генотипу, так і CG/GG-генотипів була така ж сама закономірність, що й в загальній когорті пацієнтів, а саме переважали хворі зі стадіями фіброзу печінки F2 та F3, при цьому не було залежності виразності цих змін від ОП гену ІЛ-6 ( $p > 0,05$ ). Порівняння частоти виявлення різного ступеня виразності некрозо-запальної активності у печінці у хворих на ХГС дозволило встановити певні відмінності, які мали залежність від ОП гену ІЛ-6 (rs 1800795). За наявності у хворих СС-генотипу частота виявлення некрозо-запальної активності у печінці А2 була в 2,2 рази вищою, ніж у пацієнтів з CG/GG-генотипами (36,0 % проти 16,1 %,  $\chi^2=5,24$ ,  $p < 0,05$ ) (табл. 3.3).

Таблиця 3.3 – Показники стадії фіброзу та ступеню виразності некрозо-запальної активності у печінці хворих на ХГС залежно від ОП гену ІЛ-6 (rs 1800795), абс ( %)

Показник	Хворі на ХГС (n=149)	
	Генотип СС (n=25)	Генотип CG/GG (n=124)
Стадія фіброзу печінки		
F 0	2 (8,0 %)	9 (7,3 %)
F 1	4 (16,0 %)	19 (15,3 %)
F 2	11 (44,0 %)	42 (33,8 %)
F 3	6 (24,0 %)	43 (34,7 %)
F 4	2 (8,0 %)	11 (8,9 %)
Ступінь виразності некрозо-запальної активності у печінці		
A 0	4 (16,0 %)	20 (16,1 %)
A 1	7 (28,0 %)	48 (38,8 %)
A 2	9 (36,0 %)	20 (16,1 %) *
A 3	5 (20,0 %)	36 (29,0 %)

Примітка. \* – різниця достовірна при порівнянні із хворими з СС-генотипом ( $p < 0,05$ ).

При проведенні аналізу клінічних проявів печінкової симптоматики ХГС слід зазначити, що близько половини пацієнтів скаржилися на тяжкість у правому підребер'ї (47,7 %, 71 із 149), кожен п'ятий хворий відзначав

диспепсію у вигляді періодичної нудоти (22,8 %, 34 із 149). При статистичному аналізі отриманих даних нами не було виявлено залежності частоти реєстрації зазначених клінічних проявів від ОП гену ІІ-6 (rs 1800795) ( $p > 0,05$ ). Так, частіше у хворих як з СС-генотипом (64,0 %, 16 із 25), так і пацієнтів з СG/GG-генотипами (44,4 %, 55 із 124) реєструвалася тяжкість у правому підребер'ї. Наступним проявом за частотою реєстрації була диспепсія у вигляді періодичної нудоти – у 12,0 % (3 із 25) та 25,0 % (31 із 124) хворих відповідно. У той же час у 12,1 % (18 із 149) хворих на ХГС взагалі не мали скарг і звернулись за консультацію після профілактичного медогляду чи при «випадковому» виявленні підвищення рівня активності АЛТ в крові.

Проведений аналіз біохімічних показників функціонального стану печінки показав, що у кожного третього хворого на ХГС (30,2 %, 45 із 149) було зафіксовано підвищення рівня загального білірубіну від 21,00 мкмоль/л до 55,40 мкмоль/л, проте як частота його підвищення статистично не відрізнялася у пацієнтів з СС-генотипом та СG/GG-генотипами (40,0 % та 28,5 % відповідно,  $p > 0,05$ ), так й медіана ( $p > 0,05$ ). У 76,5 % (114 із 149) випадках спостерігалось підвищення рівню АЛТ вище норми, а рівень підвищення коливався від 0,76 ммоль/л до 7,53 ммоль/л. Слід зазначити, що ОП гену ІІ-6 (rs 1800795) не мав впливу як на частоту підвищення активності АЛТ в крові, так і на рівень підвищення активності цього ферменту. При цьому серед пацієнтів з СС-генотипом активність АЛТ в крові коливалася в межах від 0,76 до 3,05 ммоль/год.л, а серед хворих з СG/GG-генотипами в межах від 0,79 до 7,53 ммоль/год.л. Не було встановлено статистично значущих відмінностей між параметрами внутрішньопечінкового холестазу ( $p > 0,05$ ). У 60,5 % (69 із 149) хворих було відзначено мезенхімально-запальну реакцію в печінці, про що свідчило підвищення показника тимолової проби від 4,20 до 22,00 од. Проте ОП гену ІІ-6 (rs 1800795) не мав впливу як на частоту підвищення показника тимолової проби ( $p > 0,05$ ), так й на рівень цього параметра ( $p > 0,05$ ), який



коливався серед хворих з СС-генотипом у межах від 4,40 до 15,90 од., а у пацієнтів з СG/GG-генотипами – від 4,20 до 22,00 од.

Аналіз змін показників гемограми у хворих на ХГС показав, що не було статистично значущих відмінностей ( $p > 0,05$ ) між групами пацієнтів з різними генотипами ОП гену ІЛ-6 (rs 1800795). Проте лейкопенія зі зниженням кількості лейкоцитів крові  $< 4,0 \times 10^9/\text{л}$  відзначалася у кожного третього хворого з генотипом СС (36,0 %) проти кожного четвертого пацієнта (25,0 %) з генотипами СG/GG.

Аналіз результатів УЗД-досліджень органів гепатобіліарної системи показав, що у більшості пацієнтів як з СС-генотипом, так і з СG/GG-генотипами ОП гену ІЛ-6 (rs 1800795) виявлялися дифузні зміни паренхіми печінки (64,0 % та 61,3 %,  $p > 0,05$  відповідно), у кожного п'ятого хворого збільшення розмірів селезінки (24,0 % та 17,7 %,  $p > 0,05$  відповідно), майже з такою ж частотою реєструвалося збільшення розмірів печінки (20,0 % та 16,1 %,  $p > 0,05$  відповідно), у частини пацієнтів мали місце ознаки портальної гіпертензії у вигляді розширення селезінкової вени (8,0 % та 4,0 %,  $p > 0,05$  відповідно). У кожного третього пацієнта при УЗД було виявлено ознаки хронічного панкреатиту у вигляді дифузних змін паренхіми підшлункової залози (44,0 % та 28,2 %,  $p > 0,05$  відповідно), у кожного п'ятого виявлялися ознаки безкалькульозного холециститу (20,0 % та 17,7 %,  $p > 0,05$  відповідно), частота виявлення яких не залежала від ОП гену ІЛ-6 (rs 1800795).

В результаті проведеного кореляційного аналізу встановлені прямі кореляції стадії фіброзу печінки з рівнем загального білірубіну ( $p = 0,008$ ), прямого білірубіну ( $p = 0,002$ ), активністю АЛТ ( $p = 0,001$ ) та зворотні кореляції стадії фіброзу печінки з кількістю тромбоцитів ( $p = 0,001$ ) та лейкоцитів ( $p = 0,01$ ). Зафіксовано прямі кореляції ступеня виразності некрозо-запальної активності у печінці з рівнем загального білірубіну ( $p = 0,001$ ), прямого білірубіну ( $p = 0,0001$ ), активністю АЛТ ( $p = 0,0001$ ), АСТ ( $p = 0,0001$ ) та зворотну кореляцію ступеня виразності некрозо-запальної активності у печінці з кількістю тромбоцитів ( $p = 0,01$ ) (табл. 3.4).

Таблиця 3.4 – Кореляційні зв'язки між загально-клінічними лабораторними показниками та параметрами стадії фіброзу печінки й ступеня виразності некрозо-запальної активності у печінці у хворих на ХГС

Показник	Стадія фіброзу печінки	Ступінь виразності некрозо-запальної активності у печінці
Загальний білірубін	$\tau=0,15 *$	$\tau=0,18 *$
Прямий білірубін	$\tau=0,18 *$	$\tau=0,22 *$
АЛТ	$\tau=0,19 *$	$\tau=0,49 *$
АСТ	$\tau=0,03$	$\tau=0,42 *$
Тимолова проба	$\tau=0,11$	$\tau=0,11$
Гемоглобін	$\tau= -0,03$	$\tau=0,14 *$
Еритроцити	$\tau= -0,003$	$\tau=0,10$
Тромбоцити	$\tau= -0,20 *$	$\tau= -0,15 *$
Лейкоцити	$\tau= -0,14 *$	$\tau=0,06$

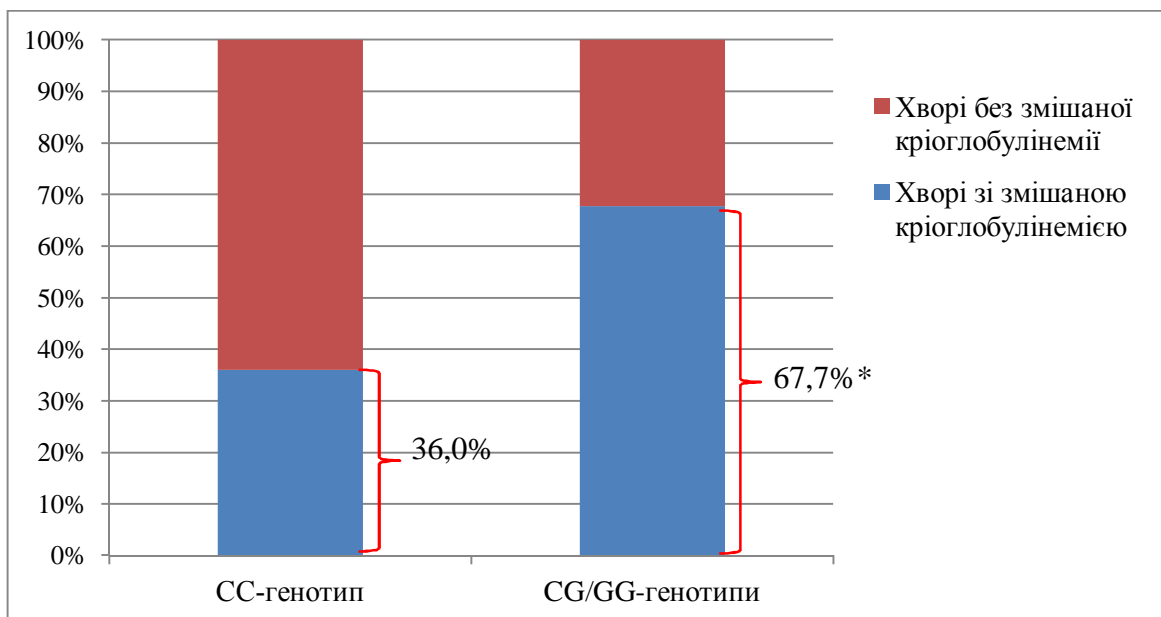
Примітка. \* - кореляційний зв'язок є достовірним за Кендал Тау ( $p<0,05$ ).

Таким чином, ОП гену ІІ-6 (rs 1800795) відіграє певну роль в хронізації HCV-інфекції, що підтверджує в 3 рази рідше виявлення генотипу CC ( $p<0,001$ ) та в 1,7 разів частіше виявлення генотипів CG/GG ( $p<0,001$ ) у хворих на ХГС, порівняно зі здоровими особами. У хворих на ХГС ОП гену ІІ-6 (rs 1800795) не впливає на вірусне навантаження та виразність клінічних ознак печінкової симптоматики, проте за наявності у пацієнтів CC-генотипу частота виявлення некрозо-запальної активності у печінці виразності А2 ступеня в 2,2 рази вища, ніж у пацієнтів з CG/GG-генотипами ( $p<0,05$ ).

### 3.2 Клініко-лабораторна характеристика хворих на хронічний гепатит С зі змішаною кріоглобулінемією залежно від однонуклеотидного поліморфізму гену ІЛ-6 (rs 1800795)

Для з'ясування ролі ОП гену ІЛ-6 (rs 1800795) в формуванні HCV-асоційованої змішаної кріоглобулінемії та маніфестації її клінічних проявів, насамперед нами було проведено порівняння частоти виявлення змішаної кріоглобулінемії та клінічних ознак, які асоційовані з цією позапечінковою ознакою. Хворі на ХГС були розділені на дві групи згідно домінантної моделі успадкування: 25 хворих з СС-генотипом та 124 пацієнти з СG/GG-генотипами ОП гену ІЛ-6 (rs 1800795).

За результатами проведеного дослідження встановлено, що у хворих на ХГС генотипи СG/GG асоційовані з розвитком змішаної кріоглобулінемії у 67,7 % пацієнтів проти 36,0 % хворих з генотипом СС ( $\chi^2=8,93$ ,  $p<0,01$ ). Ці дані можуть вказувати на несприятливий вплив СG/GG-генотипів ОП гену ІЛ-6 (rs 1800795) на формування змішаної кріоглобулінемії у хворих на ХГС (рис. 3.2).



Примітка. \* - різниця достовірна, порівняно з носіями СС-генотипу ( $p<0,01$ ).

Рисунок 3.2 – Частота виявлення генотипів ОП гену ІЛ-6 (rs 1800795) у хворих на ХГС залежно від наявності змішаної кріоглобулінемії.

Аналіз клінічних проявів, асоційованих зі змішаною кріоглобулінемією, показав, що у хворих на ХГС, які були носіями CG/GG-генотипів, порівняно з носіями CC-генотипу, частіше реєструвалися такі клінічні прояви кріоглобулінемічного синдрому як виражена загальна слабкість ( $\chi^2=16,83$ ,  $p<0,001$ ) та артралгії ( $\chi^2=18,93$ ,  $p<0,001$ ). Слід також зазначити, що такі позапечінкові прояви змішаної кріоглобулінемії як геморагічний васкуліт та формування тріади Мельтцера (виражена загальна слабкість, артралгія та васкуліт) спостерігались виключно у пацієнтів з CG/GG-генотипами ОП гену ІЛ-6 (rs 1800795) (табл. 3.5).

Таблиця 3.5 – Порівняння частоти виявлення змішаної кріоглобулінемії та клінічних проявів, які асоційовані з її появою, у хворих на ХГС залежно від ОП гену ІЛ-6 (rs 1800795), абс ( %)

Ознака	Хворі на ХГС (n=149)	
	CC-генотип (n=25)	CG/GG-генотипи (n=124)
Наявність змішаної кріоглобулінемії	9 (36,0 %)	84 (67,7 %) *
Виражена загальна слабкість	5 (20,0 %)	80 (64,5 %) *
Артралгії	2 (8 %)	69 (55,6 %) *
Кріоглобулінемічний васкуліт	–	14 (11,3 %)
Тріада Мельтцера	–	13 (10,5 %)

Примітка. \* – різниця достовірна, порівняно з хворими на ХГС з CC-генотипом ( $p<0,05$ ).

При обстеженні хворих на інші позапечінкові прояви у 28 (18,8 %) пацієнтів були наявні ознаки ураження щитоподібної залози, згідно висновків лікаря-ендокринолога у вигляді субклінічного гіпотиреозу, який у одного хворого поєднувався із вузловим зобом. У 3 (2,0 %) пацієнтів мав місце цукровий діабет 2-го типу, з приводу якого ці пацієнти перебували на диспансерному спостереженні у лікаря-ендокринолога.

При дослідженні частоти виявлення інших позапечінкових проявів у хворих на ХГС, зокрема цукрового діабету 2-го типу та ураження щитоподібної залози, не встановило залежності ( $p > 0,05$ ) їх розвитку від ОП гену ІІ-6 (rs 1800795). Так, ураження щитоподібної залози було зафіксовано у 3 (12,0 %) хворих з СС-генотипом та у 25 (20,2 %) пацієнтів носіїв СG/GG-генотипів ( $\chi^2 = 0,90$ ;  $p > 0,05$ ). Цукровий діабет 2-го типу було діагностовано у 1 (4,0 %) та 2 (1,6 %) хворих відповідно ( $\chi^2 = 0,98$ ;  $p > 0,05$ ).

В подальшій частині цього підрозділу нами було проведено аналіз впливу ОП гену ІІ-6 (rs 1800795) на прогресування змішаної кріоглобулінемії та маніфестацію її клінічних проявів. Для з'ясування цієї закономірності проведений аналіз клініко-лабораторних даних 93 хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією.

За результатами проведених досліджень у хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією, які були носіями СG/GG-генотипів ОП гену ІІ-6 (rs 1800795), кількісний вміст змішаних кріоглобулінів в сироватці крові виявився достовірно ( $p = 0,03$ ) вищим, ніж у хворих з СС-генотипом. Вищий кількісний вміст змішаних кріоглобулінів в сироватці крові пацієнтів з СG/GG-генотипами поєднувався з достовірно більш частішою маніфестацією клінічних проявів кріоглобулінемічного синдрому. Так, у хворих на ХГС з СG/GG-генотипами частіше, ніж у хворих з СС-генотипом реєструвалися виражена загальна слабкість ( $\chi^2 = 8,86$ ,  $p = 0,003$ ) та артралгії ( $\chi^2 = 5,62$ ,  $p = 0,02$ ). Геморагічний васкуліт з формування тріади Мельтцера спостерігались лише у пацієнтів з ХГС та змішаною кріоглобулінемією, які були носіями СG/GG-генотипів (табл. 3.6).

Слід зазначити, що у хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією стадія фіброзу та ступінь виразності некрозо-запальної активності у печінці не залежали ( $p > 0,05$ ) від ОП гену ІІ-6 (rs 1800795), при цьому зберігалися закономірності, що були встановлені в загальній когорті хворих на ХГС.

Таблиця 3.6 – Порівняння вмісту змішаних кріоглобулінів та частоти клінічних ознак кріоглобулінемічного синдрому у хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією залежно від ОП гену ІІ-6 (rs 1800795), абс ( %)

Ознака	Хворі на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією (n=93)	
	СС-генотип (n=9)	CG/GG-генотипи (n=84)
Вміст змішаних кріоглобулінів, опт од., Ме [Q <sub>25</sub> ; Q <sub>75</sub> ]	2,42 [2,36; 2,54]	2,66 [2,39; 3,13] *
Виражена загальна слабкість	2 (22,2 %)	60 (71,4 %) *
Артралгії	2 (22,2 %)	53 (63,1 %) *
Кріоглобулінемічний васкуліт	–	13 (15,5 %)
Тріада Мельцера	–	13 (15,5 %)

Примітка. \* – різниця достовірна, порівняно з хворими з СС-генотипом (p<0,05).

Аналіз результатів основних біохімічних показників функціонального стану печінки у хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією показав відсутність впливу ОП гену ІІ-6 (rs 1800795) на ступінь виразності змін цих параметрів. Так у хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією з СС-генотипом, порівняно з пацієнтами з CG/GG-генотипи, вміст загального білірубину склав 17,60 [16,00; 25,20] мкмоль/л та 16,40 [13,80; 21,40] мкмоль/л відповідно (p>0,05), активності АЛТ в крові – 1,59 [0,66; 2,26] ммоль/год.л та 1,38 [0,79; 1,99] ммоль/год.л відповідно (p>0,05), активності АСТ в крові – 0,67 [0,44; 0,89] ммоль/год.л та 0,57 [0,35; 0,88] ммоль/год.л відповідно (p>0,05), активності ГГТ в крові – 38,40 [8,50; 68,30] Од/л та 27,70 [21,30; 34,10] Од/л відповідно (p>0,05), активності ЛФ в крові – 1245,00 [1014,00; 1475,00] нмоль/ст.л. та 1291,00 [1014,00; 1568,00] нмоль/ст.л. відповідно (p>0,05), показника тимолової проби 5,30 [1,90; 7,10] од. та 3,50 [1,90; 5,50] од. відповідно (p>0,05).

Порівняння змін основних параметрів гемограми хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією не встановило статистично значущої залежності ( $p > 0,05$ ) від ОП гену ІЛ-6 (rs 1800795). Проте звернула на себе увагу чітка тенденція до лейкопенії у пацієнтів за наявності СС-генотипу, про що свідчить в 1,9 рази частіша (55,6 % проти 29,8 %,  $p > 0,05$ ) реєстрація хворих з лейкопенією  $< 4,0 \times 10^9/\text{л}$ , порівняно з хворими з СG/GG-генотипами, при цьому кількісний вміст лейкоцитів у цих хворих склав  $3,40 [3,00; 5,30] \times 10^9/\text{л}$  проти  $4,30 [3,60; 5,60] \times 10^9/\text{л}$  ( $p > 0,05$ ).

В результаті проведеного кореляційного аналізу встановлені прямі кореляції стадії фіброзу печінки з рівнем прямого білірубину ( $p = 0,001$ ), активністю АЛТ ( $p = 0,001$ ) та зворотні кореляції стадії фіброзу печінки з кількістю тромбоцитів ( $p = 0,02$ ) та лейкоцитів ( $p = 0,01$ ). Зафіксовано прямі кореляції ступеня виразності некрозо-запальної активності у печінці (за даними неінвазивних тестів) з рівнем загального білірубину ( $p = 0,002$ ), прямого білірубину ( $p = 0,01$ ), активністю АЛТ ( $p = 0,0001$ ), АСТ ( $p = 0,0001$ ) (табл. 3.7).

Таблиця 3.7 – Кореляційні зв'язки між загально-клінічними лабораторними показниками та параметрами стадії фіброзу печінки й ступеня виразності некрозо-запальної активності у печінці у хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією

Показник	Стадія фіброзу печінки	Ступінь виразності некрозо-запальної активності у печінці
1	2	3
Загальний білірубін	$\tau = 0,13$	$\tau = 0,23$ *
Прямий білірубін	$\tau = 0,25$ *	$\tau = 0,21$ *
АЛТ	$\tau = 0,24$ *	$\tau = 0,43$ *
АСТ	$\tau = 0,01$	$\tau = 0,39$ *
Тимолова проба	$\tau = 0,04$	$\tau = 0,11$

Продовження таблиці 3.7

1	2	3
Гемоглобін	$\tau = -0,05$	$\tau = 0,08$
Еритроцити	$\tau = 0,05$	$\tau = 0,04$
Тромбоцити	$\tau = -0,18 *$	$\tau = -0,11$
Лейкоцити	$\tau = -0,19 *$	$\tau = -0,01$

Примітка. \* - кореляційний зв'язок є достовірним за Кендал Тау ( $p < 0,05$ ).

Таким чином, у хворих на ХГС генотипи CG/GG ОП гену ІЛ-6 (rs 1800795) асоціювалися з появою ознак змішаної кріоглобулінемії ( $p < 0,01$ ). За наявності змішаних кріоглобулінів в сироватці крові хворих на ХГС, пацієнти з CG/GG-генотипами мали вищий ( $p = 0,03$ ) рівень змішаних кріоглобулінів в сироватці крові та частіше мали такі клінічні ознаки цього позапечінкового прояву як виражену загальну слабкість (71,4 % проти 22,2 %,  $p = 0,003$ ), біль у суглобах (63,1 % проти 22,2 %,  $p = 0,02$ ), шкірні прояви васкуліту з формуванням тріади Мельтцера у 15,5 %, на відміну від хворих з CC-генотипом гену ІЛ-6 (rs 1800795).

### **3.3 Клініко-лабораторна характеристика хворих на хронічний гепатит С залежно від однонуклеотидного поліморфізму гену ІЛ-17 (rs 612242) та з урахуванням наявності змішаної кріоглобулінемії**

За результатами проведеного порівняльного аналізу ОП гену ІЛ-17 (rs 612242) у хворих на ХГС та здорових осіб було встановлено, що в обох групах частіше виявлялися генотипи з наявністю С-алелю. При цьому CC-генотип було виявлено у 140 (94,0 %) хворих, а CG-генотип – у 9 (6,0 %) пацієнтів. Слід зазначити, що GG-алель не був виявлений серед хворих на ХГС, на відміну від групи здорових людей, що мало статистичну достовірність ( $\chi^2 = 20,5$ ,  $p < 0,001$ ), у той же час серед здорових осіб не було виявлено гетерозигот (табл. 3.8).



Таблиця 3.8 – Частота виявлення генотипів ОП гену ІЛ-17 (rs 612242) у хворих на ХГС та здорових осіб, абс. (%)

Показник	Здорові люди (n=45)	Хворі на ХГС (n=149)
генотип CC	39 (86,7 %)	140 (94,0 %)
генотип CG	0 (0 %)	9 (6,0 %)
генотип GG	6 (13,3 %)	0 (0 %)*

Примітка. \* – різниця достовірна, порівняно зі здоровими людьми (p<0,001).

Нами були проаналізовані дані щодо частоти виявлення окремих генотипів ОП гену ІЛ-17 (rs 612242) у хворих на ХГС та здорових людей. Згідно аналізу окремих алелів (мультиплікативна модель успадкування), С-алель мала більші шанси (OR) щодо впливу на хронізацію гепатиту С (значення більші за одиницю). Наведена модель дала змогу стверджувати про найбільший вплив генотипу CC на ймовірність хронізації HCV-інфекції, що підтверджувалося достовірним значенням OR та довірчим інтервалом (95 % CI) (табл. 3.9)

Таблиця 3.9 – Аналіз частоти виявлення генотипів ОП гену ІЛ-17 (rs 612242) у хворих на ХГС та здорових людей

Алелі	Хворі ХГС	Контроль	$\chi^2$	p	OR (odd ratio)	
	n=149	n=45			Значення	95 % CI
Мультиплікативна модель успадкування						
Алель С	0,970	0,867	14,36	<0,001	4,94	2,01- 12,15
Алель G	0,030	0,133			0,20	0,08-0,50

Частота інфікування різними генотипами HCV у хворих на ХГС з наявністю як CC-генотипів, так і CG/GG-генотипів ОП гену ІЛ-17 (rs 612242) мала ті ж самі закономірності, що й в загальній когорті пацієнтів. Крім того,

слід зазначити, що ОП гену ІЛ-17 (rs 612242) не впливав на ступінь виразності вірусного навантаження, про що свідчить відсутність статистично достовірної різниці ( $p > 0,05$ ) кількісного визначення HCV-RNA, яка склала у пацієнтів з СС-генотипом  $6,0 \times 10^5$  [ $1,85 \times 10^5$ ;  $1,39 \times 10^6$ ] МО/мл та у хворих з СG/GG-генотипами  $5,0 \times 10^5$  [ $3,4 \times 10^5$ ;  $1,4 \times 10^6$ ] МО/мл.

Аналіз стадії фіброзу печінки у хворих на ХГС з різними генотипами ОП гену ІЛ-17 (rs 612242) показав, що у пацієнтів з наявністю як СС-генотипів, так і СG/GG-генотипів була така ж сама закономірність, що й в загальній когорті пацієнтів. Не було встановлено статистично значущих відмінностей ( $p > 0,05$ ) при аналізі частоти виявлення окремих стадій фіброзу та різних ступенів виразності некрозо-запальної активності у печінці хворих на ХГС з різними генотипами ОП гену ІЛ-17 (rs 612242) (рис. 3.3).

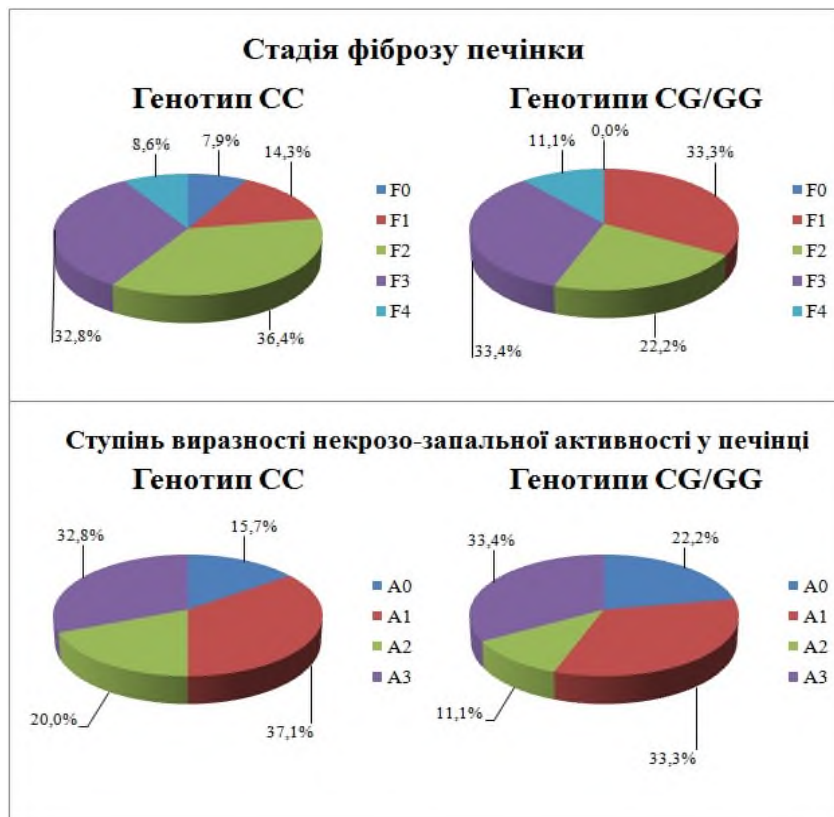


Рисунок 3.3 – Стадії фіброзу та ступінь виразності некрозо-запальної активності у печінці хворих на ХГС залежно від ОП гену ІЛ-17 (rs 612242)

Нами було проведено порівняння виразності змін біохімічних показників функціонального стану печінки у хворих на ХГС з різними

генотипами ОП гену ІЛ-17 (rs 612242). Не було виявлено статистично значущих відмінностей цих показників у хворих з СС-генотипом, порівняно з пацієнтами з СG/GG-генотипами ОП гену ІЛ-17 (rs 612242), а саме вміст загального білірубіну склав 16,30 [13,80; 22,60] мкмоль/л та 17,60 [16,30; 20,10] мкмоль/л відповідно ( $p>0,05$ ), активність АЛТ в крові – 1,33 [0,79; 2,12] ммоль/год.л та 1,31 [0,66; 1,72] ммоль/год.л відповідно ( $p>0,05$ ), активність АСТ в крові – 0,62 [0,40; 0,89] ммоль/год.л та 0,64 [0,51; 1,14] ммоль/год.л, відповідно ( $p>0,05$ ), активність ГГТ в крові – 24,00 [16,40; 42,70] Од/л та 35,00 [29,80; 38,40] Од/л відповідно ( $p>0,05$ ), активність ЛФ в крові – 1429,00 [1014,00; 1568,00] нмоль/ст.л. та 1014,00 [1014,00; 2029,00] нмоль/ст.л. відповідно ( $p>0,05$ ), показник тимолової проби – 3,10 [1,70; 5,54] од. та 2,40 [1,90; 4,20] од. відповідно ( $p>0,05$ ).

Для з'ясування ролі ОП гену ІЛ-17 (rs 612242) в формуванні НCV-асоційованої змішаної кріоглобулінемії та маніфестації її клінічних проявів нами було проведено порівняння частоти виявлення змішаної кріоглобулінемії та клінічних ознак, які асоційовані з цією позапечінковою ознакою у хворих з різними генотипами гену ІЛ-17 (rs 612242).

За результатами проведеного дослідження ОП гену ІЛ-17 (rs 612242) виявився неінформативним щодо можливого прогнозування розвитку НCV-асоційованої змішаної кріоглобулінемії. А саме, не було встановлено статистично значущої різниці в частоті виявлення змішаної кріоглобулінемії у хворих на ХГС з різними генотипами ОП гену ІЛ-17 (rs 612242). Так, серед хворих носіїв СС-генотипу змішана кріоглобулінемія виявлялася у 64,3 % (90 із 140) хворих, у той час як серед пацієнтів з СG/GG-генотипами – у 30,0 % (3 із 9) ( $\chi^2=3,45$ ,  $p=0,06$ ). Аналіз клінічних проявів, які асоційовані з НCV-асоційованою змішаною кріоглобулінемією, показав, що ОП гену ІЛ-17 (rs 612242) у носіїв СС-генотипу та СG/GG-генотипів не впливав ( $p>0,05$ ) на частоту появи таких ознак як виражена загальна слабкість (56,4 % проти 66,7 % відповідно), артралгії (48,6 % проти 33,3 % відповідно), кріоглобулінемічного васкуліту (10,0 % проти відсутності відповідно) з

формуванням тріади Мельтцера (9,3 % проти 0 % відповідно). Проте слід зазначити, що кріоглобулінемічний васкуліт (14 із 140, 10,0 %) та формування тріади Мельтцера (13 із 140, 9,3 %) виявлялися виключно у хворих на ХГС носіїв СС-генотипу.

При дослідженні частоти виявлення інших позапечінкових проявів у хворих на ХГС, зокрема цукрового діабету 2-го типу та ураження щитоподібної залози, не встановило залежності ( $p > 0,05$ ) їх розвитку від ОП гену ІЛ-17 (rs 612242). Так, ураження щитоподібної залози було зафіксовано у 24 (17,1 %) хворих з СС-генотипом та у 2 (22,2 %) пацієнтів носіїв СG/GG-генотипів ( $\chi^2 = 0,15$ ;  $p > 0,05$ ). Відсутність впливу ОП гену ІЛ-17 (rs 612242) на розвиток HCV-асоційованої змішаної кріоглобулінемії, а також розподіл генотипів ОП цього гену у 93 хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією: 90 пацієнтів з СС-генотипом та тільки 3 пацієнти з СG/GG-генотипами унеможливило подальше проведення аналізу в цьому напрямку.

Таким чином, наявність С-алелю ОП гену ІЛ-17 (rs 612242) мало певний вплив на хронізацію гепатиту С ( $\chi^2 = 14,36$ ;  $p < 0,001$ ), проте ОП гену ІЛ-17 (rs 612242) не впливав на перебіг ХГС та розвиток HCV-асоційованої змішаної кріоглобулінемії.

### **Резюме**

ОП гену ІЛ-6 відіграє певну роль в хронізації HCV-інфекції, що підтверджує в 3 рази рідше виявлення генотипу СС ( $\chi^2 = 21,88$ ,  $p < 0,001$ ) та в 1,7 разів частіше виявлення генотипів СG/GG ( $\chi^2 = 21,88$ ,  $p < 0,001$ ) у хворих на ХГС, порівняно зі здоровими особами. У хворих на ХГС ОП гену ІЛ-6 (rs 1800795) не впливає на вірусне навантаження та виразність клінічних ознак печінкової симптоматики, проте за наявності у хворих на ХГС генотипу СС частота виявлення некрозо-запальної активності у печінці ступеня А2 була в 2,2 рази вищою, ніж у пацієнтів з СG/GG-генотипами (36,0 % проти 16,1 %,  $\chi^2 = 5,24$ ,  $p < 0,05$ ).

У хворих на ХГС генотипи CG/GG ОП гену ІЛ-6 (rs 1800795) асоціюються з появою біохімічних ознак змішаної кріоглобулінемії у 67,7 % пацієнтів проти 36,0 % хворих з наявністю генотипу СС ( $\chi^2=8,93$ ,  $p<0,01$ ).

За наявності біохімічних ознак змішаної кріоглобулінемії у хворих на ХГС генотипи CG/GG ОП гену ІЛ-6 (rs 1800795) асоціюються з вищим ( $p=0,03$ ) вмістом змішаних кріоглобулінів в сироватці крові та частішою появою клінічної симптоматики цього позапечінкового прояву у вигляді вираженої загальної слабкості (71,4 % проти 22,2 %,  $\chi^2=8,86$ ,  $p=0,003$ ), болю в суглобах (63,1 % проти 22,2 %,  $\chi^2=5,62$ ,  $p=0,02$ ), шкірних проявів васкуліту з формуванням у 15,5 % хворих тріади Мельтцера, порівняно з пацієнтами з СС-генотипом.

При цьому у хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією поліморфізм гену ІЛ-6 (rs 1800795) не впливає на ступінь виразності морфологічних змін в печінці (за даними неінвазивних тестів) та зміни основних біохімічних параметрів функціонального стану печінки.

Наявність С-алелю ОП гену ІЛ-17 (rs 612242) має певний вплив на хронізацію гепатиту С ( $\chi^2=14,36$ ;  $p<0,001$ ), проте не має впливу на перебіг ХГС за показниками вірусного навантаження ( $p>0,05$ ), морфологічних змін в печінці за даними неінвазивних тестів ( $p>0,05$ ), зміни основних біохімічних параметрів функціонального стану печінки ( $p>0,05$ ) та розвиток HCV-асоційованої змішаної кріоглобулінемії.

Матеріали даного розділу висвітлені в наукових працях та доповідях [224-227, 233-234, 239].

**РОЗДІЛ 4**

**ВЗАЄМОЗВ'ЯЗКИ ОДНОНУКЛЕОТИДНОГО ПОЛІМОРФІЗМУ**  
**ГЕНІВ ІНТЕРЛЕЙКІНІВ 6 (rs 1800795) ТА 17 (rs 612242) З**  
**ІМУНОЛОГІЧНИМИ ПОРУШЕННЯМИ ТА РОЗВИТКОМ ЗМІШАНОЇ**  
**КРІОГЛОБУЛІНЕМІЇ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ ГЕПАТИТ С**

**4.1 Вміст ІЛ-6 та ІЛ-17 в сироватці крові хворих на хронічний гепатит С залежно від однонуклеотидних поліморфізмів генів, що їх кодують**

За результатами дослідження вмісту ІЛ-6 в сироватці крові хворих на ХГС було встановлено, що концентрація цього цитокіну у пацієнтів коливалась від 0,04 до 2,04 пг/мл та склала 0,32 [0,22; 0,70] пг/мл. В той же час у здорових людей цей показник був у межах від 0,04 до 0,32 пг/мл зі значенням 0,08 [0,08; 0,14] пг/мл. В результаті статистичної обробки даних ми визначили, що у пацієнтів з ХГС концентрація ІЛ-6 в сироватці крові достовірно вища, порівняно із здоровими людьми ( $p < 0,001$ ) (рис. 4.1).

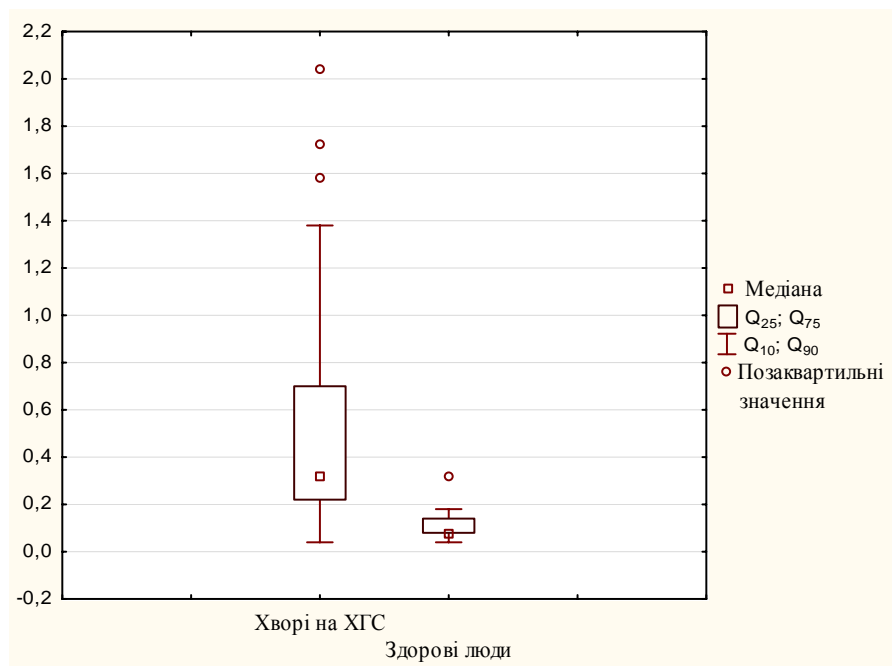


Рисунок 4.1. Вміст ІЛ-6 у сироватці крові хворих на ХГС та здорових людей, пг/мл (різниця достовірна, порівняно із здоровими людьми,  $p < 0,001$ ).

Вміст ІЛ-17 в сироватці крові пацієнтів з ХГС змінювався у межах від 36,81 до 246,06 пг/мл зі значенням 86,45 [72,43; 94,04] пг/мл, що було достовірно вище при порівнянні зі здоровими людьми, у яких коливання склали від 8,54 до 45,86 пг/мл зі значенням 21,61 [11,92; 24,90] пг/мл ( $p < 0,001$ ) (рис.4.2).

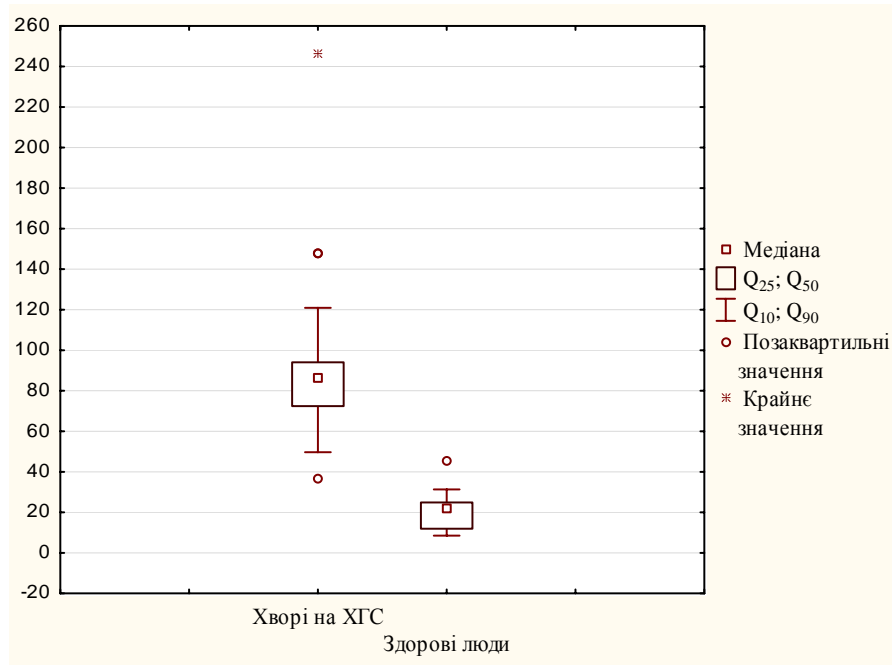


Рисунок 4.2. Вміст ІЛ-17 у сироватці крові хворих на ХГС та здорових людей, пг/мл (різниця достовірна, порівняно із здоровими людьми,  $p < 0,001$ ).

При вивченні впливу ОП гену ІЛ-6 (rs 1800795) на кількісний вміст цього цитокіну ми дослідили показники його кількісного вмісту в сироватці крові при різних варіантах генотипів та порівняли з показниками здорових людей. За результатами аналізу було виявлено, що у хворих на ХГС носіїв СС-генотипу ОП гену ІЛ-6 (rs 1800795) кількісний вміст ІЛ-6 у сироватці крові не відрізнявся від аналогічного показника здорових людей ( $p > 0,05$ ). У той же час, за наявності G-алелі, а саме у носіїв як СG-генотипу, так і GG-генотипу кількісний вміст ІЛ-6 в сироватці крові був вищим, порівняно зі здоровими людьми ( $p < 0,05$ ). При порівнянні кількісного вмісту ІЛ-6 в сироватці крові носіїв СС-генотипу та СG/GG-генотипів також було виявлена статистично достовірна різниця ( $p < 0,01$ ) (табл. 4.1).

Таблиця 4.1 – Вміст ІЛ-6 у сироватці крові хворих на ХГС залежно від ОП гену (rs 1800795), що його кодує, Ме [Q<sub>25</sub>; Q<sub>75</sub>], пг/мл

Групи хворих на ХГС	Здорові люди (n=20)	ІЛ-6, пг/мл
Генотип CC (n=25)	0,08 [0,08; 0,14]	0,22 [0,09; 0,28]
Генотип CG (n=66)		0,60 [0,22; 0,76] <sup>1, 2</sup>
Генотип GG (n=58)		0,31 [0,24; 0,67] <sup>1, 2</sup>
Генотипи CG/GG (n=124)		0,50 [0,24; 0,74] <sup>1, 2</sup>

Примітка. 1 – різниця достовірна порівняно зі здоровими людьми (p<0,001); 2 – порівняно із хворими на ХГС з CC-генотипом (p<0,05).

При проведенні аналізу впливу ОП гену ІЛ-17 в локусі rs 612242 на кількісний вміст цього цитокіну в сироватці крові нами було виявлено, у хворих на ХГС, незалежно від встановленого генотипу, цей показник виявився достовірно вищим, ніж у здорових людей (p<0,001). Проте при порівнянні кількісного вмісту ІЛ-17 в сироватці крові хворих на ХГС із різними генотипами, а саме у носіїв CC-генотипу та CG/GG-генотипів, достовірно значущої різниці вмісту ІЛ-17 в сироватці крові не було встановлено (p>0,05) (табл. 4.2).

Таблиця 4.2 – Вміст ІЛ-17 у сироватці крові хворих на ХГС залежно від ОП гену (rs 612242), що його кодує, Ме [Q<sub>25</sub>; Q<sub>75</sub>], пг/мл

Групи хворих на ХГС	Здорові люди (n=20)	ІЛ-17, пг/мл
Генотип CC (n=140)	21,61 [11,92; 24,90]	86,45 [73,01; 93,46] <sup>*</sup>
Генотип CG (n=9)		87,03 [69,51; 98,71] <sup>*</sup>
Генотип GG (n=0)		-
Генотипи CG/GG (n=9)		87,03 [69,51; 98,71] <sup>*</sup>

Примітка. \* – різниця достовірна при порівнянні зі здоровими людьми (p<0,001).



Для з'ясування зв'язків між основними лабораторними показниками та вмістом ІЛ-6 та ІЛ-17, ми провели кореляційний аналіз за Спірменом (для визначення кореляцій між кількісними показниками) та кореляційний аналіз за Кендал Тау (для визначення кореляцій між кількісними показниками та порядковими).

За результатами кореляційного аналізу за Спірменом ми отримали дані, що кількісний вміст ІЛ-6 у сироватці крові хворих на ХГС мав позитивний достовірний зв'язок ( $p < 0,05$ ) з рівнем прямого білірубину в сироватці крові та кількісним вмістом еритроцитів та негативний зв'язок з кількісним вмістом тромбоцитів (табл. 4.3).

Кореляційний аналіз за Кендал Тау показав, що при оцінці зав'язків між вмістом ІЛ-6 і ІЛ-17 в сироватці крові та показниками неінвазивних тестів не було виявлено статистично значущих зав'язків вмісту інтерлейкінів, що вивчалися, з показником ступеня виразності фіброзу печінки та показником некрозо-запальної активності в печінці ( $p > 0,05$ ) (табл. 4.3).

Таблиця 4.3 – Кореляційні зв'язки кількісного вмісту ІЛ-6 та ІЛ-17 у сироватці крові хворих на ХГС з основними лабораторними та клінічними параметрами.

Показники	ІЛ-6, пг/мл	ІЛ-17, пг/мл
1	2	3
Кореляції за Спірменом		
Вірусне навантаження, МО/мл	$r = -0,17, p = 0,13$	$r = 0,2, p = 0,07$
Тривалість захворювання, роки	$r = 0,01, p = 0,97$	$r = -0,07, p = 0,59$
Загальний білірубін, мкмоль/л	$r = 0,13, p = 0,28$	$r = -0,09, p = 0,47$
Прямий білірубін, мкмоль/л	$r = 0,26, p = 0,04^*$	$r = -0,12, p = 0,34$
АЛТ, ммоль/год.л	$r = 0,01, p = 0,96$	$r = 0,08, p = 0,47$
АСТ, ммоль/год.л	$r = -0,14, p = 0,43$	$r = 0,1, p = 0,57$
Тимолова проба, од.	$r = 0,04, p = 0,74$	$r = 0,11, p = 0,38$
Гемоглобін, г/л	$r = -0,16, p = 0,17$	$r = 0,21, p = 0,06$

Продовження таблиці 4.3

1	2	3
Кількість еритроцитів, $\times 10^{12}/\text{л}$	$r=-0,12, p=0,31$	$r=0,26, p=0,02^*$
Кількість тромбоцитів, $\times 10^9/\text{л}$	$r=-0,26, p=0,04^*$	$r=0,02, p=0,85$
Кількість лейкоцитів, $\times 10^9/\text{л}$	$r=0,02, p=0,84$	$r=0,11, p=0,35$
Нейтрофіли, $\times 10^9/\text{л}$	$r=-0,03, p=0,78$	$r=0,11, p=0,36$
Кореляції за Кендал Тау		
Ступінь фіброзу печінки	$\tau=0,11, p=0,15$	$\tau=0,0, p=1,0$
Активність некрозо-запального процесу	$\tau=0,02, p=0,76$	$\tau=-0,05, p=0,46$

Примітка. \* - кореляційний зв'язок є достовірним ( $p<0,05$ ).

Роль ІЛ-6 в формуванні патології печінки при ХГС підтвердили встановлені достовірні кореляційні зв'язки між вмістом цього цитокіну та рівнем прямого білірубіну ( $r=0,26, p=0,04$ ), кількісним вмістом еритроцитів ( $r=0,26, p=0,02$ ) та тромбоцитів ( $r=-0,26, p=0,037$ ).

Таким чином, у хворих на ХГС вміст ІЛ-6 та ІЛ-17 в сироватці крові достовірно вище, ніж у здорових осіб. При цьому рівень підвищення ІЛ-6 в сироватці крові хворих залежав від ОП гену ІЛ-6 (rs 1800795) та виявився найвищим у пацієнтів з CG/GG-генотипами. Патогенетичну роль ІЛ-6 в формуванні патології печінки при ХГС підтвердили встановлені кореляційні зв'язки між його вмістом та рівнем прямого білірубіну, еритроцитів та тромбоцитів. На відміну від ІЛ-6, рівень підвищення ІЛ-17 в сироватці крові не залежав від ОП гену ІЛ-17 (rs 612242).

#### 4.2 Вміст ІЛ-6 та ревматоїдного фактору в сироватці крові хворих з НСV-асоційованою змішаною кріоглобулінемією залежно від однонуклеотидного поліморфізму гену ІЛ-6 (rs 1800795)

За результатами проведених досліджень нами було встановлено, що у хворих на ХГС як зі змішаною кріоглобулінемією, так й без неї, вміст ІЛ-6 в сироватці крові був вище, ніж у здорових людей ( $p < 0,001$ ). Вміст ІЛ-6 у хворих зі змішаною кріоглобулінемією коливався від 0,08 до 2,04 пг/мл зі значенням 0,60 [0,24; 0,88] пг/мл, що значно перевищувало ці показники у здорових людей (від 0,04 до 0,32 пг/мл зі значенням 0,08 [0,08; 0,14] пг/мл,  $p < 0,001$ ). У пацієнтів з ХГС та відсутністю змішаної кріоглобулінемії вміст ІЛ-6 у сироватці крові коливався від 0,04 до 1,34 пг/мл зі значенням 0,24 [0,20; 0,44] пг/мл, що також перевищувало аналогічні значення групи здорових людей ( $p < 0,001$ ). Порівняння вмісту ІЛ-6 в сироватці крові хворих на ХГС показав залежність рівня підвищення цього показника від наявності змішаної кріоглобулінемії. Так, у пацієнтів зі змішаною кріоглобулінемією вміст ІЛ-6 в сироватці крові виявився в 2,5 рази вищим, ніж у хворих без цієї позапечінкової ознаки (табл. 4.4).

Таблиця 4.4 – Показники вмісту ІЛ-6 у сироватці крові хворих на ХГС залежно від наявності змішаної кріоглобулінемії, Me [Q<sub>25</sub>; Q<sub>75</sub>].

Показник	Здорові люди (n=20)	Хворі на ХГС (n=149)	
		зі змішаною кріоглобулінемією (n=93)	без змішаної кріоглобулінемії (n=56)
ІЛ-6, пг/мл	0,08 [0,08; 0,14]	0,60 [0,24; 0,88] <sup>1,2</sup>	0,24 [0,20; 0,44] <sup>1</sup>

Примітка. 1 – різниця достовірна, порівняно зі здоровими людьми ( $p < 0,001$ ); 2 – порівняно із хворими без змішаної кріоглобулінемії ( $p < 0,05$ ).

При оцінці впливу ОП гену ІЛ-6 (rs 1800795) на кількісний вміст цього цитокіну у хворих на ХГС залежно від наявності змішаної кріоглобулінемії, ми розділили пацієнтів згідно їх генотипів. У хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією, які були носіями G-алелю (CG/GG-генотипи), спостерігався вищий вміст ІЛ-6 в сироватці крові, порівняно як з хворими зі змішаною кріоглобулінемією носіями СС-генотипу ( $p < 0,01$ ), так і порівняно зі здоровими людьми ( $p < 0,001$ ). Найвищий кількісний вміст ІЛ-6 був зареєстрований у носіїв GG-генотипу зі змішаною кріоглобулінемією як порівняно зі здоровими людьми ( $p < 0,001$ ), так і при порівнянні з хворими носіями СС-генотипу зі змішаною кріоглобулінемією ( $p < 0,01$ ). (табл. 4.5).

Таблиця 4.5 – Показники вмісту ІЛ-6 у сироватці крові хворих на ХГС залежно від ОП гену, що його кодує (rs 1800795), та наявності змішаної кріоглобулінемії, Me [Q<sub>25</sub>; Q<sub>75</sub>], пг/мл

Групи хворих	Здорові люди (n=20)	Хворі на ХГС (n=149)	
		зі змішаною кріоглобулінемією (n=93)	без змішаної кріоглобулінемії (n=56)
Генотип СС	0,08 [0,08; 0,14]	0,30 [0,26; 0,32] <sup>1,2</sup>	0,10 [0,08; 0,20]
Генотип СG		0,62 [0,20; 1,02] <sup>1,3</sup>	0,52 [0,24; 0,64] <sup>1,3</sup>
Генотип GГ		0,64 [0,26; 0,94] <sup>1,2,3</sup>	0,24 [0,22; 0,30] <sup>1,3</sup>
Генотипи СG/GГ		0,63 [0,23; 0,96] <sup>1,2,3</sup>	0,26 [0,24; 0,54] <sup>1,3</sup>

Примітка. 1 – різниця достовірна порівняно зі здоровими людьми ( $p < 0,001$ ); 2 – порівняно із хворими без змішаної кріоглобулінемії ( $p < 0,05$ ); 3 – порівняно з хворими на ХГС носіями СС-генотипу ( $p < 0,05$ ).

При аналізі вмісту ІЛ-6 в сироватці крові пацієнтів із ХГС зі змішаною кріоглобулінемією в залежності від ОП гену ІЛ-6 (rs 1800795), нами отримані дані, що у носіїв СС-генотипу цей показник виявився нижчим, порівняно із відповідним показником у хворих з СG та GГ генотипами ( $p < 0,05$ ), проте незалежно від генотипу вміст цього цитокіну перевищував відповідний показник здорових осіб ( $p < 0,05$ ) (табл. 4.5).

Слід зазначити, що у хворих на ХГС без змішаної кріоглобулінемії за наявності СС-генотипу вміст ІЛ-6 коливався від 0,04 до 0,26 пг/мл зі значенням 0,10 [0,08; 0,20] пг/мл та не мав статистично достовірної різниці при порівнянні зі здоровими людьми ( $p < 0,05$ ). Проте за наявності G-алелю (СG/GГ-генотипи) у хворих на ХГС без змішаної кріоглобулінемії, кількісний вміст ІЛ-6 був вище як порівняно зі здоровими людьми ( $p < 0,05$ ), так і порівняно з пацієнтами без цього позапечінкового прояву, які були носіями СС-генотипу ( $p < 0,05$ ) (табл. 4.5).

В подальшій частині нашої роботи ми провели аналіз кількісного вмісту змішаних кріоглобулінів, загального ревматоїдного фактору, ревматоїдного фактору IgM, IgG та IgA в сироватці крові хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією залежно від поліморфізму гену ІЛ-6 (rs 1800795).

За результатами проведених досліджень було встановлено, що у хворих на ХГС із змішаною кріоглобулінемією у сироватці крові найвищий кількісний вміст кріоглобулінів спостерігався у носіїв СG/GГ генотипів та коливався від 2,23 до 3,13 опт. од. зі значенням 2,67 [2,38; 3,13] опт. од. При порівнянні кількісного вмісту змішаних кріоглобулінів у сироватці крові носіїв СG/GГ генотипів із хворими-носіями СС-генотипу нами була виявлена статистично достовірна різниця ( $p < 0,05$ ) (табл. 4.6).

Таблиця 4.6 – Вміст змішаних кріоглобулінів в сироватці крові хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією залежно від ОП гену ІЛ-6 (rs 1800795) Me [Q<sub>25</sub>; Q<sub>75</sub>].

Показник	Здорові люди (n=20)	Хворі на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією (n=93)	Хворі на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією	
			СС генотип (n=9)	CG/GG генотипи (n=84)
Змішані кріоглобуліни, опт.од	< 2,2	2,64 [2,38; 3,12]	2,42 [2,36; 2,54]	2,66 [2,38; 3,13] *

Примітка. \* - різниця достовірна, порівняно з хворими з СС-генотипом (p<0,05).

Аналіз кількісного вмісту ревматоїдного фактору у хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією залежно від ОП гену ІЛ-6 (rs 1800795) показав, що найвищий вміст загального ревматоїдного фактору у сироватці крові спостерігався за наявності CG/GG генотипів та був достовірно вищим при порівнянні із носіями СС-генотипу (27,12 [21,63; 70,24] МО/мл проти 18,93 [14,3; 26,56] МО/мл відповідно, p<0,05) (табл. 4.7).

При дослідженні вмісту ревматоїдного фактору ІgМ у хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією залежно від ОП гену ІЛ-6 (rs 1800795) нами було виявлено, що найбільша їх кількість спостерігалась так само у носіїв CG/GG генотипів, що також було достовірно вище при порівнянні із носіями СС-генотипу (10,47 [5,10; 17,49] МО/мл проти 5,10 [1,75; 10,00] МО/мл відповідно, p<0,05) (табл. 4.7).

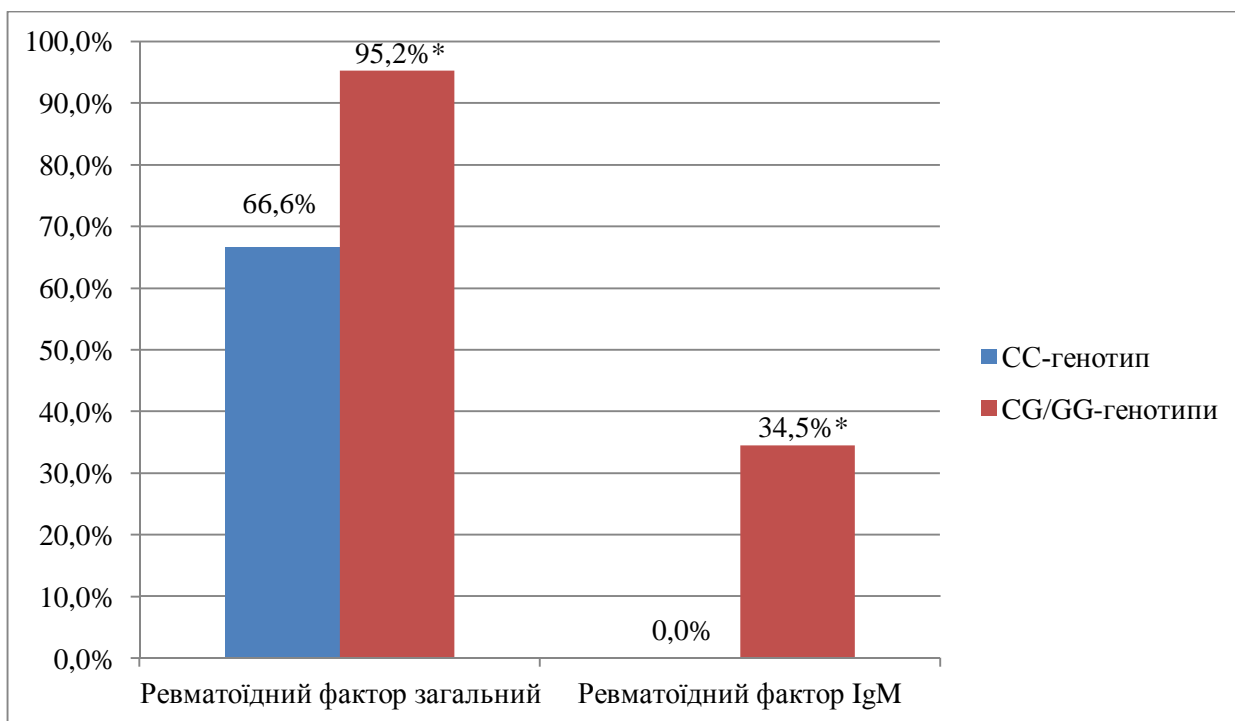
Таблиця 4.7 – Вміст ревматоїдного фактору в сироватці крові хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією залежно від ОП гену ІЛ-6 (rs 1800795), Me [Q<sub>25</sub>; Q<sub>75</sub>].

Показник, одиниці вимірювання	Хворі на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією (n=93)	Хворі на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією	
		СС генотип (n=9)	CG/GG генотипи (n=84)
Ревматоїдний загальний фактор, МО/мл	24,88 [18,93; 33,13]	18,93 [14,30; 26,56]	27,12 [21,63; 70,24]*
Ревматоїдний фактор ІgM, МО/мл	8,07 [4,93; 12,42]	5,10 [1,75; 10,00]	10,47 [5,10; 17,49]*

Примітка. \* - різниця достовірна, порівняно з хворими з СС-генотипом (p<0,05).

У подальшому ми провели аналіз частоти виявлення позитивного загального ревматоїдного фактору та ревматоїдного фактору ІgM у сироватці крові хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією залежно від ОП гену ІЛ-6 (rs 1800795). Позитивний загальний ревматоїдний фактор достовірно частіше реєструвався серед хворих із CG/GG генотипами, порівняно із носіями СС-генотипу, а саме у 95,2 % пацієнтів (80 із 84) проти 66,6 % хворих (6 із 9) відповідно ( $\chi^2=9,53$ , p<0,01) (рис. 4.3).

Ревматоїдний фактор ІgM також частіше виявлявся у хворих з CG/GG генотипами, а саме у 34,5 % пацієнтів (29 із 84), в той час як у всіх носіїв СС-генотипу рівень ревматоїдного фактору ІgM не перевищував референтне значення, що при порівнянні дало статистичну різницю ( $\chi^2=4,52$ , p<0,05) (рис. 4.3).



Примітка. \* - різниця достовірна, порівняно з хворими з CC-генотипом ( $p < 0,05$ ).

Рисунок 4.3 – Частота реєстрації позитивного ревматоїдного фактору у хворих на ХГС зі змішаною криоглобулінемією залежно від ОП гену ІІ-6 (rs 1800795).

Аналіз впливу ОП гену ІІ-6 (rs 1800795) на вміст ревматоїдного фактору ІgА у сироватці крові хворих на ХГС зі змішаною криоглобулінемією виявив, що найвища концентрація автоантитіл цього класу спостерігалась серед носіїв CG/GG-генотипів, у яких рівень ревматоїдного фактору ІgА коливався від 0,82 МО/мл до 10,46 МО/мл зі значенням 1,93 [1,06; 3,00] МО/мл. Даний показник був достовірно вище як при порівнянні із хворими-носіями CC-генотипу (від 0,72 МО/мл до 1,75 МО/мл зі значенням 1,12 [0,78; 1,57] МО/мл,  $p < 0,05$ ), так і здоровими людьми (від 0,03 МО/мл до 1,33 МО/мл зі значенням 0,35 [0,07; 0,51] МО/мл,  $p < 0,01$ ) (табл. 4.8).



Таблиця 4.8 – Вміст ревматоїдного фактору IgA в сироватці крові хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією залежно від ОП гену ІЛ-6 (rs 1800795) Me [Q<sub>25</sub>; Q<sub>75</sub>], МО/мл.

Показник, одиниці вимірювання	Здорові люди (n=20)	Хворі на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією (n=93)	Хворі на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією	
			СС генотип (n=9)	CG/GG генотипи (n=84)
Ревматоїдний фактор IgA, МО/мл	0,35 [0,07; 0,51]	1,43 [1,06; 2,56] <sup>1</sup>	1,12 [0,78; 1,57] <sup>1</sup>	1,93 [1,06; 3,00] <sup>1,2</sup>

Примітка. 1 – різниця достовірна порівняно зі здоровими людьми (p<0,01); 2 – порівняно із носіями СС-генотипу (p<0,05).

При проведенні кореляційного аналізу нами було визначено зав'язки між основними лабораторними показниками та вмістом змішаних кріоглобулінів, ревматоїдного фактору, ІЛ-6 в сироватці крові хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією застосовуючи аналіз за Спірменом (для визначення кореляцій між кількісними показниками) та кореляційний аналіз за Кендал Тау (для визначення кореляцій між кількісними показниками та порядковими).

У хворих за наявності HCV-асоційованої змішаної кріоглобулінемії роль імунологічних змін в прогресуванні захворювання підтверджують виявлені достовірні позитивні кореляції між рівнем підвищення ІЛ-6 в сироватці крові та ступенем фіброзу печінки ( $\tau=0,25$ ,  $p=0,01$ ), вмістом змішаних кріоглобулінів в сироватці крові та активністю АСТ ( $r=0,32$ ,  $p=0,03$ ) (табл. 4.9).

Таблиця 4.9 – Кореляційні зв'язки кількісного вмісту змішаних кріоглобулінів, ІЛ-6 та ревматоїдного фактору у сироватці крові хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією з основними лабораторними та клінічними параметрами.

Показник, одиниці вимірювання	Змішані кріоглобуліни	ІЛ-6	Ревматоїдний фактор загальний	Ревматоїдний фактор ІgM
1	2	3	4	5
Кореляції за Спірменом				
Змішані кріоглобуліни, опт. од	-	r=-0,03 p=0,80	r=0,18 p=0,30	r=0,32 p=0,06
ІЛ-6, пг/мл	r=-0,03 p=0,80	-	r=0,01 p=0,96	r=0,28 p=0,14
Ревматоїдний фактор загальний, МО/мл	r=0,18 p=0,30	r=0,01 p=0,96	-	r=0,66 p<0,001*
Ревматоїдний фактор ІgM, МО/мл	r=0,33 p=0,06	r=0,28 p=0,14	r=0,66 p<0,001*	-
Ревматоїдний фактор ІgA, МО/мл	r=-0,029 p=0,87	r=0,14 p=0,47	r=0,52 p<0,002*	r=0,54 p<0,002*
Вік хворих, роки	r=0,01 p=0,93	r=0,08 p=0,62	r=0,04 p=0,82	r=0,04 p=0,85
Вірусне навантаження, МО/мл	r=0,14 p=0,18	r=-0,10 p=0,48	r=0,24 p=0,18	r=0,09 p=0,63
Тривалість ХГС, роки	r=0,15 p=0,17	r=-0,03 p=0,84	r=0,11 p=0,59	r=0,18 p=0,40

Продовження таблиці 4.9

1	2	3	4	5
Загальний білірубін, мкмоль/л	r=0,02 p=0,88	r=0,04 p=0,80	r=0,05 p=0,81	r=0,05 p=0,81
Прямий білірубін, мкмоль/л	r=0,03 p=0,82	r=0,22 p=0,16	r=0,19 p=0,35	r=-0,03 p=0,88
АЛТ, ммоль/год.л	r=-0,01 p=0,91	r=0,01 p=0,98	r=0,07 p=0,73	r=-0,04 p=0,85
АСТ, ммоль/год.л	r=0,32 p=0,03*	r=-0,07 p=0,77	r=-0,28 p=0,31	r=0,07 p=0,80
Тимолова проба, од.	r=0,02 p=0,83	r=0,05 p=0,73	r=0,02 p=0,94	r=0,17 p=0,38
Гемоглобін, г/л	r=0,10 p=0,35	r=-0,23 p=0,12	r=0,13 p=0,50	r=0,01 p=0,99
Еритроцити, $\times 10^{12}/л$	r=-0,01 p=0,99	r=-0,14 p=0,34	r=0,14 p=0,47	r=-0,13 p=0,47
Тромбоцити, $\times 10^9/л$	r=-0,02 p=0,83	r=-0,29 p=0,047	r=-0,02 p=0,93	r=-0,03 p=0,87
Лейкоцити, $\times 10^9/л$	r=-0,03 p=0,74	r=-0,01 p=0,99	r=-0,03 p=0,85	r=-0,18 p=0,35
Нейтрофіли, $\times 10^9/л$	r=-0,01 p=0,95	r=-0,03 p=0,80	r=0,07 p=0,73	r=-0,08 p=0,66
Кореляції за Кендал Тау				
Ступінь фіброзу печінки	$\tau=0,10$ p=0,18	$\tau=0,25$ p=0,01*	$\tau=0,12$ p=0,32	$\tau=0,09$ p=0,48
Некрозо-запальна активність	$\tau=0,04$ p=0,57	$\tau=0,01$ p=0,95	$\tau=0,09$ p=0,48	$\tau=0,06$ p=0,65

Примітка. \* - кореляційний зв'язок є достовірним ( $p < 0,05$ ).

Зафіксовано також позитивну кореляцію між показниками загального ревматоїдного фактору та ревматоїдним фактором IgM ( $r=0,66$ ,  $p<0,001$ ) і IgA ( $r=0,52$ ,  $p<0,002$ ), а також між ревматоїдними факторами IgM та IgA ( $r=0,54$ ,  $p<0,002$ ). Позитивна кореляція виявлена між ступенем фіброзу печінки та рівнем ІЛ-6 у сироватці крові хворих на ХГС ( $\tau=0,25$ ,  $p=0,01$ ) (табл. 4.9).

Таким чином, у хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією вміст ІЛ-6 в сироватці крові достовірно вище, ніж у пацієнтів без цього прояву. У хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією з генотипами CG/GG імунологічні порушення найбільш виражені за рахунок вищого кількісного вмісту в сироватці крові змішаних кріоглобулінів, ІЛ-6, ревматоїдного фактору загального, IgM та IgA, порівняно носіями CC-генотипу. Роль імунологічних змін в прогресуванні ХГС у хворих зі змішаною кріоглобулінемією підтверджують виявлені достовірні позитивні кореляції між рівнем підвищення ІЛ-6 та ступенем фіброзу печінки, вмістом змішаних кріоглобулінів та активністю АСТ.

#### **4.3 Вміст ІЛ-17 та ревматоїдного фактору в сироватці крові хворих з HCV-асоційованою змішаною кріоглобулінемією залежно від однонуклеотидного поліморфізму гену ІЛ-17 (rs 612242)**

За результатами проведених досліджень нами було встановлено, що у хворих на ХГС як зі змішаною кріоглобулінемією, так й без неї, вміст ІЛ-17 в сироватці крові був вище, ніж у здорових людей ( $p<0,001$ ). Вміст ІЛ-17 у хворих зі змішаною кріоглобулінемією коливався від 36,81 до 147,60 пг/мл зі значенням 82,97 [70,68; 93,46] пг/мл, що значно перевищувало ці показники у здорових людей (від 8,54 до 45,86 пг/мл зі значенням 21,61 [11,92; 24,90] пг/мл,  $p<0,001$ ). У пацієнтів з ХГС та відсутністю змішаної кріоглобулінемії кількість ІЛ-17 у сироватці крові коливалась від 66,59 до 246,10 пг/мл зі значенням 87,03 [74,18; 97,55] пг/мл, що також перевищувало аналогічні значення групи здорових людей ( $p<0,001$ ). Порівняння вмісту ІЛ-17 в

сироватці крові хворих на ХГС показало відсутність залежності рівня підвищення цього показника від наявності змішаної кріоглобулінемії ( $p > 0,05$ ) (табл. 4.10).

Таблиця 4.10 – Показники вмісту ІЛ-17 у сироватці крові хворих на ХГС залежно від наявності змішаної кріоглобулінемії, Ме [Q<sub>25</sub>; Q<sub>75</sub>].

Показник, одиниці вимірювання	Здорові люди (n=20)	Хворі на ХГС (n=149)	
		зі змішаною кріоглобулінемією (n=93)	без змішаної кріоглобулінемії (n=56)
ІЛ-17, пг/мл	21,61 [11,92; 24,90]	82,97 [70,68; 93,46] *	87,03 [74,18; 97,55] *

Примітка. \* – різниця достовірна, порівняно зі здоровими людьми ( $p < 0,001$ ).

При оцінці впливу ОП гену ІЛ-17 (rs 612242) на кількісний вміст цього цитокіну у хворих на ХГС залежно від наявності змішаної кріоглобулінемії, ми розділили пацієнтів згідно їх генотипів. Нами не було виявлено достовірної різниці ( $p > 0,05$ ) між кількісним вмістом ІЛ-17 в сироватці крові у хворих на ХГС носіїв різних генотипів ОП гену ІЛ-17 (rs 612242) як зі змішаною кріоглобулінемією, так й у пацієнтів без цієї позапечінкової ознаки. Проте у всіх хворих досліджуваних підгруп кількісний вміст ІЛ-17 в сироватці крові був достовірно вищим ( $p < 0,001$ ), ніж у здорових осіб (табл. 4.11).

Таблиця 4.11 – Вміст ІЛ-17 у сироватці крові хворих на ХГС залежно від ОП гену, що його кодує (rs 612242), та наявності змішаної кріоглобулінемії, Me [Q<sub>25</sub>; Q<sub>75</sub>], пг/мл

Групи хворих	Здорові люди (n=20)	Хворі на ХГС (n=149)	
		зі змішаною кріоглобулінемією (n=93)	без змішаної кріоглобулінемії (n=56)
Генотип CC	21,61 [11,92; 24,90]	83,53 [72,43; 93,46] *	86,45 [73,89; 96,09] *
Генотип CG		67,47 [65,42; 69,51] *	91,71 [87,03; 98,71] *
Генотип GG		-	-
Генотипи CG/GG		67,47 [65,42; 69,51] *	91,71 [87,03; 98,71] *

Примітка. \* – різниця достовірна, порівняно зі здоровими людьми (p<0,001).

В подальшій частині нашої роботи ми провели аналіз кількісного вмісту змішаних кріоглобулінів, загального ревматоїдного фактору, ревматоїдного фактору IgM в сироватці крові хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією залежно від ОП гену ІЛ-17 (rs 612242).

За результатами проведених досліджень було встановлено, що у хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією носіїв CC-генотипу кількісний вміст змішаних кріоглобулінів коливався від 2,21 до 3,92 опт. од. (медіана та міжквартильний розмах – 2,59 [2,37; 3,10] опт. од.), в той час як у пацієнтів із CG/GG генотипами їх кількісний вміст змінювався в межах від 2,83 до 3,42 опт. од. (медіана та міжквартильний розмах – 3,16 [2,83; 3,42] опт. од.), проте статистичної різниці ми не виявили (p>0,05).

У подальшому ми провели аналіз частоти виявлення позитивного ревматоїдного фактору у сироватці крові хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією залежно від ОП гену ІЛ-17 (rs 612242). Слід зазначити, що

у хворих-носіїв CG/GG-генотипів в жодному випадку не був виявлений позитивним ревматоїдний фактор як загальний, так й ревматоїдний фактор IgM. При порівнянні частоти виявлення загального ревматоїдного фактору нами була визначена достовірна статистична різниця ( $\chi^2=28,93$ ,  $p<0,001$  з використанням точного критерію Фішера для малих вибірок), а саме – серед носіїв CC-генотипу цей клас автоантитіл зустрічався у 84 з 90 хворих (93,3 %) та при порівнянні із носіями CG/GG-генотипів.

Аналіз впливу ОП гену IL-17 (rs 612242) на вміст ревматоїдного фактору IgA у сироватці крові хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією виявив, що найвища концентрація автоантитіл цього класу спостерігалась серед носіїв CC-генотипу, у яких рівень ревматоїдного фактору IgA коливався від 0,72 МО/мл до 10,46 МО/мл зі значенням 1,50 [1,06; 2,66] МО/мл. При порівнянні зі здоровими людьми була виявлена статистично значуща різниця (від 0,03 МО/мл до 1,33 МО/мл зі значенням 0,35 [0,07; 0,51] МО/мл,  $p<0,01$ ) (рис. 4.4).

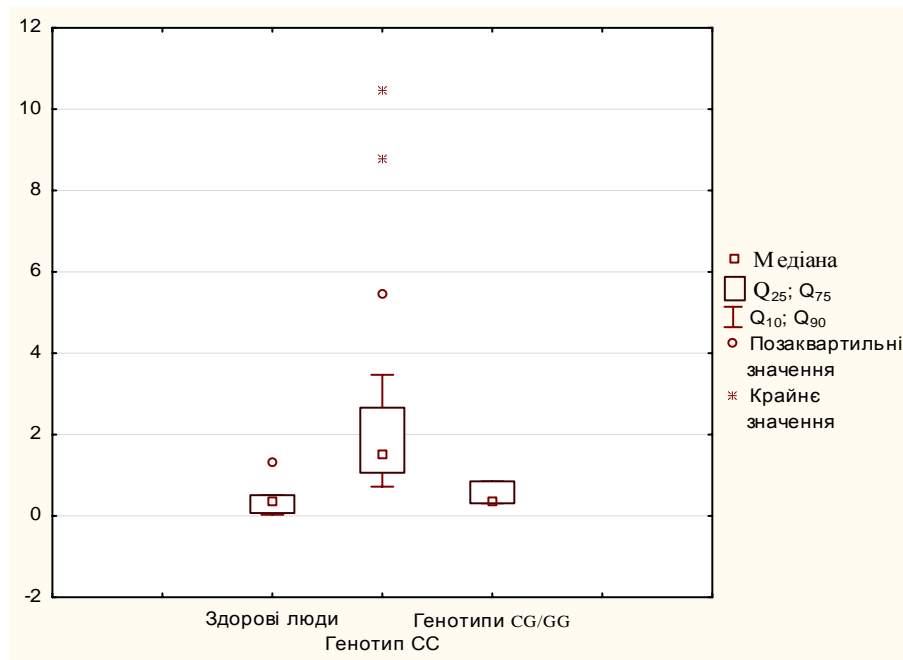


Рисунок 4.4 – Вміст ревматоїдного фактору IgA в сироватці крові хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією залежно від ОП гену IL-17 (rs 612242) Me [Q<sub>25</sub>; Q<sub>75</sub>], МО/мл

При проведенні кореляційного аналізу нами було проведено визначення зв'язків між основними лабораторними показниками та вмістом змішаних кріоглобулінів, ревматоїдного фактору (загального, IgM, IgA), ІЛ-17 у хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією застосовуючи аналіз за Спірменом (для визначення кореляцій між кількісними показниками) та кореляційний аналіз за Кендал Тау (для визначення кореляцій між кількісними показниками та порядковими). Встановлено достовірні зв'язки ( $p < 0,05$ ) між кількісним вмістом змішаних кріоглобулінів та активністю АСТ в сироватці крові, що підтверджує роль НCV-асоційованої змішаної кріоглобулінемії в прогресуванні захворювання. Зафіксовано також позитивну кореляцію між загальним ревматоїдним фактором та ревматоїдним фактором IgM ( $p < 0,001$ ) та IgA ( $p < 0,002$ ) (табл. 4.12).

Таблиця 4.12 – Кореляційні зв'язки вмісту змішаних кріоглобулінів, ІЛ-6 та ревматоїдного фактору у сироватці крові хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією з основними лабораторними та клінічними параметрами.

Показники	Змішані кріоглобуліни	ІЛ-17	Ревматоїдний фактор загальний	Ревматоїдний фактор IgM
1	2	3	4	5
ІЛ-17, пг/мл	$r = -0,03$ $p = 0,80$	-	$r = 0,01$ $p = 0,96$	$r = 0,28$ $p = 0,14$
Ревматоїдний фактор загальний, МО/мл	$r = 0,18$ $p = 0,30$	$r = 0,19$ $p = 0,33$	-	$r = 0,66$ $p < 0,001^*$
Ревматоїдний фактор IgM, МО/мл	$r = 0,33$ $p = 0,06$	$r = 0,09$ $p = 0,64$	$r = 0,66$ $p < 0,001^*$	-
Ревматоїдний фактор IgA, МО/мл	$r = -0,029$ $p = 0,87$	$r = 0,12$ $p = 0,55$	$r = 0,52$ $p < 0,002^*$	$r = 0,54$ $p < 0,002^*$
Вік хворих, роки	$r = 0,01$ $p = 0,93$	$r = -0,23$ $p = 0,13$	$r = 0,04$ $p = 0,82$	$r = 0,04$ $p = 0,85$



Продовження таблиці 4.12

1	2	3	4	5
Вірусне навантаження, МО/мл	r=0,14 p=0,18	r=0,11 p=0,48	r=0,24 p=0,18	r=0,09 p=0,63
Тривалість ХГС, роки	r=0,15 p=0,17	r=-0,06 p=0,72	r=0,11 p=0,59	r=0,18 p=0,40
Загальний білірубін, мкмоль/л	r=0,02 p=0,88	r=0,04 p=0,82	r=0,05 p=0,81	r=0,05 p=0,81
Прямий білірубін, мкмоль/л	r=0,03 p=0,82	r=0,02 p=0,93	r=0,19 p=0,35	r=-0,03 p=0,88
АЛТ, ммоль/год.л	r=-0,01 p=0,91	r=0,14 p=0,36	r=0,07 p=0,73	r=-0,04 p=0,85
АСТ, ммоль/год.л	r=0,32 p=0,03*	r=0,09 p=0,71	r=-0,28 p=0,31	r=0,07 p=0,8
Тимолова проба, од.	r=0,02 p=0,83	r=0,01 p=0,95	r=0,02 p=0,94	r=0,17 p=0,38
Гемоглобін, г/л	r=0,10 p=0,35	r=0,11 p=0,48	r=0,13 p=0,50	r=0,01 p=0,99
Кількість еритроцитів, x10 <sup>12</sup> /л	r=-0,01 p=0,99	r=0,13 p=0,41	r=0,14 p=0,47	r=-0,13 p=0,47
Кількість тромбоцитів, x10 <sup>9</sup> /л	r=-0,02 p=0,83	r=-0,13 p=0,41	r=-0,02 p=0,93	r=-0,03 p=0,87
Кількість лейкоцитів, x10 <sup>9</sup> /л	r=-0,03 p=0,74	r=0,04 p=0,81	r=-0,03 p=0,85	r=-0,18 p=0,35
Кількість нейтрофілів, x10 <sup>9</sup> /л	r=-0,01 p=0,95	r=0,06 p=0,69	r=0,07 p=0,73	r=-0,08 p=0,66

Примітка. \* - кореляційний зв'язок за Спірменом є достовірним (p<0,05).

Таким чином, рівень підвищення вмісту ІЛ-17 в сироватці крові хворих на ХГС не залежав від наявності змішаної кріоглобулінемії та ОП гену ІЛ-17 (rs 612242). Проте встановлені певні відмінності імунологічних порушень, які

пов'язані з ревматоїдним фактором у хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією залежно від ОП гену ІЛ-17 (rs 612242), а саме позитивним загальний ревматоїдний фактор виявлявся лише у носіїв СС-генотипу проти відсутності його виявлення у пацієнтів носіїв СG/GG-генотипів ( $p < 0,05$ ).

### Резюме

У хворих на ХГС вміст ІЛ-6 в сироватці крові був вище ( $p < 0,001$ ), ніж у здорових людей, а рівень його підвищення залежав від ОП гену ІЛ-6 (rs 1800795). Найвищий рівень ІЛ-6 виявився у пацієнтів за наявності G-алелю (СG/GG-генотипи), порівняно із носіями СС-генотипу, у яких вміст цього цитокіну в сироватці крові статистично не відрізнявся від здорових людей ( $p > 0,05$ ). Патогенетичну роль ІЛ-6 в формуванні патології печінки при ХГС підтвердили встановлені кореляційні зв'язки між вмістом цього цитокіну та рівнем прямого білірубіну ( $r = 0,26$ ,  $p = 0,04$ ), кількісним вмістом еритроцитів ( $r = 0,26$ ,  $p = 0,02$ ) та тромбоцитів ( $r = -0,26$ ,  $p = 0,037$ ).

За наявності HCV-асоційованої змішаної кріоглобулінемії вміст ІЛ-6 в сироватці крові виявився вищим ( $p < 0,05$ ), ніж у хворих на ХГС без цієї позапечінкової ознаки. У хворих на ХГС зі змішаною, які є носіями G-алелю (СG/GG-генотипи), імунологічні порушення виявилися найбільш вираженими за рахунок вищого кількісного вмісту в сироватці крові змішаних кріоглобулінів ( $p < 0,05$ ), ІЛ-6 ( $p < 0,05$ ), ревматоїдного фактору як загального ( $p < 0,05$ ), так й ревматоїдного фактору ІgM ( $p < 0,05$ ) та ІgA ( $p < 0,05$ ), порівняно з хворими на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією носіями СС-генотипу. За відсутності у хворих на ХГС змішаної кріоглобулінемії та наявності СС-генотипу кількісний вміст ІЛ-6 в сироватці крові залишається в межах здорових людей ( $p > 0,05$ ). Роль імунологічних змін в прогресуванні ХГС у хворих зі змішаною кріоглобулінемією підтверджують виявлені достовірні позитивні кореляції між рівнем підвищення ІЛ-6 та ступенем фіброзу печінки ( $\tau = 0,25$ ,  $p = 0,01$ ), вмістом змішаних кріоглобулінів в сироватці крові та активністю АСТ ( $r = 0,32$ ,

$p=0,03$ ). Зафіксовано також позитивну кореляцію між показниками загального ревматоїдного фактору та ревматоїдним фактором IgM ( $r = 0,66$ ,  $p < 0,001$ ), IgA ( $r = 0,52$ ,  $p < 0,002$ ).

Вміст IL-17 в сироватці хворих на ХГС був вище ( $p < 0,001$ ), ніж у здорових осіб, проте рівень його підвищення не залежав ( $p > 0,05$ ) від ОП гену IL-17 (rs 612242). Рівень підвищення кількісного вмісту IL-17 в сироватці крові хворих на ХГС не залежав від наявності HCV-асоційованої змішаної кріоглобулінемії. У хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією не встановлено статистично значущих відмінностей як кількісного вмісту змішаних кріоглобулінів, так й кількісного вмісту IL-17 в сироватці крові залежно від ОП гену IL-17 (rs 612242). Проте позитивним загальний ревматоїдний фактор виявлявся лише у носіїв CC-генотипу проти відсутності його виявлення у пацієнтів носіїв CG/GG-генотипів (у 93,3 % хворих проти 0 % пацієнтів,  $p < 0,001$ ). Вміст ревматоїдного фактору IgA в сироватці крові хворих з CC-генотипом ОП гену IL-17 (rs 612242) був вище, ніж у здорових осіб ( $p < 0,01$ ) та мав пряму кореляцію з рівнем загального ревматоїдного фактору ( $r = 0,52$ ,  $p < 0,002$ ) та ревматоїдного фактору IgM ( $r = 0,54$ ,  $p < 0,002$ ).

Матеріали даного розділу висвітлені в наукових працях та доповідях [224-225, 228, 230, 237-238].

**РОЗДІЛ 5**  
**ЕФЕКТИВНІСТЬ ПРОТИВІРУСНОЇ ТЕРАПІЇ ЛІКУВАННЯ ХВОРИХ**  
**НА ХРОНІЧНИЙ ГЕПАТИТ С ЗАЛЕЖНО ВІД**  
**ОДНОНУКЛЕОТИДНОГО ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНІВ ІНТЕРЛЕЙКІНІВ**  
**6 (rs 1800795) ТА 17 (rs 612242), ДИНАМІКА ІМУНОЛОГІЧНИХ ЗМІН**  
**ПРИ РІЗНИХ РЕЗУЛЬТАТАХ ЛІКУВАННЯ ТА НАЯВНОСТІ**  
**ЗМІШАНОЇ КРІОГЛОБУЛІНЕМІЇ**

**5.1 Ефективність противірусної терапії за схемою рег-IFN $\alpha$ +RBV+SOF хворих на хронічний гепатит С залежно від однонуклеотидного поліморфізму гену ІЛ-6 (rs 1800795) та динаміка вмісту ІЛ-6 в сироватці крові залежно від результатів лікування**

В цьому підрозділі нами було проаналізовано ефективність 12-ти тижневого курсу противірусного лікування за схемою рег-IFN $\alpha$ +RBV+SOF у 83 хворих на ХГС залежно від ОП гену ІЛ-6 (rs 1800795).

Вік хворих, які отримали лікування рег-IFN $\alpha$ +RBV+SOF коливався від 24 до 73 років та склав 41,0 [39,0; 51,0] років. Серед хворих переважали чоловіки (57 – 68,7 %), жінок було 26 (31,3 %).

Вірусне навантаження до початку проведення противірусного лікування у 63,9 % (53 із 83) було високим (>400000 МО/мл), а у 30 (36,1 %) хворих відповідно було низьким. Результати щодо генотипуванням HCV та вірусного навантаження до початку проведення противірусного лікування наведені на рисунку 5.1.

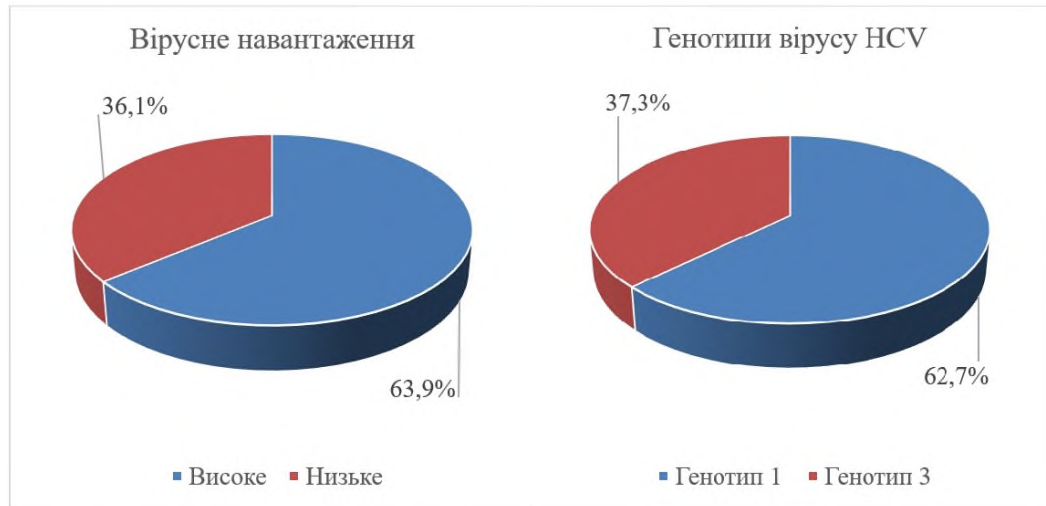


Рисунок 5.1 – Розподіл різних генотипів HCV та рівні вірусного навантаження у хворих на ХГС до початку противірусного лікування.

За результатами неінвазивних тестів визначення ступеня фіброзу печінки у хворих на ХГС до початку ПВТ показало, що серед цих хворих переважали пацієнти зі ступенями фіброзу печінки F2 та F3. Аналіз виразності некрозо-запальної активності показав переважання хворих з активністю A1, проте у кожного четвертого пацієнта виявлялася висока активність, а у кожного п'ятого хворого, навпаки, активність була A0 (рис. 5.2).

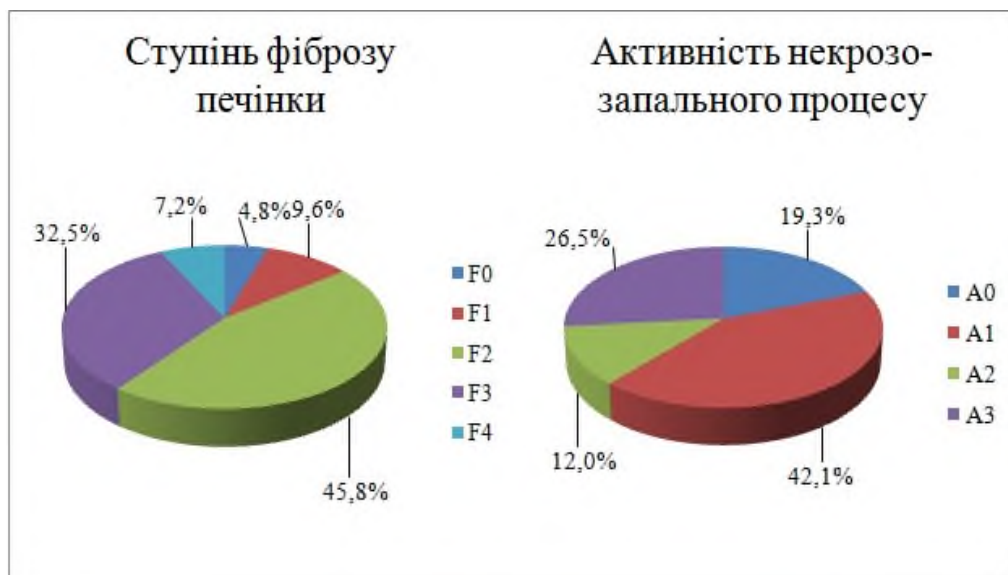
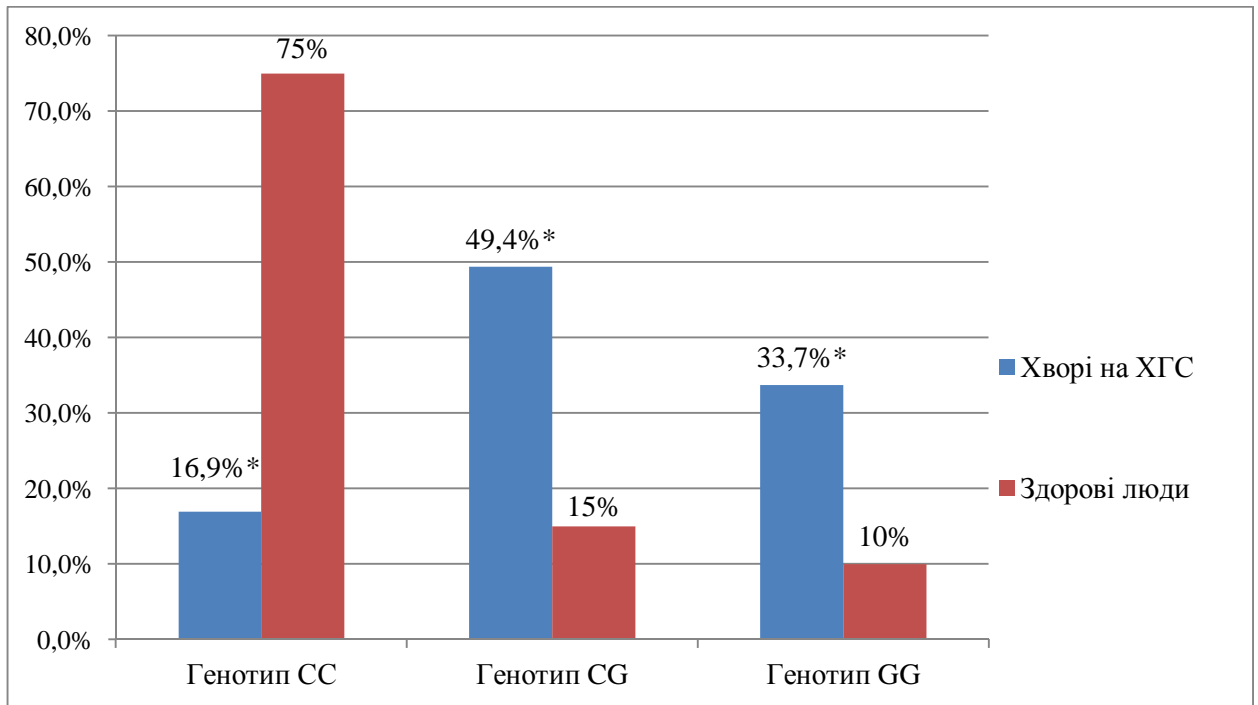


Рисунок 5.2 – Ступінь фіброзу печінки та рівень активності некрозо-запального процесу у хворих до початку ПВТ.

Розподіл різних генотипів ОП гену ІЛ-6 (rs 1800795) у хворих ХГС, які отримували ПБТ за схемою  $\text{peg-IFN}\alpha\text{+RBV+SOE}$ , відповідав виявленій закономірності розподілу цих генотипів в загальній когорті хворих на ХГС та у порівнянні зі здоровими людьми. Так, частота виявлення СС-генотипу у здорових людей була вище, ніж у хворих на ХГС ( $\chi^2=26,92$ ,  $p<0,001$ ). У той же час, серед пацієнтів превалювали генотипи СG/GG ( $p<0,05$ ) (рис. 5.3).



Примітка. \* - різниця достовірна, порівняно зі здоровими людьми ( $p<0,05$ ).

Рисунок 5.3 – Розподіл ОП гену ІЛ-6 (rs 1800795) у хворих ХГС та здорових людей.

У результаті розрахунків була обрана домінантна модель успадкування, яка дозволила встановити, що генотипи СG/GG ОП гену ІЛ-6 (rs 1800795) мають високі шанси впливу на хронізацію гепатиту С (0,831 проти 0,250,  $\chi^2=26,92$ ,  $OR=14,79$ , 95 %  $CI=4,62-47,35$ ). Тому для подальшого аналізу впливу ОП гену ІЛ-6 (rs 1800795) ми сформували 2 підгрупи хворих: 14 пацієнтів з СС-генотипом та 69 хворих з генотипами СG/GG (табл. 5.1).

Таблиця 5.1. Домінантна модель успадкування ОП гену ІІ-6 (rs 1800795) у хворих на ХГС у порівнянні зі здоровими людьми.

Алелі	Хворі	Здорові	$\chi^2$	p	OR (odd ratio)	
	ХГС	люди			Значення	95 % CI
	n=83	n=20				
Генотип CC	0,169	0,750	26,92	<0,0001	0,07	0,02-0,22
Генотипи CG/GG	0,831	0,250			14,79	4,62-47,35

За результатами порівняння основних лабораторних даних хворих на ХГС з різними генотипами ОП гену ІІ-6 (rs 1800795) до проведення ПВТ встановлено, що за показниками вірусного навантаження хворі досліджуваних підгруп статистично не відрізнялися. Так, показник вірусного навантаження був  $7,35 \times 10^5$  [ $3,4 \times 10^4$ ;  $1,38 \times 10^6$ ] МО/мл у пацієнтів з CC-генотипом проти  $6,0 \times 10^5$  [ $2,2 \times 10^5$ ;  $1,2 \times 10^6$ ] МО/мл у хворих, які мали CG/GG-генотипи ( $p > 0,05$ ). Високе ( $> 400000$  МО/мл) та низьке ( $< 400000$  МО/мл) вірусне навантаження реєструвалося з однаковою частотою у хворих досліджуваних груп ( $p > 0,05$ ). За результатами проведеного порівняння ступеня виразності некрозо-запальних змін в печінці встановлено, що активність запального процесу ступеня виразності A2 у пацієнтів з CC-генотипом виявлялася частіше (28,6 % проти 8,7 %,  $\chi^2 = 4,34$ ,  $p < 0,05$ ), ніж у хворих з генотипами CG/GG ОП гену ІІ-6 (rs 1800795). Не було встановлено різниці в частоті виявлення різного ступеня виразності фіброзу печінки при порівнянні досліджуваних підгруп ( $p > 0,05$ ).

При проведенні аналізу результативності ПВТ у пацієнтів з ХГС залежно від ОП гену ІІ-6 (rs1800795) було враховано частоту досягнення СВВ 24. Тому при формуванні груп хворих було враховано як досягнення СВВ 24, так й параметри ОП гену ІІ-6 (rs1800795). За результатами проведеного аналізу було встановлено, що всі пацієнти з ХГС носії CC-генотипу (14 – 100 %) відповіли на ПВТ за схемою reg-IFN $\alpha$ +RBV+SOF,

проте серед пацієнтів з CG/GG-генотипами відповіли на лікування формуванням СВВ 24 лише 59 із 69 (85,5 %). Слід зазначити, що серед хворих без формування СВВ 24 були лише пацієнти з CG/GG-генотипами (10 із 10). Навіть за наявності формування СВВ 24 у хворих на ХГС з CG/GG-генотипами негати́вація HCV-RNA в крові відбувалася повільніше, порівняно з пацієнтами з CC-генотипом, у яких вже з 4-го тижня проведення ПВТ було зафіксовано стійке зникнення вірусу (табл. 5.2).

Таблиця 5.2 – Динаміка вірусологічної відповіді на ПВТ за схемою  $\text{peg-IFN}\alpha + \text{SOF} + \text{RBV}$  у хворих на ХГС в різні строки лікування залежно від досягнення СВВ 24 та ОП гену ІЛ-6 (rs1800795), абс. ( %).

Показник	Хворі на ХГС (n=83)		
	відповіли формуванням СВВ 24 (n=73)		не відповіли СВВ 24 (n=10)
	генотип CC (n=14)	генотипи CG/GG (n=59)	генотипи CG/GG (n=10)
Вірусне навантаження до лікування, Ме [Q <sub>25</sub> ; Q <sub>75</sub> ] МО/мл	7,35x10 <sup>5</sup> [3,4x10 <sup>4</sup> ; 1,38x10 <sup>6</sup> ]	6,0x10 <sup>5</sup> [2,27x10 <sup>5</sup> ; 1,4x10 <sup>6</sup> ]	6,45x10 <sup>5</sup> [4,38x10 <sup>5</sup> ; 9,4x10 <sup>5</sup> ]
ШВВ	14 (100 %)	56 (94,1 %)	8 (80,0 %)
На момент завершення ПВТ	14 (100 %)	59 (100 %)	2 (20,0 %)
СВВ 12	14 (100 %)	59 (100 %)	0 (0 %)
СВВ 24	14 (100 %)	59 (100 %)	0 (0 %)

Проведення ПВТ за схемою  $\text{peg-IFN}\alpha + \text{SOF} + \text{RBV}$  супроводжувалося зменшенням виразності цитолітичного синдрому з нормалізацією активності АЛТ в сироватці крові у більшості пацієнтів всіх досліджуваних груп. При досягненні СВВ 24 у всіх хворих з CC-генотипом ОП гену ІЛ-6 (rs1800795) в зазначений термін було зафіксовано нормалізацію показника цитолізу. У переважної більшості пацієнтів з ХГС із СВВ 24 та CG/GG-генотипом після



завершення ПВТ активність АЛТ в сироватці крові також продовжувала знижуватися та нормалізувалася через 24 тижні спостереження у 94,9 % (56 із 59) (табл. 5.3).

Таблиця 5.3 – Динаміка біохімічної відповіді на ПВТ за схемою рег-IFN $\alpha$ +SOF+RBV хворих на ХГС в різні строки лікування залежно від досягнення СВВ 24 та ОП гену ІЛ-6 (rs1800795), абс. ( %).

Показник	Хворі на ХГС (n=83)		
	відповіли формуванням СВВ 24 (n=73)		не відповіли СВВ 24 (n=10)
	генотип СС (n=14)	генотипи СG/GG (n=59)	генотипи СG/GG (n=10)
АЛТ до лікування, Ме [Q <sub>25</sub> ; Q <sub>75</sub> ] ммоль/год.л	1,46 [0,76; 2,26]	1,19 [0,66; 1,80]	1,99 [1,13; 2,26]*
Підвищена АЛТ до лікування	11 (78,6 %)	42 (71,2 %)	10 (100 %)
Підвищена АЛТ через 4 тижні ПВТ	7 (50,0 %)	25 (42,4 %)	4 (40,0 %)
Підвищена АЛТ на момент завершення ПВТ	7 (50,0 %)	19 (32,2 %)	1 (10,0 %)
Підвищена АЛТ через 12 тижнів після ПВТ	7 (50,0 %)	19 (32,2 %)	1 (10,0 %)
Підвищена АЛТ через 24 тижні після ПВТ	0 (0 %)	3 (5,1 %)	2 (20,0 %)

Примітка. \* - різниця достовірна, порівняно з хворими на ХГС, які відповіли формуванням СВВ 24 та мали генотипи СG/GG (p<0,05).

Проте у пацієнтів невідповідачів появою СВВ 24, які були носіями СG/GG-генотипів ОП гену ІЛ-6 (rs1800795), до початку ПВТ активність АЛТ в сироватці крові була вищою, порівняно з хворими зі сформованим СВВ 24

( $p < 0,05$ ), протягом терапії зменшувалася, але на момент оцінки СВВ 24 у кожного п'ятого хворого активність АЛТ в сироватці крові залишилася підвищеною (табл. 5.3).

Аналіз частоти розвитку небажаних ефектів ПВТ за схемою  $\text{peg-IFN}\alpha + \text{SOF} + \text{RBV}$  хворих на ХГС показав, що частота появи як клінічних проявів, так й гематологічних змін не залежали ( $p > 0,05$ ) від ОП гену ІЛ-6 (rs1800795). Найчастіше пацієнти відзначали короткочасний грипоподібний синдром на перше введення  $\text{peg-IFN}\alpha$  (67 – 80,7 %), який або не потребував медикаментозної корекції або був купований одноразовим прийомом парацетамолу. У частини пацієнтів виникав періодично свербіж шкіри в перші тижні лікування (7 – 8,4 %), який не потребував медикаментозної корекції та зникав самостійно. На тлі ПВТ у пацієнтів відзначалися як інтерферон-індуковані так й рибавірин-індуковані гематологічні небажані явища. У половини хворих розвинулася інтерферон-індукована лейкопенія (46 – 55,4 %), проте нейтропенія, яка потребувала медикаментозної корекції шляхом зниження дози  $\text{peg-IFN}\alpha$  та/або призначення стимулювання філграстимом, мала місце лише у кожного десятого пацієнта (7 – 10,4 %). Рибавірин-індукована анемія розвинулася менш ніж у половини пацієнтів на тлі ПВТ (46 – 55,4 %) та піддавалася корекції шляхом зниження дози RBV, за виключенням 2 (2,4 %) хворих, у яких додатково було застосовано стимулювання еритропоетином.

У подальшому ми вивчали динаміку вмісту ІЛ-6 у сироватці крові в залежності від ОП гену ІЛ-6 (rs1800795) на різних етапах проведення ПВТ та порівнювали із показниками здорових людей. Найвища концентрація ІЛ-6 у сироватці крові перед початком проведення ПВТ спостерігалась у хворих на ХГС носіїв CG/GG генотипу, які не відповіли на терапію формуванням СВВ 24, вміст ІЛ-6 в сироватці крові склав 1,30 [0,64; 1,58] пг/мл. Ця різниця була статистично достовірною ( $p < 0,001$ ) при порівнянні із пацієнтами носіями CG/GG генотипів та сформованим СВВ 24, у яких вміст цього цитокіну виявився в 4,5 рази нижче та склав 0,29 [0,19; 0,81] пг/мл (табл. 5.4).

Таблиця 5.4 – Динаміка кількісного вмісту ІЛ-6 в сироватці крові у хворих на ХГС в різні строки ПВТ залежно від ефективності лікування та ОП гену ІЛ-6 (rs1800795), Me [Q<sub>25</sub>; Q<sub>75</sub>], пг/мл.

Строки ПВТ	Здорові люди (n=20)	Хворі на ХГС (n=83)		
		відповіли формуванням СВВ 24 (n=73)		не відповіли СВВ 24 (n=10)
		генотип СС (n=14)	Генотипи CG/GG (n=59)	Генотипи CG/GG (n=10)
До ПВТ	0,08 [0,08; 0,14]	0,22 [0,10; 0,26]	0,29 [0,19; 0,81] <sup>1</sup>	1,30 [0,64; 1,58] <sup>1,3</sup>
На момент завершення ПВТ		0,13 [0,04; 0,40]	0,30 [0,2; 0,82] <sup>1,2,4</sup>	0,24 [0,15; 0,66]
Через 24 тижні після ПВТ		0,07 [0,04; 0,22]	0,18 [0,06; 0,22] <sup>4</sup>	0,30 [0,24; 0,45] <sup>1,3,4</sup>

Примітка. 1 - різниця достовірна, порівняно зі здоровими людьми (p<0,05); 2 - порівняно з хворими з генотипом СС (p<0,05) в відповідному періоді дослідження; 3 - порівняно з хворими з генотипом CG/GG (p<0,05), які відповіли на ПВТ в відповідному періоді дослідження; 4 – порівняно із показником до ПВТ у пацієнтів відповідної підгрупи (p<0,05).

На момент завершення ПВТ найвищий вміст ІЛ-6 в сироватці крові спостерігався у хворих з CG/GG генотипами, які не відповіли на лікування негатицією HCV-RNA в крові та склав 0,3 [0,2; 0,82] пг/мл, що було вище як при порівнянні зі здоровими людьми (p<0,001), так і з відповідним показником у носіїв СС-генотипу (p<0,05). У динаміці змін вмісту ІЛ-6 в сироватці крові також була виявлена статистична різниця у хворих з CG/GG

генотипами, які відповіли на лікування, при порівнянні з вмістом цього інтерлейкіну до початку ПВТ ( $p < 0,005$ ) (табл. 5.4).

Слід зазначити, що найнижчі концентрації ІЛ-6 у сироватці крові спостерігались у хворих з СС-генотипом та формуванням СВВ 24, у яких вміст ІЛ-6 в сироватці крові склав 0,22 [0,10; 0,26] пг/мл, що було достовірно нижче при порівнянні із носіями СG/GG генотипів як тих, що відповіли на ПВТ формуванням СВВ 24, так й тих, у яких ця відповідь не сформувалася ( $p < 0,001$ ). При цьому слід зазначити, що вміст ІЛ-6 в сироватці крові хворих на ХГС носіїв СС-генотипу статистично не відрізнявся від показника здорових людей ( $p > 0,05$ ) на всіх етапах дослідження (табл. 5.4).

Через 24 тижні після завершення ПВТ у хворих на ХГС, які відповіли формуванням СВВ 24, як серед носіїв СС-генотипу, так і носіїв СG/GG генотипів, не було виявлено статистичної різниці вмісту ІЛ-6 в сироватці крові при як порівнянні зі здоровими людьми, так і між собою ( $p > 0,05$ ). Це стало можливо через статистично значуще зниження концентрації цього цитокіну у носіїв СG/GG генотипів до 0,18 [0,06; 0,22] пг/мл ( $p < 0,005$ ). В той же час серед хворих на ХГС з СG/GG генотипами, які не відповіли на ПВТ, вміст ІЛ-6 у сироватці крові склав 0,3 [0,24; 0,45] пг/мл, що було достовірно вище як при порівнянні зі здоровими людьми ( $p < 0,05$ ), так і з носіями СG/GG генотипів, у яких сформувався СВВ 24 ( $p < 0,05$ ) (табл. 5.4).

Для визначення факторів, які вірогідно впливали на ефективність ПВТ за схемою  $\text{peg-IFN}\alpha + \text{SOF} + \text{RBV}$ , нами було здійснено рангову кореляцію Кендела. За результатами проведеного аналізу було виявлено, що низький рівень ІЛ-6 в сироватці крові пацієнтів із ХГС до початку лікування обумовлював високу вірогідність результативності ПВТ на момент завершення ( $\tau = -0,33$ ,  $p = 0,001$ ) та при оцінці СВВ 24 ( $\tau = -0,39$ ,  $p = 0,0002$ ), при відсутності впливу на формування ШВВ ( $\tau = 0,1$ ,  $p > 0,05$ ). Рівень підвищення вмісту ІЛ-6 в крові мав зв'язок із ОП гену ІЛ-6 (rs1800795) як до початку лікування ( $\tau = 0,24$ ,  $p < 0,05$ ), так й на момент завершення ПВТ ( $\tau = 0,25$ ,  $p = 0,01$ ). Варто відзначити, що такі фактори як стать хворого ( $\tau = 0,03$ ), генотип HCV

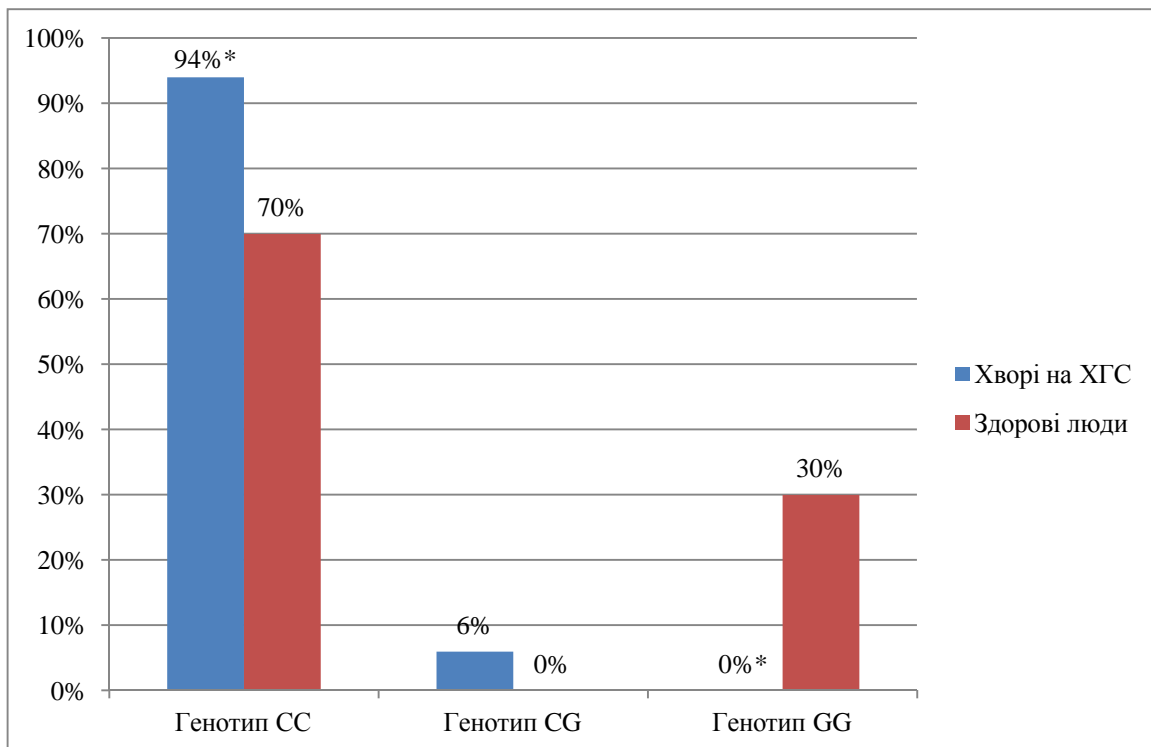
( $\tau=0,005$ ) та ступінь виразності фіброзу печінки за результатами неінвазивних тестів ( $\tau=0,15$ ), не мали прогностичного значення ( $p>0,05$ ) при проведенні ПВТ за схемою  $\text{peg-IFN}\alpha+\text{SOF}+\text{RBV}$ .

Таким чином при проведенні ПВТ хворим на ХГС за схемою  $\text{peg-IFN}\alpha+\text{RBV}+\text{SOF}$  ОП гену ІЛ-6 (rs 1800795) мав певне прогностичне значення, а саме у всіх хворих з генотипом СС сформувався СВВ 24 проти 85,5 % пацієнтів з генотипами CG/GG. У хворих на ХГС генотип СС асоціювався із коливанням вмісту ІЛ-6 в сироватці крові в межах референтних значень, що було прогностично сприятливим щодо формування СВВ 24. Генотипи CG/GG асоціювалися з найвищим рівнем ІЛ-6 в сироватці крові та неефективністю ПВТ. У хворих на ХГС з генотипами CG/GG, які відповіли на ПВТ формуванням СВВ 24, негативація HCV-RNA в крові відбувалася повільніше, ніж у пацієнтів з СС-генотипом. Ранговий кореляційний аналіз Кендела виявив, що ОП гену ІЛ-6 (rs 1800795) мав зв'язок із динамікою негативації HCV-RNA в крові. Відсутність вірусологічної відповіді на момент завершення ПВТ, а також відсутність формування СВВ 24 асоціювалися з наявністю CG/GG-генотипів ОП гену ІЛ-6 та вищим рівнем активності АЛТ в сироватці крові до початку ПВТ.

## **5.2 Ефективність противірусної терапії за схемою $\text{peg-IFN}\alpha+\text{RBV}+\text{SOF}$ хворих на хронічний гепатит С залежно від однонуклеотидного поліморфізму гену ІЛ-17 (rs 612242) та динаміка вмісту ІЛ-17 в сироватці крові залежно від результатів лікування**

В цьому підрозділі нами було проаналізовано ефективність 12-ти тижневого курсу противірусного лікування за схемою  $\text{peg-IFN}\alpha+\text{RBV}+\text{SOF}$  у 83 хворих на ХГС залежно від ОП гену ІЛ-17 (rs612242). Розподіл різних генотипів ОП гену ІЛ-17 (rs 612242) у хворих ХГС, які отримували ПВТ за схемою  $\text{peg-IFN}\alpha+\text{RBV}+\text{SOF}$ , відповідав виявленій закономірності розподілу цих генотипів в загальній когорті хворих на ХГС та у порівнянні зі

здоровими людьми. Так, частота реєстрації GG-генотипу у здорових людей виявилася вище, ніж у хворих на ХГС ( $\chi^2=26,44$ ,  $p<0,001$ ). У той же час, серед пацієнтів із ХГС превалював СС-генотип ( $\chi^2=9,71$ ,  $p<0,01$ ), а GG-генотип не реєструвався взагалі (рис. 5.4).



Примітка. \* - різниця достовірна, порівняно зі здоровими людьми ( $p<0,05$ ).

Рисунок 5.4 – Розподіл поліморфізму гену ІЛ-17 (rs 612242) у хворих ХГС та здорових людей.

У результаті розрахунків була обрана рецесивна модель успадкування, яка виявила, що СС-генотип ОП гену ІЛ-17 (rs 612242) мав високий шанс впливу на хронізацію гепатиту С (0,940 проти 0,700,  $\chi^2=9,71$ , OR=6,69, 95 % CI=1,79-24,93). Тому для подальшого аналізу впливу ОП гену ІЛ-17 (rs 612242) ми сформували 2 підгрупи хворих: 78 пацієнтів з СС-генотипом та 5 хворих з генотипами СG/GG (табл. 5.5).

Таблиця 5.5 – Рецесивна модель успадкування ОП гену ІІ-17 (rs612242) у хворих на ХГС у порівнянні зі здоровими людьми.

Алелі	Хворі	Здорові	$\chi^2$	р	OR (odd ratio)	
	ХГС	люди			Значення	95 % CI
	n=83	n=20				
Генотип СС	0,940	0,700	9,71	<0,005	6,69	1,79-24,93
Генотипи СG/GG	0,060	0,300			0,15	0,04-0,56

При порівнянні результатів основних лабораторних даних хворих на ХГС з різними генотипами ОП гену ІІ-17 (rs 612242) до початку ПВТ було виявлено, що за рівнем вірусного навантаження пацієнти досліджуваних підгруп вірогідно не відрізнялися. Так, показник вірусного навантаження склав  $6,0 \times 10^5$  [ $1,6 \times 10^5$ ;  $1,2 \times 10^6$ ] МО/мл у пацієнтів з СС-генотипом проти  $1,38 \times 10^6$  [ $5,0 \times 10^5$ ;  $2,67 \times 10^6$ ] МО/мл у хворих з СG/GG-генотипами ( $p > 0,05$ ). Крім того, частота виявлення високого рівня вірусного навантаження ( $> 400000$  МО/мл) та низького, відповідно  $< 400000$  МО/мл, також статистично не відрізнялася між досліджуваними групами хворих ( $p > 0,05$ ). Порівняння ступеня виразності некрозо-запальних змін в печінці хворих на ХГС залежно від ОП гену ІІ-17 (rs 612242) та ступеню фіброзу печінки за результатами неінвазивних тестів не встановило різниці за частотою виявлення у пацієнтів досліджуваних підгруп ( $p > 0,05$ ).

При аналізі результативності лікування у хворих на ХГС залежно від ОП гену ІІ-17 (rs 612242) було враховано частоту досягнення СВВ 24. Тому формування груп пацієнтів при аналізі результативності ПВТ було здійснено з урахуванням як формування СВВ 24, так й ОП гену ІІ-17 (rs 612242). З урахуванням цих факторів було встановлено, що всі пацієнти з ХГС та СG/GG-генотипами (5 із 5) відповіли на ПВТ за схемою рег-IFN $\alpha$ +RBV+SOF, проте серед пацієнтів з СС-генотипом відповіли на лікування формуванням СВВ 24 лише 87,2 % (68 із 78). Слід зазначити, що серед хворих, у яких не сформувався СВВ 24, були лише пацієнти з СС-генотипом. Крім того, навіть

й у хворих на ХГС з СС-генотипом, у яких сформувався СВВ 24, негативація HCV-RNA в крові відбувалася більш повільно, порівняно з пацієнтами з CG/GG-генотипами, у яких починаючи з 4-го тижня лікування було зафіксовано стійке зникнення вірусу (табл. 5.6).

Таблиця 5.6 – Динаміка вірусологічної відповіді на ПВТ за схемою  $\text{peg-IFN}\alpha + \text{SOF} + \text{RBV}$  у хворих на ХГС в різні строки лікування залежно від досягнення СВВ 24 та ОП гену ІЛ-17 (rs612242), абс. ( %).

Показник	Хворі на ХГС (n=83)		
	відповіли формуванням СВВ 24 (n=73)		не відповіли СВВ 24 (n=10)
	генотип СС (n=68)	генотипи CG/GG (n=5)	генотип СС (n=10)
Вірусне навантаження до лікування, Ме [Q <sub>25</sub> ; Q <sub>75</sub> ] МО/мл	6,0x10 <sup>5</sup> [1,6x10 <sup>5</sup> ; 1,38x10 <sup>6</sup> ]	1,38x10 <sup>6</sup> [5,0x10 <sup>5</sup> ; 2,67x10 <sup>6</sup> ]	6,45x10 <sup>5</sup> [4,38x10 <sup>5</sup> ; 9,4x10 <sup>5</sup> ]
ШВВ	65 (95,6 %)	5 (100 %)	8 (80 %)
На момент завершення ПВТ	68 (100 %)	5 (100 %)	2 (20 %)
СВВ 12	68 (100 %)	5 (100 %)	0 (0 %)
СВВ 24	68 (100 %)	5 (100 %)	0 (0 %)

При проведенні лікування за схемою  $\text{peg-IFN}\alpha + \text{SOF} + \text{RBV}$  відзначено зменшення виразності цитолітичного синдрому з нормалізацією активності АЛТ в сироватці крові у більшості хворих досліджуваних груп. Слід зазначити, що вже на етапі досягнення СВВ 12 у всіх пацієнтів носіїв CG/GG-генотипів ОП гену ІЛ-17 (rs612242) в цей термін спостереження відзначено нормалізацію активності АЛТ в сироватці крові, яка зберігалась до моменту оцінки СВВ 24. У більшості пацієнтів із ХГС з СВВ 24 та СС-генотипом після припинення ПВТ продовжувало відзначатися зниження активності АЛТ в сироватці крові з подальшою нормалізацією через 24 тижні спостереження



у 95,6 % (65 із 68). Однак у пацієнтів без формування СВВ 24, які були носіями СС-генотипу, до призначення ПВТ медіана активності ферменту АЛТ в сироватці крові була вищою, ніж у хворих зі сформованим СВВ 24 ( $p < 0,05$ ), протягом проведення ПВТ продовжувала знижуватися, але на момент оцінки СВВ 24 у кожного п'ятого пацієнта залишався цитолітичний синдром (табл. 5.7).

Таблиця 5.7 – Динаміка біохімічної відповіді на ПВТ за схемою рег-IFN $\alpha$ +SOF+RBV хворих на ХГС в різні строки лікування залежно від досягнення СВВ 24 та ОП гену ІЛ-17 (rs612242), абс. ( %).

Показник	Хворі на ХГС (n=83)		
	відповіли формуванням СВВ 24 (n=73)		не відповіли СВВ 24 (n=10)
	генотип СС (n=68)	генотипи CG/GG (n=5)	генотип СС (n=10)
АЛТ до лікування, Ме [Q <sub>25</sub> ; Q <sub>75</sub> ] ммоль/год.л	1,22 [0,66; 1,93]	1,33 [0,66; 1,72]	2,0 [1,13; 2,26] *
Підвищена АЛТ до лікування	50 (73,5 %)	3 (60 %)	10 (100 %)
Підвищена АЛТ через 4 тижні ПВТ	31 (45,6 %)	1 (20 %)	4 (40 %)
Підвищена АЛТ на момент завершення ПВТ	25 (36,8 %)	1 (20 %)	1 (10 %)
Підвищена АЛТ через 12 тижнів після ПВТ	9 (13,2 %)	0 (0 %)	1 (10 %)
Підвищена АЛТ через 24 тижні після ПВТ	3 (4,4 %)	0 (0 %)	2 (20 %)

Примітка. \* - різниця достовірна, порівняно з хворими на ХГС, які відповіли формуванням СВВ 24 та мали генотип СС ( $p < 0,05$ ).

У подальшому ми вивчали динаміку вмісту ІЛ-17 у сироватці крові в залежності від ОП гену ІЛ-17 (rs612242) на різних етапах проведення ПВТ. Перед початком лікування вміст ІЛ-17 у сироватці крові хворих досліджуваних груп статистично не відрізнявся ( $p > 0,05$ ). Проте слід зазначити, що в усіх підгрупах вміст ІЛ-17 був вищим ( $p < 0,001$ ), ніж у здорових людей, де цей показник склав 21,61 [11,92; 24,9] пг/мл (табл. 5.8).

На момент завершення ПВТ найнижчий кількісний вміст ІЛ-17 в сироватці крові був встановлений у пацієнтів зі сформованим СВВ 24, а саме у носіїв СС-генотипу – 19,75 [11,18; 41,7] пг/мл, та у носіїв СG/GG-генотипів – 17,89 [13,41; 28,32] пг/мл. На цьому етапі лікування у цих хворих вміст ІЛ-17 в сироватці крові статистично не відрізнявся від параметрів здорових людей ( $p > 0,05$ ), що було обумовлено вірогідним зменшенням вмісту цього цитокіну, порівняно із параметром по проведенню ПВТ, що склали 19,75 [11,18; 41,7] пг/мл та 17,89 [13,41; 28,32] пг/мл відповідно до генотипів ( $p < 0,05$ ). У той же час у хворих носіїв СС генотипу, які не відповіли формуванням СВВ 24, кількісний рівень ІЛ-17 в сироватці крові був найвищим та склав 60,42 [10,43; 68,75] пг/мл, однак вірогідної різниці між здоровими людьми та хворими носіями СС-генотипу, у яких сформувався СВВ 24, не було встановлено ( $p > 0,05$ ) (табл. 5.8).

Таблиця 5.8 – Динаміка кількісного вмісту ІЛ-17 в сироватці крові у хворих на ХГС в різні строки ПВТ залежно від ефективності лікування та ОП гену ІЛ-17 (rs612242), Me [Q<sub>25</sub>; Q<sub>75</sub>], пг/мл.

Строки ПВТ	Здорові люди (n=20)	Хворі на ХГС (n=83)		
		відповіли формуванням СВВ 24 (n=73)		не відповіли СВВ 24 (n=10)
		генотип СС (n=68)	генотипи CG/GG (n=5)	генотип СС (n=10)
До ПВТ		84,99[72,43; 92,59] <sup>1</sup>	91,71[87,03; 98,71] <sup>1</sup>	81,2[73,01; 91,71] <sup>1</sup>
На момент завершення ПВТ	21,61 [11,92; 24,90]	19,75[11,18; 41,70] <sup>3</sup>	17,89[13,41; 28,32] <sup>3</sup>	60,42[10,43; 68,75] <sup>3</sup>
Через 24 тижні після ПВТ		11,92[8,94; 19,38] <sup>3</sup>	11,92[11,18; 17,89] <sup>3</sup>	36,81[26,83; 43,78] <sup>1, 2, 3</sup>

Примітка. 1 - різниця достовірна, порівняно зі здоровими людьми (p<0,01); 2 - порівняно з хворими з генотипом СС (p<0,01), які відповіли на ПВТ в відповідному періоді дослідження; 3 – порівняно із показником до ПВТ у пацієнтів відповідної підгрупи (p<0,05).

Через 24 тижні після припинення лікування найвищий кількісний вміст ІЛ-17 в сироватці крові було встановлено у хворих із СС-генотипом за відсутності формування СВВ 24, у яких цей показник склав 36,81 [26,83; 43,78] пг/мл, що вірогідно відрізнялося порівняно як зі здоровими людьми (p<0,01), так і з хворими носіями СС-генотипу зі сформованим СВВ 24 (p<0,01). У цих пацієнтів вміст ІЛ-17 в сироватці крові вірогідно знизився, порівняно із відповідним параметром до ПВТ (p<0,05). У підгрупі хворих, які відповіли формуванням СВВ 24, вміст цього цитокіну не відрізнявся від відповідного показника здорових людей (p>0,05) (табл. 5.8).

Для виділення факторів, які можуть мати статистично значущий вплив на ефективність ПВТ за схемою  $\text{peg-IFN}\alpha\text{+SOF+RBV}$ , було здійснено рангову кореляцію Кендела. За результатами цього аналізу не встановлено зв'язку між вмістом ІЛ-17 у сироватці крові хворих на ХГС до ПВТ та успішністю досягнення СВВ 24 ( $\tau=0,04$ ,  $p=0,64$ ). Також не було зафіксовано впливу ОП гену ІЛ-17 ( $\text{rs612242}$ ) на ефективність зазначеної терапії ( $\tau=0,09$ ,  $p=0,21$ ) на кожному з етапів ПВТ. Не було встановлено достовірних кореляцій між рівнем ІЛ-17 у сироватці крові хворих та ОП гену ІЛ-17 ( $\text{rs612242}$ ) ( $\tau=0,14$ ,  $p=0,13$ ). Однак була виявлена зворотна кореляція між рівнем активності некрозо-запального процесу і ефективністю ПВТ як на момент завершення терапії ( $\tau=-0,20$ ,  $p=0,008$ ), так і на момент оцінки СВВ 24 ( $\tau=-0,21$ ,  $p=0,004$ ). Такі фактори як стать хворого ( $\tau=0,01$ ), генотип HCV ( $\tau=0,06$ ) та ступінь виразності фібротичних змін в печінці ( $\tau=0,002$ ), не мали прогностичного значення ( $p>0,05$ ) при лікуванні за схемою  $\text{peg-IFN}\alpha\text{+SOF+RBV}$ .

Таким чином, ОП гену ІЛ-17 ( $\text{rs 612242}$ ) впливав на результативність ПВТ за схемою  $\text{peg-IFN}\alpha\text{+RBV+SOF}$ . За наявності G-алелю (CG/GG-генотипи) у всіх пацієнтів сформувалася СВВ 24, тоді як серед хворих з CC-генотипом відповіли на лікування формуванням СВВ 24 тільки 87,2 %. Відсутність вірусологічної відповіді на ПВТ за схемою  $\text{peg-IFN}\alpha\text{+RBV+SOF}$  асоціювалася з CC-генотипом ОП гену ІЛ-17 ( $\text{rs 612242}$ ) та вищим рівнем некрозо-запальної активності в печінці за активністю АЛТ в сироватці крові, що підтверджувалося ранговою кореляцією між показником активності АЛТ в сироватці крові та ефективністю ПВТ. Проведення зазначеного лікування супроводжувалося нормалізацією рівня ІЛ-17 в сироватці крові у пацієнтів із ХГС при досягненні СВВ 24.

### 5.3 Ефективність ПВТ хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією за схемою peg-IFN $\alpha$ +RBV+SOF хворих залежно від однонуклеотидних поліморфізмів генів ІЛ-6 (rs 1800795) та динаміка імунологічних змін в сироватці крові залежно від результатів лікування

Нами було проаналізовано ефективність ПВТ хворих на ХГС залежно від наявності змішаної кріоглобулінемії. Перед початком проведення ПВТ не було виявлено достовірної різниці у вірусному навантаженні ( $p>0,05$ ) між групами хворих з наявністю змішаної кріоглобулінемії та пацієнтами без цієї ознаки (табл. 5.9).

Таблиця 5.9 – Динаміка вірусологічної відповіді на ПВТ за схемою peg-IFN $\alpha$ +SOF+RBV у хворих на ХГС залежно від наявності змішаної кріоглобулінемії, абс. ( %).

Показник, одиниці виміру	Хворі на ХГС (n=83)	
	зі змішаною кріоглобулінемією (n=48)	без змішаної кріоглобулінемії (n=35)
Вірусне навантаження до лікування, Me [Q <sub>25</sub> ; Q <sub>75</sub> ] МО/мл	6,0x10 <sup>5</sup> [1,42x10 <sup>5</sup> ; 1,14x10 <sup>6</sup> ]	6,0x10 <sup>5</sup> [2,27x10 <sup>5</sup> ; 1,4x10 <sup>6</sup> ]
ШВВ	44 (91,7 %)	34 (97,1 %)
На момент завершення ПВТ	42 (87,5 %)	33 (94,3 %)
СВВ 12	41 (85,4 %)	32 (91,4 %)
СВВ 24	41 (85,4 %)	32 (91,4 %)

Під час проведення ПВТ у хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією відзначено чітку динаміку зниження кількості пацієнтів, які відповіли на ПВТ на кожному етапі спостереження, порівняно із хворими без цієї позапечінкової ознаки. Ця закономірність прослідковувалась як з моменту реєстрації ШВВ, так і зберігалась на момент оцінки СВВ 24, хоча і не мала статистично достовірної різниці ( $p>0,05$ ). Найвища ефективність

ПВТ за схемою  $\text{peg-IFN}\alpha + \text{RBV} + \text{SOF}$  спостерігалась у хворих на ХГС без змішаної кріоглобулінемії, у яких частота досягнення СВВ 24 склала 91,4 % (32 із 35) проти 85,4 % (41 із 48) хворих зі змішаною кріоглобулінемією (табл. 5.9).

Аналіз динаміки нормалізації активності АЛТ в сироватці крові у хворих на ХГС залежно від наявності змішаної кріоглобулінемії показав, що до початку ПВТ медіана активності АЛТ в сироватці крові хворих досліджуваних груп не відрізнялася ( $p > 0,05$ ) (табл. 5.10).

Таблиця 5.10 – Динаміка біохімічної відповіді на ПВТ за схемою  $\text{peg-IFN}\alpha + \text{SOF} + \text{RBV}$  у хворих на ХГС залежно від наявності змішаної кріоглобулінемії, абс. (%).

Показник, одиниці виміру	Хворі на ХГС (n=83)	
	зі змішаною кріоглобулінемією (n=48)	без змішаної кріоглобулінемії (n=35)
АЛТ до лікування, Ме [Q <sub>25</sub> ; Q <sub>75</sub> ] ммоль/год.л	1,26 [0,73; 1,99]	1,31 [0,76; 2,0]
Підвищена АЛТ до лікування	36 (75 %)	27 (77,1 %)
Підвищена АЛТ через 4 тижні ПВТ	20 (41,7 %)	16 (45,7 %)
Підвищена АЛТ на момент завершення ПВТ	13 (27,1 %)	15 (42,9 %)
Підвищена АЛТ через 12 тижнів після ПВТ	5 (10,4 %)	10 (28,6 %) *
Підвищена АЛТ через 24 тижні після ПВТ	5 (10,4 %)	3 (8,6 %)

Примітка. \* - різниця достовірна при порівнянні з хворими зі змішаною кріоглобулінемією ( $p < 0,05$ ).

До початку ПВТ не було виявлено різниці у частоті підвищення АЛТ в сироватці крові при порівнянні хворих зі змішаною кріоглобулінемією та без цієї позапечінкової ознаки (75 % проти 77,1 % відповідно), через 4 тижні після початку лікування (41,7 % проти 45,7 % відповідно), а також на момент завершення терапії (27,1 % проти 42,9 % відповідно). Проте на момент реєстрації СВВ 12 нами було зареєстровано збільшення частоти виявлення хворих з підвищеною активністю АЛТ в сироватці крові серед пацієнтів без змішаної кріоглобулінемії, що було достовірно вище, ніж у хворих зі змішаною кріоглобулінемією (28,6 % проти 10,4 %,  $\chi^2=4,51$ ,  $p<0,05$ ). Слід зазначити, що ця різниця нівелювалася на етапі оцінки СВВ 24 (табл. 5.10).

В подальшій частині цього підрозділу нами було проведено аналіз впливу ОП гену ІЛ-6 (rs 1800795) на ефективність ПВТ саме у 48 хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією. За наявності СС-генотипу ОП гену ІЛ-6 (rs 1800795) у всіх хворих зі змішаною кріоглобулінемією (5 із 5) було зафіксовано негативацію RNA-HCV в крові на всіх етапах проведення ПВТ. У той же час, у хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією носіїв СС/GG-генотипів ефективність ПВТ знижувалась на кожному етапі. Так, серед цих пацієнтів зареєстровано ШВВ в 90,7 % випадків, проте частота негативації RNA-HCV в крові знизилась до 86,1 % на момент завершення ПВТ та до 83,7 % на момент оцінки СВВ 12 та залишилася на цьому рівні на момент оцінки СВВ 24. Слід зазначити, що виявлена різниця в частоті досягнення вірусологічної відповіді на всіх етапах її оцінки у хворих зі змішаною кріоглобулінемією залежно від ОП гену ІЛ-6 (rs 1800795) не мала статистичного підтвердження ( $p>0,05$ ), та носила характер чіткої тенденції (рис. 5.5).

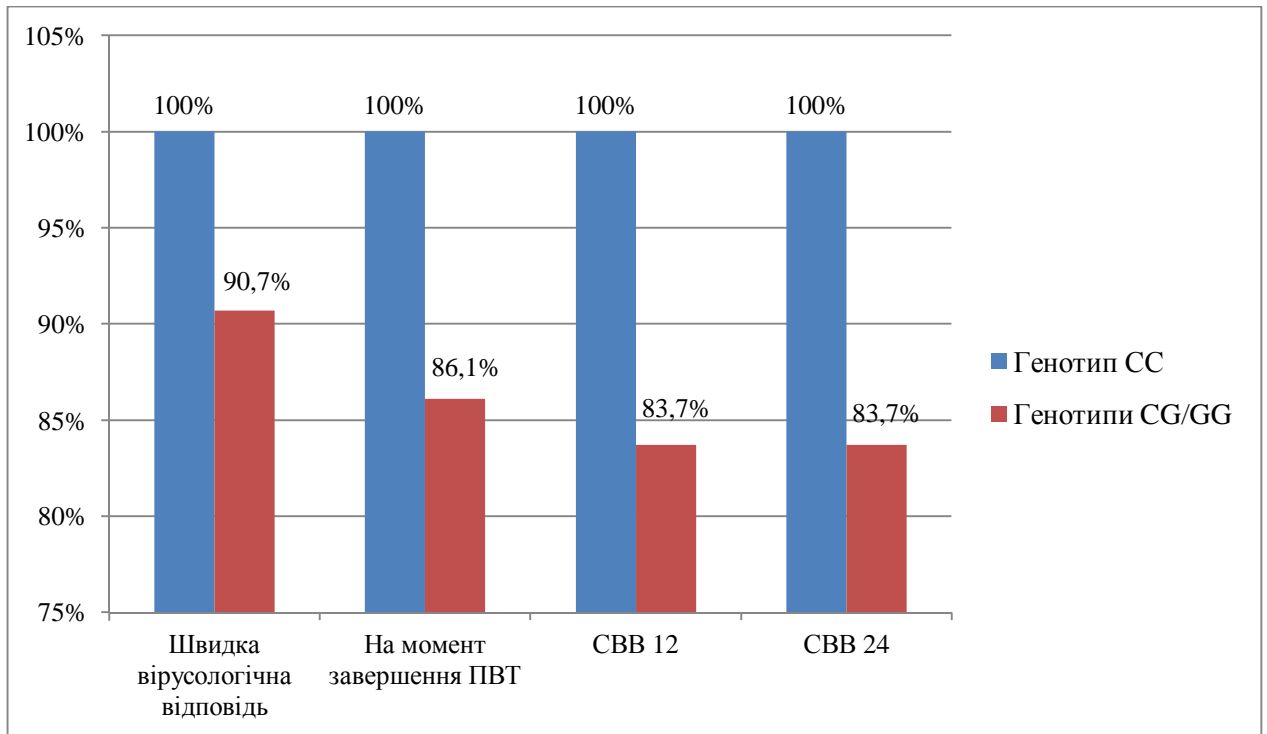


Рисунок 5.5 – Частота негативації RNA-HCV у хворих зі змішаною кріоглобулінемією залежно від ОП гену ІЛ-6 (rs 1800795) на різних етапах проведення ПВТ.

В результаті аналізу ОП гену ІЛ-17 (rs 612242) у хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією встановлено, що всі хворі (48 із 48) виявилися носіями СС-генотипу ОП, що не дозволило оцінити вплив ОП гену цього цитокіну на ефективність ПВТ.

В подальшій частині цього підрозділу ми проаналізували динаміку імунологічних параметрів у хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією при проведенні ПВТ залежно від досягнення СВВ 24. Так, вміст змішаних кріоглобулінів до початку ПВТ статистично не відрізнявся у хворих досліджуваних груп ( $p > 0,05$ ). Частота виявлення змішаних кріоглобулінів на тлі ПВТ у хворих, які відповіли на лікування СВВ 24, зменшилася на момент завершення лікування ( $\chi^2 = 58,08$ ,  $p < 0,0001$ ) та продовжувала знижуватися до отримання СВВ 24 ( $\chi^2 = 52,48$ ,  $p < 0,0001$ ), порівняно з цим показником до проведення ПВТ. На відміну від хворих з формуванням СВВ 24, у пацієнтів,



у яких ПВТ виявилася неефективною, цей параметр мав лише тенденцію ( $p > 0,05$ ) до зниження (табл. 5.11).

Таблиця 5.11 – Динаміка вмісту змішаних кріоглобулінів в сироватці крові хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією на різних етапах ПВТ за схемою  $\text{peg-IFN}\alpha + \text{SOF} + \text{RBV}$ , абс ( %).

Строки спостереження	Здорові люди (n=20)	Хворі на ХГС (n=48)	
		відповіли формуванням СВВ 24 (n=41)	не відповіли формуванням СВВ 24 (n=7)
Вміст змішаних кріоглобулінів до ПВТ, опт. од.		2,55 [2,35; 2,99]	2,49 [2,37; 3,26]
Наявні змішані кріоглобуліни до ПВТ		41 (100 %)	7 (100 %)
Наявні змішані кріоглобуліни на момент завершення ПВТ	< 2,2	9 (22,0 %) <sup>2</sup>	6 (85,7 %) <sup>1</sup>
Наявні змішані кріоглобуліни на момент оцінки СВВ 24		7 (17,1 %) <sup>2</sup>	6 (85,7 %) <sup>1</sup>

Примітка. 1 - різниця достовірна при порівнянні із хворими, що відповіли формуванням СВВ 24 ( $p < 0,001$ ); 2 – порівняно із частотою виявлення змішаних кріоглобулінів до початку ПВТ у хворих відповідної групи ( $p < 0,01$ ).

На момент завершення ПВТ було встановлено, що частота наявності змішаних кріоглобулінів була достовірно нижчою у групі хворих, у яких в подальшому сформувався СВВ 24, порівняно із хворими, які не відповіли на лікування формуванням СВВ 24 (22,0 % проти 85,7 % відповідно,  $\chi^2 = 11,32$ ,

$p < 0,001$ ). Ця різниця збільшилась на момент реєстрації СВВ 24 за рахунок збереження частоти наявних кріоглобулінів серед хворих, які не відповіли формуванням СВВ 24, та зменшення частки пацієнтів з наявною змішаною кріоглобулінемією серед пацієнтів, які відповіли формуванням СВВ 24 (85,7 % проти 17,1 %,  $\chi^2=14,27$ ,  $p < 0,001$ ) (табл. 5.11).

Аналіз динаміки вмісту ревматоїдного фактору в сироватці крові хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією в різні строки ПВТ залежно від досягнення СВВ 24 показав, що до початку проведення ПВТ не було виявлено статистично достовірної різниці у вмісті ревматоїдного фактору жодного класу (загальний, IgM, IgA). Проте їх кількісний вміст перевищував показники здорових людей ( $p < 0,05$ ) (табл. 5.12).

Таблиця 5.12 – Динаміка вмісту змішаних кріоглобулінів в сироватці крові хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією на різних етапах ПВТ за схемою  $\text{peg-IFN}\alpha + \text{SOF} + \text{RBV}$ .

Строки спостереження	Хворі на ХГС (n=48)	
	відповіли формуванням СВВ 24 (n=41)	не відповіли формуванням СВВ 24 (n=7)
Ревматоїдний фактор загальний, МО/мл		
1	2	3
До ПВТ	25,72 [20,33; 30,48]	33,13 [19,3; 70,84]
На момент завершення ПВТ	14,84 [11,08; 23,4] <sup>2</sup>	20,98 [17,53; 34,82] <sup>2</sup>
На момент оцінки СВВ 24	9,93 [3,71; 18,91] <sup>2</sup>	27,02 [19,3; 30,48] <sup>1,2</sup>

Продовження таблиці 5.12

1	2	3
Ревматоїдний фактор IgM, МО/мл		
До ПВТ	6,18 [2,75; 11,0]	11,3 [5,92; 17,49]
На момент завершення ПВТ	2,38 [1,49; 3,3] <sup>2</sup>	6,87 [3,21; 11,3]
На момент оцінки СВВ 24	1,57 [1,01; 2,03] <sup>2,3</sup>	11,47 [7,61; 14,13] <sup>1</sup>
Ревматоїдний фактор IgA, МО/мл		
До ПВТ	1,28 [1,06; 1,81]	1,23 [1,06; 2,45]
На момент завершення ПВТ	0,84 [0,38; 1,06] <sup>2</sup>	1,06 [0,72; 2,9]
На момент оцінки СВВ 24	0,38 [0,16; 0,72] <sup>2</sup>	1,46 [1,26; 2,32] <sup>1</sup>

Примітка. 1 – різниця достовірна порівняно із хворими, які відповідали формуванням СВВ 24 ( $p < 0,05$ ); 2 – порівняно з відповідним показником до початку ПВТ ( $p < 0,05$ ); 3 – порівняно з відповідним показником на момент завершення ПВТ ( $p < 0,01$ ).

В динаміці ПВТ вміст загального ревматоїдного фактору знижувався у хворих обох досліджуваних груп, що підтверджувалося статистично достовірною різницею при порівнянні із його рівнем до початку лікування ( $p < 0,05$ ). На момент оцінки СВВ 24 у хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією, які відповідали формуванням СВВ 24, цей показник виявився нижче ( $p < 0,05$ ), ніж у пацієнтів, які не відповідали формуванням СВВ 24 (табл. 5.12).

Аналогічна динаміка відзначена при аналізі вмісту ревматоїдного фактору IgM в сироватці крові при проведенні ПВТ. У хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією формування СВВ 24 супроводжувалося зменшенням вмісту ревматоїдного фактору IgM в сироватці крові з 6,18 [2,75; 11,0] МО/мл до початку ПВТ до 1,57 [1,01; 2,03] МО/мл на момент оцінки СВВ 24, що було статистично достовірно на кожному з етапів лікування ( $p < 0,05$ ). Проте у хворих, які не відповіли формуванням СВВ 24, динаміка змін вмісту ревматоїдного фактору IgM була іншою. На момент оцінки СВВ 24 вміст цього фактору статистично не відрізнявся від його вмісту як до початку ПВТ, так і на момент завершення лікування ( $p > 0,05$ ), та був достовірно вищим порівняно із хворими, у яких сформувався СВВ 24, на відповідному етапі спостереження (11,47 [7,61; 14,13] МО/мл проти 1,57 [1,01; 2,03] МО/мл відповідно,  $p < 0,01$ ) (табл. 5.12).

Аналіз динаміки вмісту ревматоїдного фактору IgA у хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією, які не відповіли формуванням СВВ 24 показав, що його вміст статистично не змінився на жодному етапі проведення ПВТ. У хворих, які відповіли формуванням СВВ 24, вміст ревматоїдного фактору IgA поступово знижувався. В динаміці зафіксовано статистично значуще зниження вмісту ревматоїдного фактору IgA при порівнянні цього показника до початку ПВТ із його рівнем на моменті завершення лікування (1,28 [1,06; 1,81] МО/мл проти 0,84 [0,38; 1,06] МО/мл,  $p < 0,05$ ) та на момент оцінки СВВ 24 ( $p < 0,01$ ). Слід зазначити, що ми отримали достовірну різницю вмісту ревматоїдного фактору IgA в залежності від формування СВВ 24 (1,46 [1,26; 2,32] МО/мл проти 0,38 [0,16; 0,72] МО/мл,  $p < 0,001$ ) (табл. 5.12).

Встановлені закономірності підтвердила виявлена сильна пряма кореляція між вмістом змішаних кріоглобулінів та ревматоїдним фактором IgM в сироватці крові до початку ПВТ у хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією, які відповіли формуванням СВВ 24 ( $r = 0,72$ ,  $p = 0,02$ ).

Аналіз динаміки вмісту ІЛ-6 в сироватці крові хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією в різні строки ПВТ залежно від досягнення

СВВ 24 показав, що у хворих з формуванням СВВ 24, статистично значуще зменшення вмісту ІЛ-6 було виявлено вже на момент завершення ПВТ ( $p < 0,01$ ), порівняно з показником до початку ПВТ, та зберігалось й момент оцінки СВВ 24 ( $p < 0,01$ ), що дало змогу зафіксувати найнижчий показник ІЛ-6 у хворих даної групи, а саме 0,16 [0,04; 0,22] пг/мл, який не відрізнявся від показника здорових осіб ( $p > 0,05$ ). Вміст ІЛ-6 в сироватці крові хворих, які не відповідали формуванням СВВ 24, мав тенденцію до зниження ( $p > 0,05$ ) на момент завершення ПВТ (0,24 [0,06; 0,24] пг/мл), проте в подальшому продовжував знижуватися та на момент оцінки СВВ 24 виявився статистично значуще нижче, порівняно з початком лікування ( $p < 0,05$ ), проте залишався вище, ніж у здорових осіб ( $p < 0,05$ ). (табл. 5.13).

Таблиця 5.13 – Динаміка вмісту ІЛ-6 та ІЛ-17 у сироватці крові хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією на різних етапах ПВТ за схемою рег-IFN $\alpha$ +SOF+RBV залежно від досягнення 24, Ме [Q<sub>25</sub>; Q<sub>75</sub>].

Строки спостереження	Здорові люди (n=20)	Хворі на ХГС (n=48)	
		відповіли формуванням СВВ 24 (n=41)	не відповіли формуванням СВВ 24 (n=7)
ІЛ-6, пг/мл			
1	2	3	4
До ПВТ	0,08 [0,08; 0,14]	0,55 [0,23; 0,98] <sup>1</sup>	1,0 [0,30; 1,58] <sup>1</sup>
На момент завершення ПВТ		0,46 [0,20; 0,88] <sup>1,3</sup>	0,24 [0,06; 0,24] <sup>1,3</sup>
На момент оцінки СВВ 24		0,16 [0,04; 0,22] <sup>3</sup>	0,24 [0,24; 0,30] <sup>1,2,3</sup>

Продовження таблиці 5.13

1	2	3	4
ІЛ-17, пг/мл			
До ПВТ		83,25 [72,43; 93,46] <sup>1</sup>	80,61 [73,01; 91,71] <sup>1</sup>
На момент завершення ПВТ	21,68	19,38 [10,43; 43,78] <sup>3</sup>	64,59 [19,38; 68,75] <sup>2,3</sup>
На момент оцінки СВВ 24	[11,92; 24,9]	12,67 [10,81; 17,89] <sup>3</sup>	38,22 [28,32; 43,78] <sup>1,2,3</sup>

Примітка. 1 – різниця достовірна порівняно зі здоровими людьми; 2 – порівняно з хворими, які відповідали формуванням СВВ 24 ( $p < 0,05$ ); 3 – порівняно із вмістом відповідного цитокіну до початку ПВТ ( $p < 0,05$ ).

Аналіз динаміки вмісту ІЛ-17 показав, що у хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією, у яких сформувався СВВ 24, вміст ІЛ-17 у сироватці крові достовірно зменшився з 83,25 [72,43; 93,46] пг/мл до початку терапії до 19,38 [10,43; 43,78] пг/мл ( $p < 0,001$ ) на момент завершення ПВТ та статистично не відрізнявся від показника здорових осіб ( $p > 0,05$ ). Виявлена закономірність у цих хворих зберігалась і на момент оцінки СВВ 24. У хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією, у яких не сформувався СВВ 24, зміни вмісту ІЛ-17 в сироватці крові відбувалися повільніше, тому відповідно на кожному з етапів спостереження зафіксовано вищий вміст ІЛ-17 в сироватці крові, порівняно з хворими, у яких було досягнуто СВВ 24 ( $p < 0,01$ ). За умов відсутності формування СВВ 24 вміст ІЛ-17 в сироватці крові хворих залишався вищим, ніж у здорових осіб ( $p < 0,05$ ) (табл. 5.13).

Таким чином, наявність змішаної кріоглобулінемії у хворих на ХГС призводила до зниження ефективності ПВТ за схемою  $\text{peg-IFN}\alpha + \text{SOF} + \text{RBV}$ . У хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією наявність CG/GG-генотипів ОП гену ІЛ-6 (rs 1800795) асоціювалася зі зниженням частоти досягнення СВВ 24 до 83,7 % проти всіх хворих з CC-генотипом. Динаміка

імунологічних параметрів на тлі ПВТ у хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією характеризувалася зниженням вмісту ІЛ-6 та ІЛ-17, ревматоїдного фактору ІgM, ІgG, ІgA та частоти виявлення змішаних кріоглобулінів в сироватці крові, проте виразність цих змін мала залежність від досягнення СВВ 24. За умов досягнення СВВ 24 вміст ІЛ-6 та ІЛ-17, ревматоїдного фактору ІgM, ІgA в сироватці крові виявилися нижче, а частота виявлення змішаних кріоглобулінів була нижчою, ніж у пацієнтів, які не відповіли на лікування СВВ 24.

#### **5.4 Моделювання зв'язку змін лабораторних параметрів з формуванням стійкої вірусологічної відповіді 24 після противірусної терапії за схемою рег-IFN $\alpha$ +RBV+SO $\Gamma$ у хворих на хронічний гепатит С на основі дискримінантного аналізу**

Для проведення дискримінантного аналізу були застосовані дані лабораторних досліджень 83 хворих на ХГС, з яких 73 пацієнти відповіли на лікування за схемою рег-IFN $\alpha$ +RBV+SO $\Gamma$  формуванням СВВ 24, а у 10 хворих терапія не була успішною (не досягли СВВ 24).

Для визначення найінформативніших лабораторних показників у пацієнтів з ХГС, що пов'язані з досягненням СВВ 24, було здійснено аналіз біохімічних параметрів функціонального стану печінки та імунологічних показників. Для підвищення достовірності статистичного аналізу були виключені лабораторні дані з низькою частотою виявлення змін (< 50 %) та низькою варіабельністю (<10 %).

В кінцевому підсумку при створенні математичної моделі зв'язку успішності завершення ПВТ у хворих на ХГС (дискримінантний аналіз) з певними змінами лабораторних показників нами було обрано 8 параметрів, із яких шляхом виключення даних з найменшим значенням достовірності (значення  $p$ ), нами було знайдено 5 з них, які достовірно асоціюються з успішністю завершення ПВТ, а саме кількісний вміст ІЛ-6 та ІЛ-17 у сироватці

крові, ревматоїдного фактору IgA та ревматоїдного фактору IgM в сироватці крові, рівень активності некрозо-запального процесу у печінці (табл. 5.14).

Таблиця 5.14 – Результати дискримінантного аналізу розрахунку зв'язку змін лабораторних показників з формуванням СВВ 24 після ПВТ за схемою рег-IFN $\alpha$ +RBV+SOF у хворих на ХГС

Найменування параметру	Параметр	Лямбда Уїлкса	F-критерій Фішера	P достовірність	Вихідні коефіцієнти канонічного аналізу
Вміст ІЛ-17	X1	0,45	12,19	0,005	0,095
Вміст ревматоїдного фактору IgA	X2	0,38	8,45	0,014	0,5531
Некрозо-запальна активність	X3	0,35	6,76	0,025	-0,8669
Вміст ІЛ-6	X4	0,59	19,29	0,001	-2,846
Вміст ревматоїдного фактору IgM	X5	0,4	9,23	0,011	-0,2615
Власне значення коефіцієнту	Y				3,6597

Примітка. Лямбда Уїлкса 0,22; F-критерій (5,11) – 8,05, p<0,002.

Структура дискримінантного аналізу, значення лямбди Уїлкса 0,22; F-критерію (5,11) – 8,05, при p<0,002, а також висока загальна якість розпізнавання (80,0 %) дають змогу стверджувати про коректність моделі, що запропонована (табл. 5.15).



Таблиця 5.15 – Матриця класифікації зв'язку формування СВВ 24 після ПВТ за схемою рег-IFN $\alpha$ +RBV+SOF зі змінами лабораторних параметрів у хворих на ХГС як результат застосування дискримінантного аналізу.

Параметр	Точність діагностики, %	Висока вірогідність формування СВВ 24	Низька вірогідність формування СВВ 24
Хворі з формуванням СВВ 24	69,9	51	22
Хворі без формування СВВ 24	90,0	1	9
Всього	80,0	52	31

Кінцевим результатом проведеного дискримінантного аналізу стало формування дискримінантної формули на основі коефіцієнтів, отриманих у ході цього аналізу. Для дискримінації хворих на ХГС, тобто віднесенню їх до групи, які досягнуть СВВ 24 чи не досягнуть цієї відповіді, використовується значення  $Y$  яке дорівнює 366 (для більш зручного розрахунку усі коефіцієнти помножені на 100):

$$Y = 9,5 * X_1 + 55,31 * X_2 - 86,7 * X_3 - 284,6 * X_4 - 26,2 * X_5 \quad (5.1)$$

В цій формулі такі перемінні:

$Y$  – власне значення коефіцієнту дискримінації, розрахований у канонічному аналізі.

$X_1$  – кількісний вміст ІЛ-17 в сироватці крові, в пг/мл.

$X_2$  – кількісний вміст ревматоїдного фактору ІgA в сироватці крові, в ІU/ml.

X3 – рівень активності некрозо-запального процесу у хворого до ПВТ, ступінь активності.

X4 – кількісний вміст ІЛ-6 в сироватці крові, в пг/мл.

X5 – кількісний вміст ревматоїдного фактору ІgM в сироватці крові, в ІU/ml.

У випадках, коли до початку ПВТ у хворого, згідно нашої формули, значення Y більше за 366 – хворі з високою вірогідністю досягнуть СВВ 24 (діагностична точність – 69,9 %), у разі якщо Y менше за 366 – досягнення СВВ 24 маловірогідне (діагностична точність – 90,0 %). Запропонована дискримінаційна формула розрахунку зв'язку успішності завершення протівірусної терапії за схемою  $\text{peg-IFN}\alpha + \text{RBV} + \text{SOF}$  у хворих на ХГС з використанням канонічного аналізу дає змогу прогнозувати (загальна точність методу – 80,0 %) ймовірність формування СВВ 24.

**Клінічне спостереження 1.** Хвора К., 1957 р. н. (амбулаторна карта), була спрямована до гепатологічного центру КУ “ОІКЛ” ЗОР у вересні 2016 року лікарем-терапевтом, у якого проходила планове обстеження з підприємства, на якому працює, з приводу виявлення антитіл до вірусу гепатиту С (anti-HCV сумарні) для уточнення діагнозу.

При огляді в гепатологічному центрі КУ “ОІКЛ” ЗОР хвора скаржилася на загальну слабкість, артралгії, наявність висипань на нижніх кінцівках, явища диспепсії у вигляді періодичної нудоти без блювоти та відчуття тяжкості у правому підребер'ї. Об'єктивно було відзначено збільшення розмірів печінки, що підтверджено результатами УЗД, виявлено дифузні зміни паренхіми печінки та спленомегалію. У печінкових пробах: загальний білірубін – 21,4 мкмоль/л, активність АЛТ в сироватці крові – 2,26 ммоль/год.л, тимолова проба – 3,5 од.; в гемограмі: еритроцити  $4,5 \times 10^{12}/\text{л}$ , гемоглобін 137 г/л, лейкоцити  $6,3 \times 10^9/\text{л}$ , тромбоцити  $174,0 \times 10^9/\text{л}$ . В крові

методом ПЛР виявлено HCV-RNA та ідентифіковано 1 генотип вірусу. Рівень фіброзу печінки – F2 за даними еластометрії.

Для оцінки перебігу ХГС, зокрема ймовірності успішного завершення ПБТ за схемою рег-IFN $\alpha$ +RBV+SOF, у даної хворої на ХГС було застосовано створену дискримінантну формулу. У таблиці 5.16 наведено лабораторні дані хворої, які необхідні для розрахунків.

Таблиця 5.16 – Лабораторні показники хворої К., 1957 р. н., які застосовані для розрахунку дискримінантної формули.

Найменування параметра	Параметр	Показник хворого
Вміст ІЛ-17	X1	80,61
Вміст ревматоїдного фактору IgA	X2	1,19
Рівень активності некрозо-запального процесу	X3	2
Вміст ІЛ-6	X4	1,3
Вміст ревматоїдного фактору IgM	X5	2,75

Розрахунок дискримінантної формули:

$$Y = 9,5 * 80,61 + 55,31 * 1,19 - 86,7 * 2 - 284,6 * 1,3 - 26,2 * 2,75 = 216,26 \quad (5.2)$$

За результатами розрахунків  $Y=216,26$  (менше 366), що свідчило про низьку ймовірність досягнення СВВ 24 при використанні схеми лікування рег-IFN $\alpha$ +RBV+SOF у даної хворої на ХГС.

Динамічне спостереження за хворою та контроль вірусного навантаження згідно протоколу дав наступні дані: на 4-му тижні лікування не було зареєстровано HCV-RNA в крові методом ПЛР, проте на момент завершення ПБТ було зафіксовано вірусологічний прорив з появою в крові HCV-RNA. При повторному ПЛР аналізі на 12 та 24 тижні після завершення

ПВТ у хворої зберігався позитивний результат виявлення HCV-RNA у крові, що підтверджувало відсутність ефекту від проведеного лікування.

**Клінічне спостереження 2.** Хворий В., 1979 р. н. (амбулаторна карта), був на диспансерному спостереженні у гепатологічному центрі з 1997 року. Причиною звернення було виявлення антитіл до вірусу гепатиту С на станції переливання крові.

При огляді в гепатологічному центрі КУ “ОІКЛ” ЗОР хворий скаржився на загальну слабкість, періодичні артралгії та відчуття тяжкості у правому підребер’ї. Об’єктивно було відзначено збільшення розмірів печінки, що підтверджено результатами УЗД. У печінкових пробах: загальний білірубін – 13,8 мкмоль/л, активність АЛТ в сироватці крові – 3,65 ммоль/год.л, тимолова проба – 2,2 од.; в гемограмі: еритроцити  $4,2 \times 10^{12}$ /л, гемоглобін 130 г/л, лейкоцити  $4,3 \times 10^9$ /л, тромбоцити  $147,0 \times 10^9$ /л. В крові методом ПЛР виявлено HCV-RNA та ідентифіковано 3 генотип вірусу. Рівень фіброзу печінки – F3 за даними еластометрії.

Для оцінки перебігу ХГС, зокрема ймовірності успішного завершення ПВТ за схемою  $\text{peg-IFN}\alpha + \text{RBV} + \text{SOF}$ , у даної хворої на ХГС було застосовано створену дискримінантну формулу. У таблиці 5.17 наведено лабораторні дані хворої, які необхідні для розрахунків.

Таблиця 5.17 – Лабораторні показники хворого В., 1979 р. н., які застосовані для розрахунку дискримінантної формули.

Найменування параметра	Параметр	Показник хворого
1	2	3
Концентрація ІЛ-17	X1	147,64
Концентрація ревматоїдного фактору IgA	X2	2,76
Рівень активності некрозо-запального процесу	X3	2

## Продовження таблиці 5.17

1	2	3
Концентрація ІЛ-6	X4	1,32
Концентрація ревматоїдного фактору ІgM	X5	21,62

Розрахунок дискримінантної формули:

$$Y = 9,5 * 147,64 + 55,31 * 2,76 - 86,7 * 2 - 284,6 * 1,32 - 26,2 * 21,62 = 439,72 \quad (5.3)$$

За результатами розрахунків  $Y=439,72$  (більше 366), що свідчило про високу ймовірність досягнення СВВ 24 при використанні схеми лікування  $\text{peg-IFN}\alpha + \text{RBV} + \text{SOF}$  у даного хворого на ХГС.

Динамічне спостереження за хворим та контроль вірусного навантаження згідно протоколу виявило, що негативізація HCV-RNA була зафіксована вже на 4-му тижні терапії та зберігалось до кінця 12-го тижня лікування. При контрольному обстеженні на 12 та 24 тижні після завершення ПВТ не було виявлено HCV-RNA у крові хворого.

Таким чином, створена математична модель прогнозування успішності завершення ПВТ у хворих на ХГС на основі дискримінантного аналізу дає змогу прогнозувати ймовірність формування СВВ 24 (загальна точність методу – 80,0 %) при проведенні ПВТ за схемою  $\text{peg-IFN}\alpha + \text{RBV} + \text{SOF}$  у хворих на ХГС.

### Резюме

При лікуванні хворих на ХГС за схемою  $\text{peg-IFN}\alpha + \text{RBV} + \text{SOF}$  ОП гену ІЛ-6 (rs 1800795) має певне прогностичне значення щодо формування СВВ 24. Так, всі хворі на ХГС з генотипом CC (14 – 100 %) відповіли на ПВТ за цією схемою, а серед пацієнтів з генотипами CG/GG відповіли на лікування лише 85,5 % (59 із 69). У хворих на ХГС генотип CC асоціювався із коливанням кількісного вмісту ІЛ-6 в сироватці крові в межах референтних

значень ( $p > 0,05$ ) та виявився прогностично сприятливим щодо формування СВВ 24. Генотипи CG/GG асоціювалися з найвищим рівнем ІЛ-6 в сироватці крові та неефективністю ПВТ. У пацієнтів із ХГС носіїв CG/GG-генотипів, у яких сформувався СВВ 24 після проведення ПВТ, негати́вація HCV-RNA в крові відбувалася повільніше, порівняно з хворими носіями CC-генотипу, у яких з 4-го тижня терапії було зафіксовано зникнення HCV. При формуванні СВВ 24 у всіх хворих носіїв CC-генотипу в цей термін спостереження було зафіксовано нормалізацію активності АЛТ. У більшості пацієнтів із ХГС з СВВ 24 та носійством CG/GG-генотипів після завершення ПВТ активність АЛТ в сироватці крові продовжувала зменшуватися та нормалізувалася через 24 тижнів у 94,9 % (56 із 59). Однак у пацієнтів без формування СВВ 24, які були носіями CG/GG-генотипів, на момент оцінки СВВ 24 у кожного п'ятого пацієнта зберігалася підвищеною активність АЛТ в сироватці крові. Ранговий кореляційний аналіз Кендела підтвердив, що ОП гену ІЛ-6 впливав на негати́вацію HCV-RNA в крові як на момент припинення ПВТ ( $p = 0,04$ ), так й формування СВВ 24 ( $p = 0,03$ ). Відсутність вірусологічної відповіді на момент завершення ПВТ, а також відсутність у хворих на ХГС формування СВВ 24 асоціювалися з носійством CG/GG-генотипів ОП гену ІЛ-6 та вищою активністю АЛТ в сироватці крові до проведення ПВТ ( $\tau = -0,18$ ,  $p < 0,01$ ).

ОП гену ІЛ-17 (rs 612242) впливав на результативність ПВТ за схемою  $\text{peg-IFN}\alpha + \text{RBV} + \text{SOF}$ . За наявності CG/GG-генотипів у всіх пацієнтів сформувався СВВ 24, тоді як серед хворих носіїв CC-генотипу відповіли на ПВТ формуванням СВВ 24 тільки 87,2 %. Відсутність вірусологічної відповіді на проведене лікування за схемою  $\text{peg-IFN}\alpha + \text{RBV} + \text{SOF}$  асоціювалося носійством CC-генотипу ОП гену ІЛ-17 (rs 612242) та вищим показником активності АЛТ в сироватці крові, що підтверджувалося ранговою кореляцією між показником активності некрозо-запального процесу і ефективністю лікування як на момент припинення ПВТ ( $\tau = -0,20$ ,  $p = 0,008$ ), так і на момент оцінки формування СВВ 24 ( $\tau = -0,21$ ,  $p = 0,004$ ). ПВТ супроводжувалася зменшенням кількісного вмісту ІЛ-17 в сироватці крові

( $p < 0,05$ ) у хворих на ХГС із подальшою нормалізацією при досягненні СВВ 24. За наявності носійства СС-генотипу та відсутності формування СВВ 24 кількісний вміст ІЛ-17 в сироватці крові залишався вище, порівняно зі здоровими особами ( $p < 0,05$ ).

Наявність змішаної кріоглобулінемії у хворих на ХГС призводить до зниження ефективності ПВТ за схемою  $\text{peg-IFN}\alpha + \text{SOF} + \text{RBV}$  із формуванням СВВ 24 у 85,4 % проти 91,4 % пацієнтів без цієї позапечінкової ознаки. У хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією наявність СС/СС-генотипів ОП гену ІЛ-6 (rs 1800795) мали негативний вплив на ефективність ПВТ, знижуючи частоту досягнення СВВ 24 до 83,7 % проти 100 % хворих з СС-генотипом.

Динаміка імунологічних параметрів у хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією характеризувалася зниженням вмісту ревматоїдного фактору ІgM, ІgA ( $p < 0,05$ ) та частоти виявлення змішаних кріоглобулінів в сироватці крові ( $p < 0,05$ ), проте виразність цих змін залежала від досягнення СВВ 24 після ПВТ за схемою  $\text{peg-IFN}\alpha + \text{SOF} + \text{RBV}$ . За умов досягнення СВВ 24 вміст ревматоїдного фактору ІgM, ІgA ( $p < 0,05$ ) в сироватці крові виявилися нижче, ніж у пацієнтів, які не відповіли на лікування СВВ 24. У пацієнтів, які відповіли на лікування СВВ 24 в цей термін спостереження змішані кріоглобуліни виявлялися в сироватці крові значно рідше, ніж у пацієнтів без формування СВВ 24 (17,1 % 85,7 % проти,  $\chi^2 = 14,27$ ,  $p < 0,001$ ). Встановлені закономірності підтверджує виявлена сильна позитивна кореляція між вмістом змішаних кріоглобулінів та ревматоїдним фактором ІgM в сироватці крові до початку ПВТ у хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією, які відповіли формуванням СВВ 24 ( $r = 0,72$ ,  $p = 0,02$ ).

Аналіз змін вмісту ІЛ-6 та ІЛ-17 в сироватці крові хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією при проведенні ПВТ показав залежність динаміки їх вмісту від досягнення СВВ 24. На тлі ПВТ вміст ІЛ-6 та ІЛ-17 в сироватці крові знижувалися, порівняно з відповідними показниками до початку лікування ( $p < 0,05$ ). Проте через 24 тижні після завершення ПВТ

нормалізація вмісту ІЛ-6 та ІЛ-17 в сироватці крові відбулася лише у пацієнтів, які досягли формування СВВ 24.

Створено модель прогнозування успішності завершення ПВТ у хворих на ХГС (дискримінантний аналіз). При створенні моделі визначено п'ять найбільш інформативних лабораторних показників, які достовірно асоціюються з успішністю завершення ПВТ, а саме кількісний вміст ІЛ-6 та ІЛ-17 у сироватці крові, ревматоїдного фактору ІgА та ревматоїдного фактору ІgМ, рівень активності некрозо-запального процесу у печінці. Запропонована дискримінаційна формула розрахунку зв'язку успішності завершення противірусної терапії за схемою рег-IFN $\alpha$ +RBV+SOF у хворих на ХГС дає змогу прогнозувати ймовірність формування СВВ 24 (загальна точність методу – 80,0 %).

Матеріали даного розділу висвітлені в наукових працях та доповідях [223, 225, 229, 231-232, 235-236, 240-241].



## РОЗДІЛ 6

### АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Згідно останнім опублікованим даним, у світі налічується 71 мільйон хворих на ХГС, а саме 1 % населення планети. За офіційними даними в Україні цей показник значно вищий за світові та складає 5 % [25]. В дослідженнях, які присвячені імунопатогенезу ХГС, було доведено, що HCV реплікується не лише у гепатоцитах, а й в В-лімфоцитах та порушує їх функцію через зниження порогу активації та значного подовження його життя, що в подальшому призводить до продукції таким лімфоцитом змішаних кріоглобулінів та автоантитіл [32 - 33]. Чисельні дослідження імунопатогенетичних механізмів формування змішаної кріоглобулінемії показали, що головною причиною є HCV [36 - 38]. Проте змішані кріоглобуліни та автоантитіла можуть бути виявленими й при інших захворюваннях із автоімунною, ревматичною та алергічною складовими. В імунопатогенезі цих станів на особливу увагу заслуговують такі прозапальні інтерлейкіни як ІЛ-6 та ІЛ-17 через їх участь у процесі імунного запалення. На теперішній час роль ІЛ-6 та ІЛ-17, зокрема й у взаємозв'язку з ОП генів, що їх кодують, в імунопатогенезі ХГС вивчені недостатньо. Самим дослідженим цитокином є ІЛ-28В. Певний проміжок часу його ОП використовували для прогнозування ефективності ПВТ за схемою рег-IFN $\alpha$ +RBV [177, 181], проте поява препаратів із прямою противірусною дією нівелювала значущість цього предиктору та обумовила потребу у пошуку нових [19].

В наше дослідження було включено 149 хворих на ХГС, які знаходились на диспансерному спостереженні в гепатоцентрі КУ «ОІКЛ» ЗОР. Всі хворі на ХГС були обстежені згідно Наказу МОЗ України від 18.07.2016 № 729 «Про затвердження та впровадження медико-технологічних документів зі стандартизації медичної допомоги при вірусному гепатиті С» [24]. Усім хворим діагноз ХГС був підтверджений виявленням в крові anti-HCV за допомогою ІФА та HCV-RNA методом ПЛР, був визначений генотип

НСV та його кількісний вміст у сироватці крові пацієнтів. Всім хворим було проведено тестування на наявність антитіл до вірусу імунодефіциту людини та наявність коінфекції з іншими гепатотропними вірусами. В усіх хворих, включених в наше дослідження, результат цих тестів був негативний. Загальноприйняті лабораторні обстеження були проведені на базі клініко-діагностичної та серологічної лабораторій КУ «ОІКЛ» ЗОР (головний лікар – Шинкаренко В.Л.).

Всім хворим було проведено визначення ОП генів ІЛ-6 (rs 1800795) та ІЛ-17 (rs 612242) методом ПЛР; вмісту ІЛ-6 та ІЛ-17, ревматоїдного фактору (загального, IgA, IgM) у сироватці крові методом ІФА; вмісту змішаних кріоглобулінів у сироватці крові спектрофотометричним методом. Всі спеціальні дослідження виконані на базі Навчально-лабораторного центру Запорізького державного медичного університету (завідувач – професор Абрамов А.В.). Контрольну групу склали 45 здорових людей.

За результатами молекулярно-генетичних досліджень ОП гену ІЛ-6 (rs 1800795) 149 хворих на ХГС було визначено, що серед пацієнтів у 1,7 рази частіше зустрічався алель G (генотипи CG/GG) при порівнянні зі здоровими людьми ( $\chi^2=21,88$ ,  $p<0,001$ ). Генотип CC відповідно статистично частіше реєструвався серед здорових людей, порівняно із хворими на ХГС (у 3 рази,  $\chi^2=21,88$ ,  $p<0,001$ ), що вказує на ймовірну роль ОП гену ІЛ-6 (rs 1800795) у хронізації НCV-інфекції. Отримані нами дані щодо частоти реєстрації різних генотипів певною мірою співпадають із даними дослідження інших авторів [105], які визначали роль трьох різних локусів ОП цього інтерлейкіну. А саме дослідники [105] при аналізі домінантної моделі успадкування ОП гену ІЛ-6 (rs 1800795) відзначили, як і в нашому дослідженні, вплив генотипів GG/CG на хронізацію НCV-інфекції при порівнянні із носіями CC-генотипу. При вивченні авторами [105] ОП гену ІЛ-6 у інших локусах, а саме rs1800796 та rs1800797, де була оцінена рецесивна модель успадкування, було виявлено, що носії GG-генотипу також мали більші шанси на формування ХГС при порівнянні із носіями C-алелю. Проте інші дослідники [168] зазначили

носіїство СС-генотипу ОП гену ІЛ-6 (rs1800795) лише серед хворих на ХГС. В сучасній літературі є також дослідження, які доводять й ймовірну роль ОП генів параметрів вродженого імунітету в хронізації HCV-інфекції, а саме авторами [204] продемонстровано, що ризик розвитку ХГС при наявності в геномі поліморфізму Asp299Gly гену TLR4 підвищується в 5,2 рази, а при алелі 299Gly – у 4,9 разу.

Отримані нами дані показали, що ОП гену ІЛ-6 (rs 1800795) не мав впливу на ступінь виразності вірусного навантаження за результатами порівняння медіани та частоти виявлення високого та низького кількісного вмісту HCV-RNA в крові. При цьому ОП гену ІЛ-6 (rs 1800795) мав певний вплив на ступінь виразності морфологічних змін в печінці за результатами неінвазивних тестів. Так, нами встановлено у 2,2 рази вищу частоту реєстрації А2 ступеню виразності некрозо-запальних змін у печінці у хворих на ХГС із СС-генотипом, ніж у носіїв G-алелю ( $\chi^2=5,24$ ,  $p<0,05$ ). Однак частота реєстрації різних ступенів фіброзу печінки статистично не відрізнялася між носіями СС-генотипу та СG/GG-генотипів ( $p>0,05$ ). Дані сучасної літератури також свідчать на користь наявності певного взаємозв'язку ОП гену ІЛ-6 із морфологічними змінами в печінці хворих на ХГС. Так, в дослідженні [169], продемонстровано взаємозв'язок ОП гену ІЛ-6 в локусах rs1800795 та rs1800796 із ступенем виразності фіброзу печінки пацієнтів із ХГС, а саме автори спостерігали залежність прогресування ступеню виразності фібротичних змін у печінці. Було виявлено, що носійство серед хворих на ХГС G-алелю ОП ІЛ-6 у локусі rs1800795 (OR=5,07, 95 % CI=0,96-26,8,  $p<0,05$ ) та С-алелю у локусі rs1800796 (OR=4,60, 95 % CI=1,42-14,18,  $p<0,05$ ) мало високі шанси на пришвидшення розвитку морфологічних змін у печінці. При вивченні ступеню активності некрозо-запальних змін дослідники виявили достовірну різницю серед носіїв G-алелю ОП гену ІЛ-6 (rs1800795) у порівнянні із С-алелем ( $p<0,05$ ), проте для локусу rs1800796 статистично значущих змін отримано не було [169].

У хворих на ХГС клінічні прояви захворювання були представлені певною печінковою симптоматикою, насамперед тяжкістю у правому підребер'ї (64,0 % проти 44,4 % відповідно у носіїв СС-генотипу та СG/GG-генотипів), диспепсією у вигляді нудоти (12,0 % проти 25,0 % відповідно), збільшенням розмірів печінки (20,0 % проти 16,1 % відповідно) та селезінки (24,0 % проти 17,7 % відповідно). Біохімічні ознаки гепатиту найчастіше були представлені цитолітичним синдромом з підвищенням активності АЛТ (76,0 % проти 76,6 % відповідно), внутрішньо печінковим холестазом з підвищенням активності ЛФ (20,0 % проти 14,5 % відповідно) та  $\gamma$ -глутамілтрансферази (20,0 % проти 21,8 % відповідно), мезенхімально-запальною реакцією з підвищенням показника тимолової проби (44,0 % проти 46,0 % відповідно). В гемограмі хворих на ХГС лейкопенія зі зниженням кількості лейкоцитів крові  $<4,0 \times 10^9/\text{л}$  відзначалася у кожного третього хворого з генотипом СС (36,0 %) проти кожного четвертого пацієнта (25,0 %) з генотипами СG/GG. Нами не було встановлено статистично значущої різниці ( $p > 0,05$ ) в частоті виявлення зазначених вище проявів ХГС у пацієнтів носіїв СС-генотипу та СG/GG-генотипів ОП гену ІЛ-6 (rs 1800795). У доступній нам літературі ми не знайшли даних про вплив ОП саме ІЛ-6 на вищезазначені біохімічні параметри крові. Проте в сучасній літературі представлена певна кількість досліджень ОП інших цитокінів, результати яких підтверджують отримані в нашому дослідженні результати. Так, дослідження ОП гену IFNL3 у локусі rs4803217 не виявило впливу на виразність змін АЛТ, АСТ, загального білірубину, ступінь некрозо-запальних та фібротичних змін у печінці хворих на ХГС [205]. Аналіз ОП фактору FOXP3 у локусі rs3761548 показав, що носійство А-алелю у гомо- та гетерозиготному варіанті сприяє лише достовірно вищим значенням  $\gamma$ -глутамілтрансферази при порівнянні із носіями СС-генотипу [206].

Проведений нами кореляційний аналіз за методом Кендала Тау продемонстрував наявність взаємозв'язків між показниками виразності морфологічних змін в печінці та біохімічними параметрами функціонального

стану печінки й змінами в гемограмі хворих на ХГС. Встановлені прямі кореляції між стадіями фіброзу печінки у хворих на ХГС та рівнем загального білірубину ( $p=0,008$ ), активністю АЛТ ( $p=0,001$ ) і зворотні із кількісним вмістом тромбоцитів ( $p=0,001$ ) та лейкоцитів ( $p=0,01$ ). Також були виявлені прямі кореляції між ступенем виразності некрозо-запальної активності у печінці та рівнем загального білірубину ( $p=0,001$ ), активністю АЛТ ( $p=0,0001$ ), активністю АСТ ( $p=0,0001$ ), кількісним вмістом гемоглобіну ( $p<0,05$ ) і зворотні із кількісним вмістом тромбоцитів ( $p=0,01$ ).

При оцінці впливу ОП гену ІІ-6 (rs 1800795) на процес формування змішаної кріоглобулінемії в загальній когорті хворих на ХГС було виявлено, що серед носіїв CG/GG-генотипів цей позапечінковий прояв зустрічався майже у 2 рази частіше при порівнянні із носіями CC-генотипу (67,7 % проти 36,0 % відповідно,  $\chi^2=8,93$ ,  $p<0,01$ ). Ця закономірність зберігалася й при оцінці ризику клінічної маніфестації кріоглобулінемічного синдрому, а саме вираженої загальної слабкості ( $\chi^2=16,83$ ,  $p<0,001$ ) та артралгії ( $\chi^2=18,93$ ,  $p<0,001$ ). Слід зазначити, що геморагічний васкуліт з формуванням тріади Мельтцера спостерігалися виключно серед хворих на ХГС із CG/GG-генотипами. Проте слід зазначити, що ОП гену ІІ-6 (rs 1800795) не мав статистично значущого впливу ( $p>0,05$ ) на частоту розвитку інших позапечінкових проявів, зокрема цукрового діабету 2-го типу та ураження щитоподібної залози, які не є складовими кріоглобулінемічного синдрому.

В подальшому нами проведено аналіз впливу ОП гену ІІ-6 (rs 1800795) на ризик маніфестації клінічних проявів кріоглобулінемічного синдрому у 93 хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією. За наявності G-алелю, а саме у носіїв CG/GG-генотипів було визначений більш високий вміст змішаних кріоглобулінів у сироватці крові ( $p=0,03$ ), вища частота реєстрації вираженої загальної слабкості (71,4 % проти 22,2 %,  $\chi^2=8,86$ ,  $p=0,003$ ) та артралгії (63,1 % проти 22,2 %,  $\chi^2=5,62$ ,  $p=0,02$ ). В доступній літературі ми не знайшли наукових досліджень щодо ролі ОП гену саме ІІ-6 в розвитку HCV-асоційованої змішаної кріоглобулінемії, однак ми знайшли

роботи, що доводять роль ОП гену ІЛ-28В в розвитку цього позапечінкового прояву. У дослідженні [207] було ретроспективно обстежено більш ніж 500 хворих на ХГС та визначені поліморфізми гену ІЛ-28В у локусах rs12979860 та rs8099917. Серед хворих зі змішаною кріоглобулінемією дослідники достовірно частіше виявляли СС та ТТ-генотипи відповідно ( $p < 0,001$ ). Проводились також дослідження ОП комплексів HLA-II (rs9461776) та NOTCH4 (rs2071286) де було визначено, що носійство GG та СТ-генотипів відповідно відігравали роль у появі змішаних кріоглобулінів у сироватці крові хворих на ХГС [70 - 71].

Аналіз результатів молекулярно-генетичних даних ОП гену ІЛ-17 (rs 612242) показав, що наявність С-алелю у HCV-інфікованих має більші шанси впливу на хронізацію захворювання ( $OR=4,94$ , 95 %  $CI=2,01-12,15$ ). В той же час G-алель достовірно частіше спостерігається серед здорових людей, ніж серед пацієнтів із ХГС (13,3 % проти відсутності,  $\chi^2=20,5$ ,  $p < 0,001$ ). В сучасній літературі нам вдалося знайти лише одне дослідження [208], в якому також здійснено спробу з'ясувати вплив ОП гену ІЛ-17 в локусі rs763780 на ризик хронізації HCV-інфекції. За результатами цього дослідження автори визначили високу частоту СС-генотипу як у здорових осіб, так й у хворих на ХГС, що в кінцевому підсумку не мало статистично значущої різниці [208].

За результатами нашого дослідження ОП гену ІЛ-17 (rs 612242) виявився неінформативним при оцінці ризику формування як печінкових, так і позапечінкових проявів ХГС. Зокрема нами встановлено лише тенденцію до збільшення частоти виявлення змішаної кріоглобулінемії у пацієнтів із ХГС носіїв СС-генотипу при порівнянні із носійством СG/GG-генотипів (64,3 % та 30,0 % відповідно,  $\chi^2=3,45$ ,  $p=0,06$ ). Клінічна маніфестація основних проявів кріоглобулінемічного синдрому (виражена загальна слабкість, артралгії, геморагічний васкуліт, триада Мельтцера) також не залежала ( $p > 0,05$ ) від ОП гену ІЛ-17 (rs 612242). Проте слід зазначити, що кріоглобулінемічний васкуліт та формування триади Мельтцера була зареєстрована виключно у

хворих на ХГС носіїв СС-генотипу. Нами була проведена спроба аналізу ролі ОП гену ІЛ-17 (rs 612242) у хворих зі змішаними кріоглобулінами, проте розділення хворих згідно їх генотипів зробило неможливим подальші статистичні розрахунки.

Дані сучасної літератури демонструють взаємозв'язок генетичних факторів із певними особливостями перебігу ХГС. Так, було доведено вплив HLA-B51 та HLA-B35 на частоту розвитку автоімунних порушень у хворих на ХГС [209]. Зокрема було виявлено високу експресію цих генів у хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією (31,2 %) як при порівнянні зі здоровими людьми (6,9 %), так і з хворими без змішаної кріоглобулінемії (11,0 %) [209]. В дослідженні [210] було проаналізовано частоту виявлення змішаної кріоглобулінемії у хворих на ХГС та продемонстрована асоціація гаплотипу HLA-B8-DR3 із більшою частотою їх виявлення у хворих на ХГС.

Аналіз вмісту ІЛ-6 та ІЛ-17 у сироватці крові у хворих на ХГС показав, що він був достовірно вищим при порівнянні зі здоровими людьми ( $p < 0,001$ ). Отримані в ході нашого дослідження дані співпадають з результатами, отриманими іншими дослідниками, як щодо ІЛ-6 [160], так і більшістю даних щодо ІЛ-17 [154 - 156]. Проте слід зазначити, що в сучасній науковій літературі існують певні протиріччя щодо результатів дослідження рівня ІЛ-17 у пацієнтів із ХГС. За даними [157 - 158] продемонстровано вищий вміст цього цитокіну у здорових людей при порівнянні із хворими на ХГС. При цьому підвищений вміст зазначених вище цитокінів також спостерігається при захворюваннях, в імунопатогенезі яких є автоімунний механізм, зокрема на різних етапах розвитку ревматоїдного артрити при порівнянні з здоровими людьми [113]. На наш погляд, існуючі певні розходження в результатах зазначених досліджень різних авторів можуть бути пов'язані з тим, що в цих роботах не був врахований ОП генів цитокінів, що досліджувалися.

В подальшій частині роботи нами було проаналізовано вміст ІЛ-6 та ІЛ-17 в сироватці крові хворих на ХГС залежно від ОП генів, що їх кодують.

Нами було виявлено, що ОП гену ІЛ-6 (rs 1800795) мав вплив на вміст цього цитокіну в сироватці крові, а саме у пацієнтів із ХГС носіїв CG/GG-генотипів вміст ІЛ-6 був вищим, порівняно зі здоровими людьми ( $p < 0,05$ ). При цьому у хворих на ХГС носіїв CC-генотипу вміст ІЛ-6 в сироватці крові статистично не відрізнявся від показника здорових осіб ( $p > 0,05$ ). Порівняння кількісного вмісту ІЛ-6 в сироватці крові хворих на ХГС із різними генотипами (CC-генотип проти CG/GG-генотипів) показало нам статистично значущу різницю ( $p < 0,01$ ). Ці дані збігаються із даними інших дослідників. Зокрема в дослідженні [169] було також виявлено найвищий вміст ІЛ-6 серед носіїв CG та GG генотипів (rs1800795). В дослідженні [211] продемонстровано, що поліморфізм нуклеотидів G/C на промоторі -174 гену ІЛ-6 впливав на швидкість його продукції, що відображалось на рівнях циркуляції ІЛ-6 в крові. Генотипи GG та CG промотору -174 підвищували рівень ІЛ-6, а генотип CC, навпаки, знижував. На думку авторів [212] особливості продукції ІЛ-6 залежно від ОП гену, що його кодує, обумовлюють ризик хронізації HCV-інфекції та ризик розвитку високих ступенів фіброзу печінки у пацієнтів з ХГС, які мають певний ОП гену ІЛ-6.

При оцінці впливу ОП гену ІЛ-17 (rs 612242) на кількісний вміст відповідного цитокіну нами виявлено достовірно вищий його вміст у сироватці крові хворих на ХГС як з CC-генотипом, так і з CG/GG-генотипами при порівнянні зі здоровими людьми ( $p < 0,001$ ). Однак порівняння вмісту ІЛ-17 в сироватці крові у хворих на ХГС з різними генотипами ОП гену ІЛ-17 (rs 612242) не виявив статистично значущої різниці ( $p > 0,05$ ). У доступній нам літературі нами не знайдено досліджень щодо впливу ОП гену саме ІЛ-17 (rs 612242) на вміст цього цитокіну безпосередньо у хворих на ХГС. Однак в літературі представлені дані щодо визначення вмісту ІЛ-17 в сироватці крові на бешиху залежно від ОП гену ІЛ-17 в локусах rs 2275913 та rs 8193036 [163 - 164]. За результатами зазначених досліджень виявлено статистично значуще підвищення вмісту ІЛ-17 у хворих на бешиху, порівняно зі



здоровими людьми. Також було встановлено різницю у вмісті цього цитокіну у хворих на бешиху носіїв різних генотипів [163 - 164].

Проведений нами кореляційний аналіз показав наявність зв'язків між змінами вмісту ІЛ-6 та ІЛ-17 в сироватці крові та основними біохімічними та гематологічними параметрами у хворих на ХГС. Так, виявлено позитивний зв'язок вмісту ІЛ-6 з рівнем прямого білірубіну ( $r=0,26$ ,  $p=0,04$ ), кількісним вмістом еритроцитів ( $r=0,26$ ,  $p=0,02$ ) та негативний зв'язок з кількісним вмістом тромбоцитів ( $r=-0,26$ ,  $p=0,37$ ). Однак нами не було виявлено статистично значущих кореляцій між вмістом ІЛ-6 та ІЛ-17 та показниками морфологічних змін в печінці (за даними неінвазивних тестів), а також показником вірусного навантаження. Дані сучасної літератури свідчать про неоднозначність взаємозв'язків вмісту ІЛ-17 та показником некрозо-запальної активності, зокрема активністю АЛТ, що виявляються. Існують результати досліджень, які демонструють позитивну кореляцію [155], а є – негативну [156]. Зв'язок вмісту ІЛ-17 з розвитком фібротичних змін у печінці був продемонстрований дослідниками лише експериментально при моделюванні на мишах [152]. Тільки в одному дослідженні нами було знайдено повідомлення про наявність кореляції вмісту ІЛ-17 з рівнем вірусного навантаження у хворих на ХГС [159].

Аналіз кількісного вмісту ІЛ-6 в сироватці крові хворих на ХГС залежно від наявності змішаної кріоглобулінемії показав, що цей показник був найвищим у хворих з HCV-асоційованою змішаною кріоглобулінемією, порівняно як зі здоровими людьми ( $p<0,001$ ), так і з хворими на ХГС без цього позапечінкового прояву ( $p<0,05$ ). При цьому нами було встановлено, що у хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією на рівень підвищення ІЛ-6 в сироватці крові впливав ОП гену ІЛ-6 (rs 1800795). А саме, найвищий вміст ІЛ-6 було зареєстровано в сироватці крові хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією із CG/GG-генотипами, порівняно із пацієнтами з HCV-асоційованою змішаною кріоглобулінемією носіями CC-генотипу ( $p<0,05$ ). Слід зазначити, що за наявності CC-генотипу та змішаної кріоглобулінемії

вміст ІЛ-6 в сироватці крові таких хворих перевищував відповідний показник здорових людей ( $p < 0,05$ ), в той час як за відсутності цього позапечінкового прояву але наявності СС-генотипу у хворих на ХГС статистично значущої різниці зі здоровими людьми нами не було виявлено ( $p > 0,05$ ). Дані сучасної літератури демонструють роль ІЛ-6 в імунопатогенезі та формуванні певних особливостей перебігу ревматологічних захворювань. Так в дослідженні [213] було виявлено більш високий вміст ІЛ-6 у сироватці крові хворих на системний червоний вовчак з наявністю анемії (активний гематологічний прояв хвороби) при порівнянні із вмістом цього цитокіну у хворих з нормальною кількістю гемоглобіну (неактивний гематологічний прояв хвороби). Одночасно з цим серед хворих на системний червоний вовчак не було визначено впливу вмісту ІЛ-6 у сироватці крові на інші прояви хвороби, а саме ураження суглобів, центральної нервової системи, нирок, шкіри та слизових оболонок. Серед хворих на ревматоїдний артрит виявляється підвищення цілого ряду цитокінів вже на доклінічному етапі (ІЛ-6, ІЛ-17, ІЛ-12/23 та інші). Слід зазначити, що у вказаний період їх вміст був найбільшим, а при переході до ранньої стадії та виходу на плато у хронічній стадії їх вміст знижувався, проте не досягав показників здорових людей [113].

Порівняння виразності змін показників автоімунних порушень у хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією залежно від ОП гену ІЛ-6 (rs 1800795) показало, що найвищий вміст змішаних кріоглобулінів, загального ревматоїдного фактору, ревматоїдного фактору IgM та ревматоїдного фактору IgA було зафіксовано у носіїв G-алелю, тобто у носіїв CG/GG-генотипів, що мало статистичну різницю при порівнянні із носіями СС-генотипу ( $p < 0,05$ ). Дані сучасної літератури свідчать про високу частоту поєднання змішаних кріоглобулінів із ревматоїдним фактором різних класів з досить високою частотою – від 12,0 до 70,0 % [47 - 50].

Кореляційний аналіз підтвердив роль ІЛ-6 у прогресуванні змішаної кріоглобулінемії та ураження печінки у хворих на ХГС. Так, встановлені прямі зв'язки вмісту ІЛ-6 у сироватці крові хворих на ХГС зі змішаною

кріоглобулінемією зі ступенем фібротичних змін у печінці ( $\tau=0,25$ ,  $p=0,01$ ), кількісним вмістом змішаних кріоглобулінів у сироватці крові та активністю АСТ ( $r=0,32$ ,  $p=0,03$ ). Дані літератури [214] свідчать, що частіше збільшений вміст ревматоїдного фактору виявляють у хворих з артралгією та ХГС, ніж у пацієнтів лише за наявності гепатиту. При цьому дослідники зазначають, що високий вміст ревматоїдного фактору в крові зберігається навіть після елімінації HCV [215].

При аналізі вмісту ІЛ-17 в сироватці крові хворих на ХГС нами було встановлено, що цей показник у хворих на ХГС як зі змішаною кріоглобулінемією, так й за відсутності цього позапечінкового прояву перевищував показники здорових людей ( $p<0,05$ ), однак рівень підвищення цього цитокіну у хворих на ХГС не залежав від наявності змішаної кріоглобулінемії ( $p>0,05$ ). Слід зазначити, що ОП гену ІЛ-17 (rs 612242) у хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією не впливав на вміст цього цитокіну, а саме не було встановлено статистично значущої різниці при порівнянні хворих з CC-генотипом та CG/GG-генотипами ( $p>0,05$ ). Порівняння виразності змін аутоімунних порушень у хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією залежно від ОП ІЛ-17 (rs 612242) встановило вищу частоту виявлення загального ревматоїдного фактору у пацієнтів з CC-генотипом, порівняно з хворими із CG/GG-генотипами ( $\chi^2=28,93$ ,  $p<0,001$  з використанням точного критерію Фішера для малих вибірок). При цьому не було виявлено впливу ОП гену ІЛ-17 (rs 612242) на кількісний вміст змішаних кріоглобулінів в сироватці крові ( $p>0,05$ ). Кореляційний аналіз виявив зв'язок між кількісним вмістом змішаних кріоглобулінів та активністю АСТ в сироватці крові ( $r=0,32$ ,  $p=0,03$ ), що підтверджує роль HCV-асоційованої змішаної кріоглобулінемії в прогресуванні захворювання.

В подальшому нами було проведений аналіз ефективності ПВТ за схемою  $\text{peg-IFN}\alpha+\text{RBV}+\text{SOF}$  в залежності від ОП гену ІЛ-6 (rs 1800795) у хворих на ХГС. Аналіз проводився з урахуванням даних 83 пацієнтів, що отримували вищевказану схему ПВТ, у цих хворих оцінено формування СВВ

24. Слід зазначити, що у всіх хворих на ХГС носіїв СС-генотипу було досягнуто формування СВВ 24. При цьому всі хворі на ХГС, що не відповіли на ПВТ, були носіями СG/GG-генотипів, а серед тих що відповіли – негативація HCV-RNA в крові відбувалася повільніше, на відміну від пацієнтів з генотипом СС. Найвища активність цитолітичного синдрому до початку ПВТ спостерігалась серед носіїв СG/GG-генотипів які не відповіли на лікування, та мала статистично достовірну різницю із носіями СG/GG-генотипів що відповіли формуванням СВВ 24 ( $p < 0,05$ ). Слід зазначити, що на момент реєстрації СВВ 24, серед хворих що не відповіли на терапію, підвищена активність АЛТ реєструвалась у кожного п'ятого хворого.

В сучасній літературі нами знайдено дослідження [216], що демонструє негативний вплив наявності алелю G ОП гену ІЛ-6 на успішність ПВТ за схемою  $\text{peg-IFN}\alpha + \text{RBV}$ , але не лише в положенні rs1800795, а й у інших локусах rs1800797 та rs1800796. За результатами нашого дослідження доведено, що навіть при проведенні ПВТ за SOF-вмісною схемою, наявність алелю G, а саме носійство СG/GG-генотипів ОП ІЛ-6 (rs 1800795), виявилось прогностично несприятливим фактором щодо досягнення СВВ 24 при лікуванні за схемою  $\text{peg-IFN}\alpha + \text{SOF} + \text{RBV}$  пацієнтів із ХГС.

На наступному етапі дослідження нами було визначено динаміку змін вмісту ІЛ-6 у сироватці крові хворих на ХГС залежно від ОП гену, що його кодує та результативності ПВТ. Було визначено, що до початку ПВТ найвищий вміст ІЛ-6 в сироватці крові був виявлений у хворих на ХГС носіїв СG/GG-генотипів, які не відповіли на лікування формуванням СВВ 24, порівняно із носіями таких самих генотипів, які відповіли на ПВТ ( $p < 0,001$ ). Найнижчий вміст ІЛ-6 в сироватці крові до початку лікування виявлено у носіїв СС-генотипу, який був достовірно нижчим, ніж у носіїв СG/GG-генотипів, які відповіли формуванням СВВ 24 ( $p < 0,001$ ). Слід зазначити, що у хворих на ХГС з СС-генотипом вміст ІЛ-6 в сироватці крові не відрізнявся від показників здорових осіб на всіх етапах проведення ПВТ ( $p > 0,05$ ). На момент оцінки СВВ 24 найвищий вміст ІЛ-6 у сироватці крові було виявлено

у носіїв CG/GG-генотипів, які не відповідали формуванням СВВ 24, що було достовірно вище при порівнянні не лише зі здоровими людьми, а й з носіями СС та CG/GG-генотипів, які мали негativaцію HCV-RNA в крові ( $p < 0,05$ ).

Відповідно до сучасних даних літератури, ІЛ-6 бере участь у імунних реакціях регулюючи роботу прозапальних та протизапальних шляхів, при цьому на його кількісний вміст впливає ОП гену що його кодує. Отримані в нашому дослідженні результати збігаються з даними інших дослідників. Так, в роботі авторів [211] було визначено зв'язок ОП гену ІЛ-6 у локусі rs1800795 із вмістом цього цитокіну, а саме носійство G-алелю асоціювалося з його підвищенням, а С-алелю – зі зниженням.

Проведений нами кореляційний аналіз підтвердив інформативність вмісту ІЛ-6 у взаємозв'язку із ОП його гену в можливості прогнозування ефективності проведення ПВТ хворим на ХГС за схемою рег-IFN $\alpha$ +RBV+SOF. Методом рангової кореляції Кендала Тау встановлено зв'язок вмісту ІЛ-6 в сироватці крові до початку ПВТ та негativaцією HCV-RNA як на момент завершення терапії ( $\tau = -0,33$ ,  $p = 0,001$ ), так й через 24 тижні після її завершення ( $\tau = -0,39$ ,  $p = 0,0002$ ). При цьому на вміст ІЛ-6 в сироватці крові хворих на ХГС мав вплив ОП гену ІЛ-6 (rs1800795) як до початку ПВТ ( $\tau = 0,24$ ,  $p < 0,05$ ), так й на момент завершення лікування ( $\tau = 0,25$ ,  $p = 0,01$ ).

За результатами аналізу ефективності ПВТ хворих на ХГС за схемою рег-IFN $\alpha$ +RBV+SOF не було встановлено залежності досягнення СВВ 24 від ОП гену ІЛ-17 (rs 612242). Слід зазначити, що усі хворі, що досягли негativaції HCV-RNA вже на етапі ШВВ, були носіями CG/GG-генотипів. Серед пацієнтів із ХГС носіїв СС-генотипу, що досягли СВВ 24, цей процес був більш повільним, проте на етапі оцінки СВВ 24 частота її досягнення не відрізнялася у хворих з різними генотипами ( $p > 0,05$ ). Проведений кореляційний аналіз за методом рангової кореляції Кендала Тау не виявив впливу поліморфізму гену ІЛ-17 (rs 612242) на результативність лікування ( $\tau = 0,09$ ,  $p = 0,21$ ) на жодному з етапів ПВТ. При оцінці динаміки цитолітичного синдрому при проведенні ПВТ нами було відзначено, що у

всіх носіїв CG/GG-генотипів поліморфізму гену ІЛ-17 (rs 612242) зафіксовано нормалізацію АЛТ на етапі оцінки СВВ 12, що зберігалась й на момент оцінки СВВ 24. У 95,6 % носіїв СС-генотипу, які відповідали формуванням СВВ 24 також було відзначено нормалізацію АЛТ. У протипагу цьому, у 20,0 % носіїв СС-генотипу, що не відповідали на ПВТ формуванням СВВ 24, зберігався цитолітичний синдром.

Аналіз динаміки вмісту ІЛ-17 у сироватці крові хворих на ХГС на різних етапах проведення ПВТ у взаємозв'язку з ОП гену ІЛ-17 (rs 612242) показав, що на тлі лікування вміст ІЛ-17 в сироватці крові хворих як з СС-генотипом, так і з CG/GG-генотипами знизився ( $p < 0,05$ ), порівняно з початком ПВТ. Однак, на момент оцінки СВВ 24 у хворих із СС-генотипом, які не відповідали на лікування формуванням СВВ 24, було виявлено статистично значуще підвищення ІЛ-17 у сироватці крові при порівнянні як із носіями різних генотипів, що відповідали на ПВТ, так і зі здоровими людьми ( $p < 0,05$ ).

Дані сучасної літератури стосовно динаміки рівня ІЛ-17 в сироватці крові хворих на ХГС на фоні ПВТ мають розбіжності, однак прослідковується певна закономірність залежно від схеми ПВТ, яка застосовувалася. Так, при лікуванні за схемою  $\text{peg-IFN}\alpha + \text{RBV}$  [217] та при додаванні до неї SOF [218] відзначається вірогідно значуще зменшення вмісту ІЛ-17 в сироватці крові із його нормалізацією у значної кількості пацієнтів вже через 12-ть тижнів ПВТ. За результатами нашого дослідження встановлено схожу динаміку змін ІЛ-17, проте отримані дані дозволили продемонструвати, що за відсутності формування СВВ 24 рівень ІЛ-17 в сироватці крові залишається вище, порівняно зі здоровими особами ( $p < 0,05$ ), незважаючи на його зменшення на тлі лікування. Зазначені вище результати ряду авторів не співпадають з даними, отриманими іншими дослідниками [157] при терапії пацієнтів із ХГС за схемою SOF+RBV протягом 24 тижнів, на фоні якого не було встановлено вірогідно значущого зменшення вмісту

ІЛ-17. На нашу думку, це можна пояснити відсутністю в цій схемі лікування  $\text{peg-IFN}\alpha$ , який, як відомо, має імуномодулюючі властивості.

При оцінці впливу ОП генів ІЛ-6 (rs1800795) та ІЛ-17 (rs 612242) такі фактори як стать хворого ( $\tau=0,03$  та  $\tau=0,01$  відповідно), генотип вірусу HCV ( $\tau=0,005$  та  $\tau=0,06$  відповідно) та ступінь виразності фіброзу печінки ( $\tau=0,15$  та  $\tau=0,002$ ), не мали прогностичного значення ( $p>0,05$ ) при проведенні ПВТ за схемою  $\text{peg-IFN}\alpha+\text{SOF}+\text{RBV}$  за результатами проведеного нами кореляційного аналізу методом рангової кореляції Кендала Тау.

Дані літератури свідчать, що при лікуванні подвійною ПВТ за схемою  $\text{peg-IFN}\alpha+\text{RBV}$  доведено було позитивний вплив таких факторів як інфікування 2 та 3 генотипами вірусу, жіноча стать хворого, належність до білою раси, відсутність ожиріння та інсулінорезистентності, молодий вік, слабо виражений фіброз печінки [175, 177 - 178], чого не було встановлено в нашому дослідженні при застосуванні SOF-вмісної схеми ПВТ. З появою можливості визначення ОП генів, що кодуєть цитокіни, важливим виявився ОП гену ІЛ-28В, але він відігравав роль за умов інфікування хворого 1 генотипом HCV та дозволяв диференційовано вибрати схему терапії  $\text{peg-IFN}\alpha+\text{RBV}$  або  $\text{peg-IFN}+\text{боцепревір}/\text{телепревір}+\text{RBV}$  [16]. Проте після появи противірусних препаратів з прямим механізмом дії цей маркер втратив своє прогностичне значення [16, 219].

В подальшій частині нашої роботи ми проаналізували ефективність ПВТ за схемою  $\text{peg-IFN}\alpha+\text{SOF}+\text{RBV}$  у хворих на ХГС залежно від наявності змішаної кріоглобулінемії. Нами було встановлено чітку тенденцію до нижчої частоти формування вірусологічної відповіді на кожному з етапів оцінки ефективності лікування із досягненням СВВ 24 у 85,4 % хворих з HCV-асоційованою кріоглобулінемією проти 91,4 % пацієнтів без цього позапечінкового прояву. Частота досягнення нормалізації АЛТ після проведеної ПВТ у хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією також виявилася дещо нижчою, ніж у хворих без цього прояву.

У подальшому нами було проаналізовано ефективність ПВТ за схемою  $\text{peg-IFN}\alpha\text{+SOF+RBV}$  саме у 48 хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією залежно від поліморфізму генів ІІ-6 (rs 1800795). У всіх носіїв СС-генотипу вказаного ОП було визначена негати́вація HCV-RNA в крові вже на етапі оцінки ШВВ, що зберігалось до моменту оцінки СВВ 24. У протипагу цій когорті, серед носіїв СG/GG-генотипів ОП гену ІІ-6 (rs 1800795) виявилось зниження частоти успішності ПВТ: від 90,7 % на момент ШВВ до 83,7 % на момент оцінки СВВ 24. Отримані в ході нашого дослідження результати схожі на дані інших дослідників [193 - 194], які вивчали вплив наявності HCV-асоційованої змішаної кріоглобулінемії на результативність ПВТ за схемою  $\text{peg-IFN}\alpha\text{+RBV}$  та які отримали достовірні відмінності, а саме більш високу частоту негати́вації HCV-RNA в крові у хворих без змішаної кріоглобулінемії. Наявність змішаної кріоглобулінемії у хворих на ХГС при проведенні ПВТ за схемою  $\text{peg-IFN}\alpha\text{+RBV}$  виявилася предиктором низької ефективності терапії [195 - 196].

Аналіз динаміки показників автоімунних порушень у хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією в залежності від досягнення СВВ 24 показав, що за умов формування СВВ 24 у хворих відбувалося статистично значуще зниження вмісту змішаних кріоглобулінів на момент завершення ПВТ ( $\chi^2=58,08$ ,  $p<0,0001$ ) та через 24 тижні після цього ( $\chi^2=52,48$ ,  $p<0,0001$ ), порівняно із початком терапії. У хворих, які не мали негати́вації HCV-RNA в крові на момент оцінки СВВ 24, статистично значущого зниження вмісту змішаних кріоглобулінів в сироватці крові не відбувалося ( $p>0,05$ ). Також встановлено статистично значущу різницю у частоті збереження змішаних кріоглобулінів між вищезазначеними групами хворих на момент оцінки СВВ 24 – 85,7 % проти 17,1 % ( $\chi^2=14,27$ ,  $p<0,001$ ). В динаміці ПВТ у хворих зі змішаною кріоглобулінемією, які відповіли формуванням СВВ 24, найнижчі показники вмісту кожного класу ревматоїдного фактору (загальний, IgM, IgA) спостерігались на етапі оцінки СВВ 24, що достовірно ( $p<0,05$ ) відрізнялися від відповідних показників пацієнтів, у яких проведена ПВТ



виявилася неефективною. За умов досягнення СВВ 24 спостерігалось достовірне ( $p < 0,05$ ) зниження кількісного вмісту ревматоїдного фактору на кожному з етапів лікування. У протипагу цьому, за умов неефективності ПВТ у хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією вміст ревматоїдного фактору класів М та А на момент завершення ПВТ мав лише тенденцію до зниження ( $p > 0,05$ ), проте через 24 тижні їх кількісний вміст збільшувався до початкових показників. Встановлені закономірності підтвердила виявлена сильна позитивна кореляція між вмістом змішаних кріоглобулінів та ревматоїдним фактором IgM в сироватці крові до початку ПВТ у хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією, які відповіли формуванням СВВ 24 ( $r = 0,72$ ,  $p = 0,02$ ).

Відомо, що у хворих ХГС відмічається висока частота виявлення ревматоїдного фактору [220]. Це пояснюється тим, що поверхневі антигени HCV взаємодіють зі відповідними рецепторами В-лімфоцитів та знижують поріг їх активації, що призводить до пригнічення апоптозу. Це у свою чергу викликає формування соматичних гіпермутацій В-лімфоцитів та збільшення продукції як змішаних кріоглобулінів, так і ревматоїдного фактору різних класів [10, 11, 220]. Частота виявлення ревматоїдного фактору, за даними різних досліджень [221 - 222] у хворих на ХГС коливається від 40 % до 76 %. Дані літератури [214] свідчать, що частіше збільшену концентрацію ревматоїдного фактору виявляють у хворих з артралгією та ХГС, ніж у пацієнтів лише за наявності гепатиту. При цьому високий вміст ревматоїдного фактору в крові зберігається навіть після елімінації HCV з використанням ПВТ за схемою  $\text{peg-IFN}\alpha + \text{RBV}$  [215]. За результатами нашого дослідження доведено, що за наявності змішаної кріоглобулінемії у хворих на ХГС проведення ПВТ за схемою  $\text{peg-IFN}\alpha + \text{SOF} + \text{RBV}$  супроводжувалося зниженням кількісного вмісту ревматоїдного фактору досліджуваних класів за умов негативації HCV RNA в крові через 24 тижні після завершення лікування ( $p < 0,05$ ), проте ці показники залишалися вище, ніж у здорових

людей ( $p < 0,05$ ). В той же час, у хворих без формування СВВ 24 вміст ревматоїдного фактору залишався без змін на тлі проведення ПВТ.

Хворі на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією є однією з найскладніших категорій пацієнтів при проведенні ПВТ. Існують дослідження [195 - 196], які демонструють збільшення частоти загострення кріоглобулінемічного васкуліту з ураженням нирок, появою нейропатії та/або виразково-некротичного васкуліту на тлі проведення ПВТ за схемою рег-IFN $\alpha$ +RBV. Крім того, при проведенні ПВТ дослідники [195 - 196] спостерігали маніфестацію кріоглобулінемічного синдрому у хворих на ХГС. За результатами нашого дослідження при проведенні ПВТ за схемою рег-IFN $\alpha$ +SOF+RBV не відзначалося загострення ознак кріоглобулінемічного синдрому, а при досягненні СВВ 24 нами було зафіксовано зменшення частоти виявлення змішаних кріоглобулінів в сироватці крові та зменшення вмісту ревматоїдного фактору. На наш погляд, це можна пояснити тим, що включення до схеми лікування противірусного препарату з прямим механізмом дії (SOF) обумовлює значне зменшення тривалості курсу ПВТ.

За результатами аналізу кількісного вмісту ІЛ-6 в сироватці крові хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією встановлено зниження його рівня ( $p < 0,05$ ) на всіх етапах оцінки ефективності ПВТ як за умов досягнення СВВ 24, так і за відсутності ефективності проведеного лікування. Проте нормалізація вмісту ІЛ-6 в сироватці крові спостерігалась лише у хворих при досягненні СВВ 24. Відповідно у хворих без негативації HCV-RNA в крові на момент оцінки СВВ 24 вміст ІЛ-6 в сироватці крові залишався вище, ніж у здорових осіб ( $p < 0,05$ ).

Динаміка кількісного вмісту ІЛ-17 в сироватці крові хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією характеризувалася зниженням ( $p < 0,05$ ) його рівня на всіх етапах оцінки ефективності ПВТ як за умов досягнення СВВ 24, так і за відсутності ефективності проведеного лікування. Слід зазначити, що найбільш виражена динаміка зниження вмісту ІЛ-17 в сироватці крові, порівняно з початком лікування, спостерігались у хворих, які відповіли на

ПВТ формуванням СВВ 24, а саме, на момент завершення терапії ( $p < 0,05$ ) та зберігались до моменту оцінки СВВ 24 ( $p < 0,05$ ), в ці строки спостереження зазначений параметр не відрізнявся від показника здорових людей ( $p > 0,05$ ). В протипагу цьому, у хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією без формування СВВ 24 на жодному з етапів лікування зниження вмісту ІІ-17 в сироватці крові до показників здорових людей не відбулося ( $p < 0,05$ ).

Після узагальнення отриманих нами даних було відібрано п'ять найбільш інформативних параметрів хворих на ХГС до початку проведення ПВТ для проведення дискримінантного аналізу, а саме вміст ІІ-6 та ІІ-17 у сироватці крові хворого, вміст ревматоїдного фактору класів М та А, ступінь некрозо-запальних змін в печінці. За результатами проведеного дискримінантного аналізу нами було отримано дискримінантну формулу, при застосуванні якої можна з вірогідністю 80,0 % передбачити формування СВВ 24 при проведенні ПВТ за схемою  $\text{peg-IFN}\alpha + \text{SOF} + \text{RBV}$ . Нами також наведено 2 клінічних приклади у якості доказів спроможності цієї моделі прогнозувати результат лікування ще до його початку.

## ВИСНОВКИ

Актуальність хронічного гепатиту С обумовлена широким розповсюдженням хвороби серед населення як у світі, так і в Україні. Недостатнє вивчення імунопатогенезу розвитку такого позапечінкового прояву хронічного гепатиту С як змішана кріоглобулінемія, наявність нечисельних досліджень щодо з'ясування клініко-патогенетичної ролі однонуклеотидного поліморфізму у розвитку цього ускладнення, наявність протиріч в поодиноких дослідженнях, втрата свого значення предикторів успішності завершення протівірусної терапії з появою нових схем лікування хронічного гепатиту С обумовили поглибленого дослідження проблеми для удосконалення ранньої діагностики змішаної кріоглобулінемії у хворих на хронічний гепатит С та прогнозування ефективності протівірусної терапії.

У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення і нове вирішення наукового завдання, яке полягає в удосконаленні прогнозування розвитку змішаної кріоглобулінемії у хворих на хронічний гепатит С та ефективності протівірусного лікування на підставі визначення клініко-патогенетичної ролі поліморфізму генів ІЛ-6 (rs 1800795) та ІЛ-17 (rs 612242) у взаємозв'язку з імунологічними порушеннями.

1. У хворих на хронічний гепатит С генотипи CG/GG однонуклеотидний поліморфізм гену ІЛ-6 (rs 1800795) асоціюються у 67,7 % пацієнтів з розвитком змішаної кріоглобулінемії проти 36,0 % пацієнтів з генотипом CC ( $\chi^2=8,93$ ,  $p<0,01$ ). За наявності змішаної кріоглобулінемії у хворих на хронічний гепатит С генотипи CG/GG, на відміну від генотипу CC, асоціюються з вищим рівнем змішаних кріоглобулінів в сироватці крові ( $p=0,03$ ) та частішою маніфестацією клінічних її проявів, а саме вираженої загальної слабкості (71,4 % проти 22,2 %,  $\chi^2=8,86$ ,  $p=0,003$ ), артралгій (63,1 % проти 22,2 %,  $\chi^2=5,62$ ,  $p=0,02$ ), появою шкірних ознак кріоглобулінемічного васкуліту та у 15,5 % хворих формуванням тріади Мельтцера. Однонуклеотидний поліморфізм гену ІЛ-17 (rs 612242) не впливає на розвиток HCV-асоційованої змішаної кріоглобулінемії.

2. У хворих на хронічний гепатит С зі змішаною кріоглобулінемією за наявності CG/GG-генотипів поліморфізму гену ІЛ-6 (rs 1800795) імунологічні порушення найбільш виражені за рахунок вищого вмісту в сироватці крові змішаних кріоглобулінів ( $p < 0,05$ ), ІЛ-6 ( $p < 0,05$ ), ревматоїдного фактору як загального ( $p < 0,05$ ), так і IgM ( $p < 0,05$ ) та IgA ( $p < 0,05$ ), порівняно з носіями CC-генотипу. Роль імунологічних змін в прогресуванні хронічного гепатиту С у хворих зі змішаною кріоглобулінемією підтверджують кореляції між рівнем підвищення ІЛ-6 та ступенем фіброзу печінки ( $\tau = 0,25$ ,  $p = 0,01$ ), вмістом змішаних кріоглобулінів в сироватці крові та активністю АСТ ( $r = 0,32$ ,  $p = 0,03$ ).

3. При проведенні противірусної терапії хворим на хронічний гепатит С за схемою  $\text{peg-IFN}\alpha + \text{SOF} + \text{RBV}$  генотип CC поліморфізму гену ІЛ-6 (rs1800795) є прогностично сприятливим щодо формування стійкої вірусологічної відповіді 24 та асоціюється із коливанням кількісного вмісту ІЛ-6 в крові в межах референтних значень ( $p > 0,05$ ). За наявності у хворих на хронічний гепатит С генотипів CG/GG ефективність противірусної терапії складає 85,5 % проти 100 % у пацієнтів з генотипами CC. Відсутність формування відповіді на момент завершення противірусної терапії та стійкої вірусологічної відповіді 24 асоціюється з наявністю генотипів CG/GG, найвищим вмістом ІЛ-6 в сироватці крові ( $p < 0,01$ ) та вищим рівнем активності АЛТ до початку проведення ПВТ ( $\tau = -0,18$ ,  $p < 0,01$ ).

4. Поліморфізм гену ІЛ-17 (rs 612242) впливає на ефективність противірусної терапії за схемою  $\text{peg-IFN}\alpha + \text{RBV} + \text{SOF}$ . За наявності G-алелю (CG/GG-генотипи) стійка вірусологічна відповідь 24 формується у 100 % проти 87,2 % пацієнтів з CC-генотипом. Відсутність вірусологічної відповіді на противірусну терапію асоціюється з CC-генотипом та вищою активністю АЛТ в сироватці крові, що підтверджується ранговою кореляцією між рівнем активності некрозо-запального процесу і результативністю противірусної терапії як на момент завершення лікування ( $\tau = -0,20$ ,  $p = 0,008$ ), так і на момент оцінки формування стійкої вірусологічної відповіді 24 ( $\tau = -0,21$ ,  $p = 0,004$ ).

Вміст ІЛ-17 в сироватці на тлі протівірусної терапії знижується ( $p < 0,05$ ) із нормалізацією його рівня ( $p > 0,05$ ) у пацієнтів з формуванням стійкої вірусологічної відповіді 24.

5. За наявності змішаної кріоглобулінемії у хворих на хронічний гепатит С частота формуванням стійкої вірусологічної відповіді 24 після протівірусної терапії за схемою  $\text{peg-IFN}\alpha + \text{SOF} + \text{RBV}$  нижче, ніж у хворих без цього прояву (85,4 % проти 91,4 %). У хворих на хронічний гепатит С зі змішаною кріоглобулінемією наявність CG/GG-генотипів поліморфізму гену ІЛ-6 (rs 1800795) знижує частоту досягнення стійкої вірусологічної відповіді 24 до 83,7 % проти 100 % хворих з CC-генотипом. У хворих на хронічний гепатит С зі змішаною кріоглобулінемією за умов досягнення стійкої вірусологічної відповіді 24 вміст ревматоїдного фактору IgM, IgG, IgA ( $p < 0,05$ ) та частота виявлення змішаних кріоглобулінів в сироватці крові менше, ніж у пацієнтів без формування стійкої вірусологічної відповіді 24 (17,1 % проти 85,7 %,  $\chi^2 = 14,27$ ,  $p < 0,001$ ). На тлі протівірусної терапії вміст ІЛ-6 та ІЛ-17 в сироватці крові знижується, порівняно з початком лікування ( $p < 0,05$ ), проте нормалізація їх вмісту ( $p > 0,05$ ) відбувається лише при формуванні у пацієнтів стійкої вірусологічної відповіді 24.

6. Найбільш інформативними лабораторними показниками, які достовірно ( $p < 0,05$ ) асоціюються з досягненням стійкої вірусологічної відповіді 24 при проведенні протівірусної терапії за схемою  $\text{peg-IFN}\alpha + \text{SOF} + \text{RBV}$ , є вміст ІЛ-6, ІЛ-17, ревматоїдного фактору IgA та IgM у сироватці крові, рівень активності некрозо-запального процесу у печінці за неінвазивними тестами. Створена математична модель прогнозування ефективності протівірусної терапії у хворих на хронічний гепатит С дає змогу прогнозувати ймовірність формування стійкої вірусологічної відповіді 24 із загальною точністю 80,0 %.

## ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Для виділення хворих на ХГС з високим ризиком розвитку змішаної кріоглобулінемії доцільно визначати поліморфізм гену ІЛ-6 в локусі rs1800795. За наявності CG/GG-генотипів вважати високим ризик розвитку змішаної кріоглобулінемії.

2. З метою ранньої діагностики клінічних проявів змішаної кріоглобулінемії у хворих на ХГС доцільно визначати поліморфізм гену ІЛ-6 в локусі rs1800795 у взаємозв'язку із динамікою вмісту ІЛ-6, ревматоїдного фактору в крові.

3. Для стратифікації хворих з високим ризиком відсутності формування СВВ при проведенні ПВТ за схемою peg-IFN $\alpha$ +SOF+RBV рекомендовано опиратися на такі найбільш інформативні лабораторні показники: вміст ІЛ-17 (X<sub>1</sub>, пг/мл), ревматоїдний фактор ІgA (X<sub>2</sub>, IU/ml), ступінь активності некрозо-запального процесу в печінці за даними неінвазивних тестів (X<sub>3</sub>), вміст ІЛ-6 (X<sub>4</sub>, пг/мл), ревматоїдного фактору ІgM (X<sub>5</sub>, IU/ml) з подальшим застосуванням математичної моделі з використанням формули:

$$Y = 9,5 * X_1 + 55,31 * X_2 - 86,7 * X_3 - 284,6 * X_4 - 26,2 * X_5$$

При отриманні значення коефіцієнта  $Y > 366$  – у хворих є висока вірогідність досягти СВВ 24 (діагностична точність – 69,9 %), у разі якщо  $Y < 366$  – досягнення СВВ 24 маловірогідне (діагностична точність – 90,0 %).

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. World Health Organization. Global Hepatitis Report 2017. URL: <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/255016/9789241565455-eng.pdf?sequence=1> (Last accessed: 21.08.2020)
2. Global prevalence and genotype distribution of hepatitis C virus infection in 2015: a modelling study / Blach S, Zeuzem S, Manns M et al. *The Lancet Gastroenterology & Hepatology*. 2017. Vol. 2(3). P. 161-176. URL: [https://doi.org/10.1016/s2468-1253\(16\)30181-9](https://doi.org/10.1016/s2468-1253(16)30181-9)
3. Chronic Hepatitis C Virus Infection Increases Mortality From Hepatic and Extrahepatic Diseases: A Community-Based Long-Term Prospective Study / Lee M, Yang H, Lu S et al. *Journal of Infectious Diseases*. 2012. Vol. 206(4). P. 469-477. URL: <https://doi.org/10.1093/infdis/jis385>
4. Assessment of total hepatitis C virus (HCV) core protein in HCV-related mixed cryoglobulinemia / Russi S, Sansonno D, Marigliò M et al. *Arthritis Res Ther*. 2014. Vol. 16(2). P. R73. URL: <https://doi.org/10.1186/ar4513>
5. The challenge of treating hepatitis C virus-associated cryoglobulinemic vasculitis in the era of anti-CD20 monoclonal antibodies and direct antiviral agents / Roccatello D, Sciascia S, Rossi D et al. *Oncotarget*. 2017. Vol. 8(25). P. 41764-41777. URL: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.16986>
6. Efficacy and safety of peginterferon alfa-2b plus ribavirin for HCV-positive mixed cryoglobulinemia: a multicentre open-label study / Mazzaro, C., Monti, G., Saccardo, F. et al. *Clin Exp Rheumatol*. 2011. Vol. 29(6). P. 933-41.
7. Prognostic factors in patients with hepatitis C virus infection and systemic vasculitis / Terrier B, Semoun O, Saadoun D et al. *Arthritis & Rheumatism*. 2011. Vol. 63(6). P. 1748-1757. URL: <https://doi.org/10.1002/art.30319>
8. Immunogenetics of complement in mixed cryoglobulinemia / Menegatti, E., Messina, M., Oddone V. et al. *Clin Exp Rheumatol*. 2016. Vol. 34 (3 Suppl 97). P. 12-5.



9. Increase of Soluble Programmed Cell Death Ligand 1 in Patients with Chronic Hepatitis C / Yamagiwa S, Ishikawa T, Waguri N et al. *Int J Med Sci*. 2017. Vol. 14(5). P. 403-411. URL: <https://doi.org/10.7150/ijms.18784>
10. B cell homeostasis in chronic hepatitis C virus-related mixed cryoglobulinemia is maintained through naïve B cell apoptosis / Holz L, Yoon J, Raghuraman S et al. *Hepatology*. 2012. Vol. 56(5). P. 1602-1610. URL: <https://doi.org/10.1002/hep.25821>
11. Somatic Hypermutations Confer Rheumatoid Factor Activity in Hepatitis C Virus-Associated Mixed Cryoglobulinemia / Charles E, Orloff M, Nishiuchi E et al. *Arthritis & Rheumatism*. 2013. Vol. 65(9). P. 2430-2440. URL: <https://doi.org/10.1002/art.38041>
12. Rose-John S. The soluble interleukin-6 receptor and related proteins. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2015. Vol. 29(5). P. 787-797. URL: <https://doi.org/10.1016/j.beem.2015.07.001>
13. Th17 cells in inflammation and autoimmunity / Singh R, Hasan S, Sharma S et al. *Autoimmun Rev*. 2014. Vol. 13(12). P. 1174-1181. URL: <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2014.08.019>
14. ИММУНОПАТОЛОГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ИНТЕРЛЕЙКИНА-17 ПРИ ПСОРИАТИЧЕСКОМ АРТРИТЕ / Шилова Л.Н., Паньшина Н.Н., Чернов А.С. и др. *Современные проблемы науки и образования*. 2015. № 6. URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=23040> (дата звернения: 21.08.2020).
15. ELBassuoni M, Abd El Fatah G, Zaghla H. IL17A gene polymorphism, serum IL17 and total IgE in Egyptian population with chronic HCV and hepatocellular carcinoma. *Immunol Lett*. 2015. Vol. 168(2). P. 240-245. URL: <https://doi.org/10.1016/j.imlet.2015.09.004>
16. Mechie N. Predictability of IL-28B-polymorphism on protease-inhibitor-based triple-therapy in chronic HCV-genotype-1 patients: A meta-analysis. *World J Hepatol*. 2014. Vol. 6(10). P. 759. URL: <https://doi.org/10.4254/wjh.v6.i10.759>

17. Influence of IL10 Gene polymorphisms on the sustained virologic response of patients with chronic hepatitis C to PEG-interferon/ribavirin therapy / Guo P, Li G, Sun X et al. *Infection, Genetics and Evolution*. 2016. Vol. 45. P. 48-55. URL: <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2016.08.016>

18. Effect of IL15 rs10833 and SCARB1 rs10846744 on virologic responses in chronic hepatitis C patients treated with pegylated interferon- $\alpha$  and ribavirin / Sadeghi S, Davari M, Asli E et al. *Gene*. 2017. Vol. 630. P. 28-34. URL: <https://doi.org/10.1016/j.gene.2017.08.005>

19. Peg-Interferon Plus Ribavirin with or without Boceprevir or Telaprevir for HCV Genotype 1: A Meta-Analysis on the Role of Response Predictors / Coppola N, Pisaturo M, Sagnelli C et al. *PLoS ONE*. 2014. Vol. 9(4). P. e94542. URL: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0094542>

20. Голубовская О.А. Применение комбинаций лекарственных средств для лечения пациентов с хроническим гепатитом С: обзор клинических исследований и особенности национальных стандартов терапии. *Клиническая инфектология и паразитология*. 2016. №3. С. 46-54.

21. EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C 2016. *J Hepatol*. 2017. Vol. 66(1). P. 153-194. URL: <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2016.09.001>

22. Koff R. Review article: the efficacy and safety of sofosbuvir, a novel, oral nucleotide NS5B polymerase inhibitor, in the treatment of chronic hepatitis C virus infection. *Aliment Pharmacol Ther*. 2014. Vol. 39(5). P. 478-487. URL: <https://doi.org/10.1111/apt.12601>

23. Clinical evidence and bioinformatics characterization of potential hepatitis C virus resistance pathways for sofosbuvir / Donaldson E, Harrington P, O'Rear J et al. *Hepatology*. 2014. Vol. 61(1). P. 56-65. URL: <https://doi.org/10.1002/hep.27375>

24. Наказ МОЗ України від 18.07.2016 № 729 «Про затвердження та впровадження медико-технологічних документів зі стандартизації медичної допомоги при вірусному гепатиті С». URL:

<https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v0729282-16#Text> (дата звернення: 21.08.2020).

25. Maistat L, Kravchenko N, Reddy A. Hepatitis C in Eastern Europe and Central Asia: a survey of epidemiology, treatment access and civil society activity in eleven countries. *Hepatol Med Policy*. 2017. Vol. 2(1). URL: <https://doi.org/10.1186/s41124-017-0026-z>

26. Ferri C, Zignego A, Pileri S. Cryoglobulins. *J Clin Pathol*. 2002. Vol. 55(1). P. 4-13. URL: <https://doi.org/10.1136/jcp.55.1.4>

27. Infection of peripheral mononuclear blood cells by hepatitis C virus / Zignego A, Macchia D, Monti M et al. *J Hepatol*. 1992. Vol. 15(3). P. 382-386. URL: [https://doi.org/10.1016/0168-8278\(92\)90073-x](https://doi.org/10.1016/0168-8278(92)90073-x)

28. Skewed B cells in chronic hepatitis C virus infection maintain their ability to respond to virus-induced activation / Oliviero B, Mantovani S, Ludovisi S et al. *J Viral Hepat*. 2014. Vol. 22(4). P. 391-398. URL: <https://doi.org/10.1111/jvh.12336>

29. Pileri P. Binding of Hepatitis C Virus to CD81. *Science*. 1998. Vol. 282(5390). P. 938-941. URL: <https://doi.org/10.1126/science.282.5390.938>

30. B-cells and mixed cryoglobulinemia / Ferri C, Antonelli A, Mascia M et al. *Autoimmun Rev*. 2007. Vol. 7(2). P. 114-120. URL: <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2007.02.019>

31. The effect of sustained virological response on the risk of extrahepatic manifestations of hepatitis C virus infection / Mahale P, Engels E, Li R et al. *Gut*. 2017. Vol. 67(3). P. 553-561. URL: <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2017-313983>

32. Prevalence of bcl-2 Rearrangement in Patients with Hepatitis C Virus-Related Mixed Cryoglobulinemia with or without B-Cell Lymphomas / Zignego A, Ferri C, Giannelli F et al. *Ann Intern Med*. 2002. Vol. 137(7). P. 571. URL: <https://doi.org/10.7326/0003-4819-137-7-200210010-00008>

33. Extrahepatic manifestations of chronic hepatitis C virus infection / Cacoub P, Comarmond C, Domont F et al. *Ther Adv Infect Dis*. 2015. Vol. 3(1). P. 3-14. URL: <https://doi.org/10.1177/2049936115585942>

34. Khaled H, Abu-Taleb F, Haggag R. Hepatitis C virus and non-Hodgkin's lymphomas: A minireview. *J Adv Res.* 2017. Vol. 8(2). P. 131-137. URL: <https://doi.org/10.1016/j.jare.2016.11.005>
35. LERNER A, WATSON C. STUDIES OF CRYOGLOBULINS. I. UNUSUAL PURPURA ASSOCIATED WITH THE PRESENCE OF A HIGH CONCENTRATION OF CRYOGLOBULIN (COLD PRECIPITABLE SERUM GLOBULIN). *Am J Med Sci.* 1947. Vol. 214(4). P. 410-415. URL: <https://doi.org/10.1097/00000441-194710000-00009>
36. ábel G, Zhang Q, Agnello V. Hepatitis c virus infection in type ii mixed cryoglobulinemia. *Arthritis & Rheumatism.* 1993. Vol. 36(10). P. 1341-1349. URL: <https://doi.org/10.1002/art.1780361003>
37. HCV-related autoimmune and neoplastic disorders: the HCV syndrome / Ferri C, Antonelli A, Mascia M et al. *Digestive and Liver Disease.* 2007. Vol. 39. S13-S21. URL: [https://doi.org/10.1016/s1590-8658\(07\)80005-3](https://doi.org/10.1016/s1590-8658(07)80005-3)
38. Misiani R. Hepatitis C Virus Infection in Patients with Essential Mixed Cryoglobulinemia. *Ann Intern Med.* 1992. Vol. 117(7). P. 573. URL: <https://doi.org/10.7326/0003-4819-117-7-573>
39. Hepatitis C virus within a malignant lymphoma lesion in the course of type II mixed cryoglobulinemia / De Vita S, Sansonno D, Dolcetti R et al. *Blood.* 1995. Vol. 86(5). P. 1887-1892. URL: <https://doi.org/10.1182/blood.v86.5.1887.bloodjournal8651887>
40. Gumber S. Hepatitis C: A Multifaceted Disease: Review of Extrahepatic Manifestations. *Ann Intern Med.* 1995. Vol. 123(8). P. 615. URL: <https://doi.org/10.7326/0003-4819-123-8-199510150-00008>
41. Ferri C, Mascia M. Cryoglobulinemic vasculitis. *Current Opinion in Internal Medicine.* 2006. Vol. 5(2). P. 173-182. URL: <https://doi.org/10.1097/01.bor.0000198002.42826.c2>
42. Biologic and clinical significance of cryoglobulins / Brouet J, Clauvel J, Danon F et al. *Am J Med.* 1974. Vol. 57(5). P. 775-788. URL: [https://doi.org/10.1016/0002-9343\(74\)90852-3](https://doi.org/10.1016/0002-9343(74)90852-3)

43. Kolopp-Sarda M, Miossec P. Cryoglobulins: An update on detection, mechanisms and clinical contribution. *Autoimmun Rev.* 2018. Vol. 17(5). P. 457-464. URL: <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2017.11.035>
44. Basile U. CRYOGLOBULIN TEST AND CRYOGLOBULINEMIA HEPATITIS C-VIRUS RELATED. *Mediterr J Hematol Infect Dis.* 2016. Vol. 9(1). P. e2017007. URL: <https://doi.org/10.4084/mjhid.2017.007>
45. Role of monocytes in cryoglobulinemia-associated nephritis / Roccatello D, Isidoro C, Mazzucco G et al. *Kidney Int.* 1993. Vol. 43(5). P. 1150-1155. URL: <https://doi.org/10.1038/ki.1993.161>
46. Cryoglobulinaemia / Roccatello D, Saadoun D, Ramos-Casals M et al. *Nature Reviews Disease Primers.* 2018. Vol. 4(1). URL: <https://doi.org/10.1038/s41572-018-0009-4>
47. Распространенность и факторы риска развития криоглобулинемии, ассоциированной с хроническим гепатитом С / Дунаева, Н. В., Неустроева, Ю. А., Тихомирова, Т. А. и др. *Медицинская иммунология.* 2007. № 9 (6). С. 575-580.
48. The association of cryoglobulinaemia with sustained virological response in patients with chronic hepatitis C / Vigani A, Macedo de Oliveira A, Tozzo R et al. *J Viral Hepat.* 2010. Vol. 18(4). P. e91-e98. URL: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2893.2010.01385.x>
49. Ghetie D, Mehraban N, Sibley C. Cold Hard Facts of Cryoglobulinemia. *Rheumatic Disease Clinics of North America.* 2015. Vol. 41(1). P. 93-108. URL: <https://doi.org/10.1016/j.rdc.2014.09.008>
50. Extrahepatic manifestations of chronic hepatitis C virus infection / Cacoub P, Gragnani L, Comarmond C et al. *Digestive and Liver Disease.* 2014. Vol. 46. S165-S173. URL: <https://doi.org/10.1016/j.dld.2014.10.005>
51. IgA rheumatoid factor in patients with chronic HCV infection: prevalence and clinical correlations / Toubi E, Zuckerman E, Kessel A et al. *Clinical and Experimental Rheumatology.* 2003. Vol. 21(4). P. 524

52. The expanding spectrum of HCV-related cryoglobulinemic vasculitis: a narrative review/ Dammacco F, Racanelli V, Russi S et al. *Clin Exp Med*. 2016. Vol. 16(3). P. 233-242. URL: <https://doi.org/10.1007/s10238-016-0410-9>
53. Desbois A, Cacoub P, Saadoun D. Cryoglobulinemia: An update in 2019. *Joint Bone Spine*. 2019. Vol. 86(6). P. 707-713. URL: <https://doi.org/10.1016/j.jbspin.2019.01.016>
54. Golovach I, Yegudina Y. Cryoglobulinemia and cryoglobulinemic vasculitis: etiological aspects and pathophysiological associations. *Modern Rheumatology Journal*. 2020. Vol. 14(1). P. 78-84. URL: <https://doi.org/10.14412/1996-7012-2020-1-78-84>
55. Extrahepatic manifestations associated with Chronic Hepatitis C Virus Infection / Flores-Chávez, A., Carrion, J. A., Forns, X. et al. *Revista española de sanidad penitenciaria*. 2017. Vol. 19(3). P. 87–97. URL: <https://doi.org/10.4321/S1575-06202017000300004>
56. Cryoglobulinemic vasculitis and glomerulonephritis / Chen, Y., Cheng, H., Rui, H et al. *Chinese Medical Journal*. 2019. Vol. 132(14). P. 1723-1732. URL: <https://doi.org/10.1097/cm9.0000000000000325>
57. Cryoglobulinemia—A clinical and laboratory study / Meltzer, M., Franklin, E., Elias, K. et al. *The American Journal Of Medicine*. 1966. Vol. 40(6). P. 837-856. URL: [https://doi.org/10.1016/0002-9343\(66\)90200-2](https://doi.org/10.1016/0002-9343(66)90200-2)
58. Cryoglobuline et facteurs associés chez le patient porteur de l'anticorps du virus de l'hépatite C dans un pays à ressources limitées / Bagnaka Eloumou, S., Nda Mefo'o, J., Bekolo Nga, W. et al. *Pan African Medical Journal*. 2019. Vol. 33. URL: <https://doi.org/10.11604/pamj.2019.33.169.19162>
59. Early diagnosis of primary Sjögren's syndrome: EULAR-SS task force clinical recommendations / Brito-Zerón, P., Theander, E., Baldini, C et al. *Expert Review Of Clinical Immunology*. 2015. Vol. 12(2). P. 137-156. URL: <https://doi.org/10.1586/1744666x.2016.1109449>

60. Mariette, X., & Criswell, L. Primary Sjögren's Syndrome. *New England Journal Of Medicine*. 2018. Vol. 378(10). P. 931-939. URL: <https://doi.org/10.1056/nejmcp1702514>
61. Incidence and antiviral response of hepatitis C virus reactivation in lupus patients undergoing immunosuppressive therapy / Chen, M., Chen, M., Tsai, C. et al. *Lupus*. 2015. Vol. 24(10). P. 1029-1036. URL: <https://doi.org/10.1177/0961203315571465>
62. International diagnostic guidelines for patients with HCV-related extrahepatic manifestations. A multidisciplinary expert statement / Ferri, C., Ramos-Casals, M., Zignego, A. L. et al. *Autoimmunity Reviews*. 2016. Vol. 15(12). P. 1145–1160. URL: [doi:10.1016/j.autrev.2016.09.006](https://doi.org/10.1016/j.autrev.2016.09.006)
63. Incidence of thyroid disorders in mixed cryoglobulinemia: Results from a longitudinal follow-up / Fallahi, P., Ferrari, S., Ruffilli, I. et al. *Autoimmunity Reviews*. 2016. Vol. 15(7). P. 747-751. URL: <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2016.03.012>
64. Desbois, A., Cacoub, P. Diabetes mellitus, insulin resistance and hepatitis C virus infection: A contemporary review. *World Journal Of Gastroenterology*. 2017. Vol. 23(9). P. 1697. URL: <https://doi.org/10.3748/wjg.v23.i9.1697>
65. Singh, A., Singh, S., & Matteson, E. Rate, risk factors and causes of mortality in patients with Sjögren's syndrome: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. *Rheumatology*. 2015. Vol. kev354. URL: <https://doi.org/10.1093/rheumatology/kev354>
66. How hepatitis C virus modifies the immunological profile of Sjögren syndrome: analysis of 783 patients / Brito-Zerón, P., Gheitasi, H., Retamozo, S. et al. *Arthritis Research & Therapy*. 2015. Vol. 17(1). URL: <https://doi.org/10.1186/s13075-015-0766-3>
67. Hepatitis C virus infection and the risk of Sjögren or sicca syndrome: a meta-analysis/ Wang, Y., Dou, H., Liu, G. et al. *Microbiology And Immunology*. 2014. Vol. 58(12). P. 675-687. URL: <https://doi.org/10.1111/1348-0421.12202>

68. Derivation and validation of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics classification criteria for systemic lupus erythematosus / Petri, M., Orbai, A., Alarcón, G. et al. *Arthritis & Rheumatism*. 2012. Vol. 64(8). P. 2677-2686. URL: <https://doi.org/10.1002/art.34473>

69., Giuggioli, D., Ferri, C., & Antonelli, A. (2014). Autoimmune and Neoplastic Thyroid Diseases Associated with Hepatitis C Chronic Infection / Fallahi, P., Ferrari, S., Politti, U. et al. *International Journal Of Endocrinology*. 2014. P. 1-9. URL: <https://doi.org/10.1155/2014/935131>

70. Notch4 and mhc class II polymorphisms are associated with hcv-related benign and malignant lymphoproliferative diseases / Gragnani, L., Fognani, E., De Re, V. et al. *Oncotarget*. 2017. Vol. 8(42). P. 71528-71535. URL: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.17655>

71. Genome-wide association study of hepatitis C virus- and cryoglobulin-related vasculitis / Zignego, A., Wojcik, G., Cacoub, P. et al. *Genes & Immunity*. 2014. Vol. 15(7). P. 500-505. URL: <https://doi.org/10.1038/gene.2014.41>

72. Константинова Н. А., Кирсанов А. Ю. Оценка криоглобулинов в сыворотке крови с учетом циркулирующих иммунных комплексов. *Лабораторное дело*. 1989. №11. С. 62-65.

73. Reference, G. What are single nucleotide polymorphisms (SNPs)?. *Genetics Home Reference*. URL: <https://ghr.nlm.nih.gov/primer/genomicresearch/snp> (Last accessed: 25.08.2020).

74. single nucleotide polymorphism / SNP | Learn Science at Scitable. *Nature.com*. <https://www.nature.com/scitable/definition/snp-295/>. (Last accessed: 25.08.2020).

75. Zhao, S., Zhang, W., & Nie, X. Association of  $\beta$ 2-adrenergic receptor gene polymorphisms (rs1042713, rs1042714, rs1042711) with asthma risk: a systematic review and updated meta-analysis. *BMC Pulmonary Medicine*. 2019. Vol. 19(1). URL: <https://doi.org/10.1186/s12890-019-0962-z>



76. Association of CD14 –159 (–260C/T) polymorphism and asthma risk / Wang, D., Yang, Y., Xu, J. Et al. *Medicine*. 2016. Vol. 95(39). P. e4959. URL: <https://doi.org/10.1097/md.0000000000004959>
77. A meta-analysis of the association between CTLA-4 genetic polymorphism and susceptibility of asthma / Zheng, Y., Wang, H., Luo, L et al. *Medicine*. 2018. Vol. 97(28). P. e11380. URL: <https://doi.org/10.1097/md.00000000000011380>
78. Association between ADAM33 polymorphisms and asthma risk: a systematic review and meta-analysis / Li, H., Yan, L., Wang, K. et al. *Respiratory Research*. 2019. Vol. 20(1). URL: <https://doi.org/10.1186/s12931-019-1006-1>
79. Association of polymorphisms in TLR2 and TLR4 with asthma risk / Zhao, J., Shang, H., Cao, X. Et al. *Medicine*. 2017. Vol. 96(35). P. e7909. URL: <https://doi.org/10.1097/md.0000000000007909>
80. Association of single-nucleotide polymorphisms in toll-like receptor 2 gene with asthma susceptibility / Gao, Y., Xiao, H., Wang, Y. et al. *Medicine*. 2017. Vol. 96(20). P. e6822. URL: <https://doi.org/10.1097/md.0000000000006822>
81. Multiancestry association study identifies new asthma risk loci that colocalize with immune-cell enhancer marks / Demenais, F., Margaritte-Jeannin, P., Barnes, K. et al. *Nature Genetics*. 2017. Vol. 50(1). P. 42-53. URL: <https://doi.org/10.1038/s41588-017-0014-7>
82. Treatment response heterogeneity in asthma: the role of genetic variation / Vijverberg, S., Farzan, N., Slob, E. et al. *Expert Review Of Respiratory Medicine*. 2017. Vol. 12(1). P. 55-65. URL: <https://doi.org/10.1080/17476348.2018.1403318>
83. Association between AIRE gene polymorphism and rheumatoid arthritis: a systematic review and meta-analysis of case-control studies / Bérczi, B., Gerencsér, G., Farkas, N. et al. *Scientific Reports*. 2017. Vol. 7(1). URL: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-14375-z>

84. Association of microRNAs genes polymorphisms with arthritis: a systematic review and meta-analysis / Xiao, Y., Liu, H., Chen, L. et al. *Bioscience Reports*. 2019. Vol. 39(7). URL: <https://doi.org/10.1042/bsr20190298>

85. Association of PTPN22 1858C/T Polymorphism with Autoimmune Diseases: A Systematic Review and Bayesian Approach / Tizaoui, K., Kim, S., Jeong, G. et al. *Journal Of Clinical Medicine*. 2019. Vol. 8(3). P. 347. URL: <https://doi.org/10.3390/jcm8030347>

86. Are gene polymorphisms related to adverse events of methotrexate in patients with rheumatoid arthritis? A retrospective cohort study based on an updated meta-analysis / Huang, J., Fan, H., Qiu, Q. et al. *Therapeutic Advances In Chronic Disease*. 2020. Vol. 11. P. 204062232091602. URL: <https://doi.org/10.1177/2040622320916026>

87. Meta-analysis of the relationship between single nucleotide polymorphism of IL-10-1082G/A and rheumatic heart disease / Dai, W., Ye, Z., Lu, H. et al. *Oncotarget*. 2018. Vol. 9(15). P. 12343-12350. URL: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.23901>

88. Novel gene variants associated with cardiovascular disease in systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis / Leonard, D., Svenungsson, E., Dahlqvist, J. et al. *Annals Of The Rheumatic Diseases*. 2018. Vol. 77(7). P. 1063-1069. URL: <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2017-212614>

89. Li, J. Interleukin-17 SNPs and serum levels increase ulcerative colitis risk: A meta-analysis. *World Journal Of Gastroenterology*. 2014. Vol. 20(42). P. 15899. URL: <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i42.15899>

90. Role of IL-17A rs2275913 and IL-17F rs763780 polymorphisms in risk of cancer development: an updated meta-analysis / Dai, Z., Zhang, T., Lin, S. et al. *Scientific Reports*. 2016. Vol. 6(1). URL: <https://doi.org/10.1038/srep20439>

91. Interleukin-6 and interleukin-17 gene polymorphism association with celiac disease in children / Akbulut U, Cebi A, Sag E et al. *The Turkish Journal of Gastroenterology*. 2017. Vol. 28(6). P. 471-475. URL: <https://doi.org/10.5152/tjg.2017.17092>

92. Serum Soluble Interleukin-2 Receptor, Interleukin-6 and Tumor Necrosis Factor Alpha as Markers of Celiac Disease Activity / Kapoor A, Patwari A, Kumar P et al. *The Indian Journal of Pediatrics*. 2012. Vol. 80(2). P. 108-113. URL: <https://doi.org/10.1007/s12098-012-0830-9>

93. Onishchenko, N., Riabokon, Y., & Riabokon, O. The role of interleukin-10 gene polymorphism (rs 1800872) in the course of herpes zoster in adults. *Pathologia*. 2018. Vol. 0(3). URL: <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2018.3.151810>

94. Коваль Т. І. ВІЛ-інфекція і хронічний гепатит С у коінфікованих пацієнтів: клініко-епідеміологічна характеристика та оптимізація лікувально-діагностичної тактики : автореф. дис на здобуття наук. ступеня д-ра. м. наук : 14.01.13. Харків, 2018. 45 с.

95. Литвин К.Ю. ВІЛ-асоційовані інфекційні ураження головного мозку: клініко-імунологічні, морфологічні характеристики, діагностика та лікування : автореф. дис на здобуття наук. ступеня д-ра. м. наук : 14.01.13. Вінниця, 2019. 48 с.

96. Investigation of rs11536889 + 3725G/C Polymorphism of the TLR4 Gene in Patients with Autoimmune and Chronic Viral Hepatitis C / Kucherenko, A., Moroz, L., Bevz, T. et al. *Cytology And Genetics*. 2019. Vol. 53(4). P. 300-306. URL: <https://doi.org/10.3103/s0095452719040078>

97. Вплив поліморфізму генів TLR4 та TLR7 на швидкість прогресування фіброзу печінки у хворих на хронічний гепатит С / Г. М. Дубинська, Л. М. Сизова, Т. І. Коваль та ін. *Гепатологія*. 2016. № 1. С. 23-32. - Режим доступу: [http://nbuv.gov.ua/UJRN/gepat\\_2016\\_1\\_4](http://nbuv.gov.ua/UJRN/gepat_2016_1_4).

98. Genome-Wide Association Study of Spontaneous Resolution of Hepatitis C Virus Infection: Data From Multiple Cohorts / Duggal, P., Thio, C., Wojcik, G. et al. *Annals Of Internal Medicine*. Vol. 158(4). P. 235. URL: <https://doi.org/10.7326/0003-4819-158-4-201302190-00003>

99. Genetic Variation in IL28B Is Associated With Chronic Hepatitis C and Treatment Failure: A Genome-Wide Association Study / Rauch, A., Kutalik, Z.,

Descombes, P. et al. *Gastroenterology*. 2010. Vol. 138(4). P. 1338-1345.e7. URL: <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2009.12.056>

100. Genetic variation in IL28B and spontaneous clearance of hepatitis C virus / Thomas, D., Thio, C., Martin, M. et al. *Nature*. 2009. Vol. 461(7265). P. 798-801. URL: <https://doi.org/10.1038/nature08463>

101. Multi-Ancestry Genome-Wide Association Study of Spontaneous Clearance of Hepatitis C Virus / Vergara, C., Thio, C., Johnson, E. et al. *Gastroenterology*. 2019. Vol. 156(5). P. 1496-1507.e7. URL: <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2018.12.014>

102. Genetic Polymorphisms of IL28B and PNPLA3 Are Predictive for HCV Related Rapid Fibrosis Progression and Identify Patients Who Require Urgent Antiviral Treatment with New Regimens / Tamaki, N., Kurosaki, M., Higuchi, M. et al. *PLOS ONE*. 2015. Vol. 10(9). P. e0137351. URL: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0137351>

103. Tumor necrosis factor- $\alpha$  -G308A polymorphism is associated with liver pathological changes in hepatitis C virus patients / Bader El Din, N., Farouk, S., El-Shenawy, R. et al. *World Journal Of Gastroenterology*. 2016. Vol. 22(34). P. 7767. URL: <https://doi.org/10.3748/wjg.v22.i34.7767>

104. Tolloid-like 1 genetic variants determine fibrosis regression in chronic hepatitis C patients with curative antivirals / Huang, C., Yeh, M., Huang, C. et al. *Scientific Reports*. 2018. Vol. 8(1). URL: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-33448-1>

105. Wang, X., Yan, Z., & Ye, Q. Interleukin-6 gene polymorphisms and susceptibility to liver diseases. *Medicine*. 2019. Vol. 98(50). P. e18408. URL: <https://doi.org/10.1097/md.00000000000018408>

106. The IL7RA rs6897932 polymorphism is associated with progression of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C: Repeated measurements design / Jiménez-Sousa, M., Gómez-Moreno, A., Pineda-Tenor, D. et al. *PLOS ONE*. 2018. Vol. 13(5). P. e0197115. URL: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197115>

107. BEESON PB. Temperature-elevating effect of a substance obtained from polymorphonuclear leucocytes. *J Clin Invest.* 1948. Vol. 27(4). P. 524.

108. McInnes, I. Cytokines. *Kelley And Firestein's Textbook Of Rheumatology.* 2017. P. 396-407. URL: <https://doi.org/10.1016/b978-0-323-31696-5.00026-7>

109. Zhang, J., & An, J. Cytokines, Inflammation, and Pain. *International Anesthesiology Clinics.* 2007. Vol. 45(2). P. 27-37. URL: <https://doi.org/10.1097/aia.0b013e318034194e>

110. Changes of interleukins level in the early posttraumatic period in victims with thoracoabdominal injuries (In Russ) / Sorokin, E., Butolin, Y., Shilyaeva, Y. et al. *Journal Of Ural Medical Academic Science.* 2017. Vol. 14(4). P. 375–380. URL: <https://doi.org/10.22138/2500-0918-2017-14-4-375-380>

111. Identification of Interleukin-1 by Functional Screening as a Key Mediator of Cellular Expansion and Disease Progression in Acute Myeloid Leukemia / Carey, A., Edwards, D., Eide, C. et al. *Cell Reports.* 2017. Vol. 18(13). P. 3204-3218. URL: <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2017.03.018>

112. Relationship of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-10 with the development of fatal and non-fatal complications in patients with essential hypertension during mid-term follow-up / Polupanov, A., Zalova, T., Rysmatova, F. et al. *Arterial Hypertension.* 2019. Vol. 25(5). P. 540-548. URL: <https://doi.org/10.18705/1607-419x-2019-25-5-540-548>

113. Ridgley L, Anderson A, Pratt A. What are the dominant cytokines in early rheumatoid arthritis?. *Curr Opin Rheumatol.* 2018. Vol. 30(2). P. 207-214. URL: <https://doi.org/10.1097/bor.0000000000000470>

114. Firestein G, McInnes I. Immunopathogenesis of Rheumatoid Arthritis. *Immunity.* 2017. Vol. 46(2). P. 183-196. URL: <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2017.02.006>

115. Secukinumab in Active Rheumatoid Arthritis: A Phase III Randomized, Double-Blind, Active Comparator– and Placebo-Controlled Study /

Blanco F, Möricke R, Dokoupilova E et al. *Arthritis & Rheumatology*. 2017. Vol. 69(6). P. 1144-1153. URL: <https://doi.org/10.1002/art.40070>

116. A randomised trial evaluating anakinra in early active rheumatoid arthritis / Scott, I. C., Ibrahim, F., Simpson, G. et al. *Clinical and experimental rheumatology*. 2016. Vol. 34(1). P. 88–93.

117. A randomised phase II study evaluating the efficacy and safety of subcutaneously administered ustekinumab and guselkumab in patients with active rheumatoid arthritis despite treatment with methotrexate / . Smolen, J., Agarwal, S., Ilivanova, E. et al. *Annals Of The Rheumatic Diseases*. 2017. Vol. 76(5). P. 831-839. URL: <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2016-209831>

118. Moulton, V., & Tsokos, G. T cell signaling abnormalities contribute to aberrant immune cell function and autoimmunity. *Journal Of Clinical Investigation*. 2015. Vol. 125(6). P. 2220-2227. URL: <https://doi.org/10.1172/jci78087>

119. New insights into the immunopathogenesis of systemic lupus erythematosus / Tsokos, G., Lo, M., Reis, P. et al. *Nature Reviews Rheumatology*. 2016. Vol. 12(12). P. 716-730. URL: <https://doi.org/10.1038/nrrheum.2016.186>

120. IL-2 Protects Lupus-Prone Mice from Multiple End-Organ Damage by Limiting CD4–CD8– IL-17–Producing T Cells / Mizui, M., Koga, T., Lieberman, L. et al. *The Journal Of Immunology*. 2014. Vol. 193(5). P. 2168-2177. URL: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1400977>

121. Edwards, L., Mizui, M., & Kyttaris, V. Signal transducer and activator of transcription (STAT) 3 inhibition delays the onset of lupus nephritis in MRL/lpr mice. *Clinical Immunology*. 2015. Vol. 158(2). P. 221-230. URL: <https://doi.org/10.1016/j.clim.2015.04.004>

122. Soliman, S., & Mohan, C. Lupus nephritis biomarkers. *Clinical Immunology*. 2017. Vol. 185. P. 10-20. URL: <https://doi.org/10.1016/j.clim.2016.08.001>

123. Mok, C. Towards new avenues in the management of lupus glomerulonephritis. *Nature Reviews Rheumatology*. 2016. Vol. 12(4). P. 221-234. URL: <https://doi.org/10.1038/nrrheum.2015.174>

124. The model of circulating immune complexes and interleukin-6 improves the prediction of disease activity in systemic lupus erythematosus / Thanadetsuntorn, C., Ngamjanyaporn, P., Setthaudom, C. et al. *Scientific Reports*. 2018. Vol. 8(1). URL: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-20947-4>

125. IFN- $\lambda$ 1 with Th17 axis cytokines and IFN- $\alpha$  define different subsets in systemic lupus erythematosus (SLE) / Oke, V., Brauner, S., Larsson, A. et al. *Arthritis Research & Therapy*. 2017. Vol. 19(1). URL: <https://doi.org/10.1186/s13075-017-1344-7>

126. Plasma Inflammatory Cytokine IL-4, IL-8, IL-10, and TNF- $\alpha$  Levels Correlate with Pulmonary Function in Patients with Asthma-Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD) Overlap Syndrome / Huang, A., Lu, L., Liu, W. et al. *Medical Science Monitor*. 2016. Vol. 22. P. 2800-2808. URL: <https://doi.org/10.12659/msm.896458>

127. Associations of IL-4, IL-6, and IL-12 levels in peripheral blood with lung function, cellular immune function, and quality of life in children with moderate-to-severe asthma / Cui, A., Zhao, J., Liu, S. et al. *Medicine*. 2017. Vol. 96(12). P. e6265. URL: <https://doi.org/10.1097/md.0000000000006265>

128. Inflammatory Cytokines and T-Lymphocyte Subsets in Serum and Sputum in Patients with Bronchial Asthma and Chronic Obstructive Pulmonary Disease / Bai, Y., Zhou, Q., Fang, Q. et al. *Medical Science Monitor*. 2019. Vol. 25. P. 2206-2210. URL: <https://doi.org/10.12659/msm.913703>

129. The Intriguing Role of Interleukin 13 in the Pathophysiology of Asthma / Marone, G., Granata, F., Pucino, V. et al. *Frontiers In Pharmacology*. 2019. Vol. 10. URL: <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.01387>

130. Evasovic, J., & Singer, C. Regulation of IL-17A and implications for TGF- $\beta$ 1 comodulation of airway smooth muscle remodeling in severe asthma. *American Journal Of Physiology-Lung Cellular And Molecular*

*Physiology*. 2019. Vol. 316(5). L843-L868. URL:  
<https://doi.org/10.1152/ajplung.00416.2018>

131. Efficacy and safety of lebrikizumab in patients with uncontrolled asthma (LAVOLTA I and LAVOLTA II): replicate, phase 3, randomised, double-blind, placebo-controlled trials / Hanaia, N., Korenblat, P., Chapman, K. et al. *The Lancet Respiratory Medicine*. 2016. Vol. 4(10). P. 781-796. URL:  
[https://doi.org/10.1016/s2213-2600\(16\)30265-x](https://doi.org/10.1016/s2213-2600(16)30265-x)

132. Efficacy and safety of tralokinumab in patients with severe uncontrolled asthma: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2b trial / Brightling, C., Chanez, P., Leigh, R. et al. *The Lancet Respiratory Medicine*. 2015. Vol. 3(9). P. 692-701. URL: [https://doi.org/10.1016/s2213-2600\(15\)00197-6](https://doi.org/10.1016/s2213-2600(15)00197-6)

133. Benralizumab, an anti-interleukin-5 receptor  $\alpha$  monoclonal antibody, as add-on treatment for patients with severe, uncontrolled, eosinophilic asthma (CALIMA): a randomised, double-blind, placebo-controlled phase 3 trial / FitzGerald, J., Bleecker, E., Nair, P. et al. *The Lancet*. 2016. Vol. 388(10056). P. 2128-2141. URL: [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(16\)31322-8](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(16)31322-8)

134. Serum and Synovial Fluid Interleukin-6 for the Diagnosis of Periprosthetic Joint Infection / Xie K, Dai K, Qu X et al. *Sci Rep*. 2017. Vol. 7(1). URL: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-01713-4>

135. Pankov, I., Gabdullin, M., & Emelin, A. Study of interleukin-6 in patients with severe trauma of the lower extremities complicated by fat embolism syndrome. *Modern Problems Of Science And Education*. 2016. Vol. 2. <https://www.science-education.ru/en/article/view?id=24272> (Last accessed: 25.08.2020).

136. Role of Interleukin-6 as an Early Marker of Fat Embolism Syndrome: A Clinical Study / Prakash, S., Sen, R., Tripathy, S. et al. *Clinical Orthopaedics And Related Research*. 2013. Vol. 471(7). P. 2340-2346. URL: <https://doi.org/10.1007/s11999-013-2869-y>

137. Gomolak J, Didion S. Angiotensin II-induced endothelial dysfunction is temporally linked with increases in interleukin-6 and vascular macrophage



accumulation. *Front Physiol.* 2014. Vol. 5. URL: <https://doi.org/10.3389/fphys.2014.00396>

138. Interleukin-6 (IL-6) Trans Signaling Drives a STAT3-dependent Pathway That Leads to Hyperactive Transforming Growth Factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) Signaling Promoting SMAD3 Activation and Fibrosis via Gremlin Protein / O'Reilly S, Ciechomska M, Cant R et al. *Journal of Biological Chemistry.* 2014. Vol. 289(14). P. 9952-9960. URL: <https://doi.org/10.1074/jbc.m113.545822>

139. Due to interleukin-6 type cytokine redundancy only glycoprotein 130 receptor blockade efficiently inhibits myeloma growth / Burger R, Günther A, Klausz K et al. *Haematologica.* 2016. Vol. 102(2). P. 381-390. URL: <https://doi.org/10.3324/haematol.2016.145060>

140. Culig Z, Pühr M. Interleukin-6: A multifunctional targetable cytokine in human prostate cancer. *Mol Cell Endocrinol.* 2012. Vol. 360(1-2). P. 52-58. URL: <https://doi.org/10.1016/j.mce.2011.05.033>

141. Diagnostic usefulness of serum interleukin 6 (IL-6) and C-reactive protein (CRP) in the differentiation between pancreatic cancer and chronic pancreatitis / Mroczko B, Groblewska M, Gryko M et al. *J Clin Lab Anal.* 2010. Vol. 24(4). P. 256-261. URL: <https://doi.org/10.1002/jcla.20395>

142. Interleukin-6 and its receptor, key players in hepatobILIary inflammation and cancer / Johnson C, Han YY, Nathan H et al. *Transl Gastrointest Cancer.* 2012. Vol. 1. P. 58-70. URL: <https://doi.org/10.3978/j.issn.2224-4778.2011.11.02>

143. Serum Levels of Interleukin-6 and Interleukin-10 as Biomarkers for Hepatocellular Carcinoma in Egyptian Patients / Othman, M., Aref, A., Mohamed, A. et al. *ISRN Hepatology.* 2013. P. 1-9. URL: <https://doi.org/10.1155/2013/412317>

144. Role of interleukin-17 in the pathogenesis of perianal abscess and anal fistula: a clinical study on 50 patients with perianal abscess / Wang, J., Cai, C., Du, J. et al. *ANZ Journal Of Surgery.* 2018. Vol. 89(3). P. 244-247. URL: <https://doi.org/10.1111/ans.14874>

145. Targeting the tumor microenvironment: The protumor effects of IL-17 related to cancer type / Fabre J., Giustiniani J., Garbar C. et al. *Int. J. Mol. Sci.* 2016. Vol. 17. P. 1433. URL: <https://doi.org/10.3390/ijms17091433>.
146. A focus on IL-17 targeting treatments in psoriasis / Fabre J., Giustiniani J., Antonicelli F. et al. *J. Dermatol. Res.* 2016. Vol. 2. P. 1–5. URL: <https://doi.org/10.17554/j.issn.2413-8223.2016.01.10>
147. Biomarkers related to bullous pemphigoid activity and outcome / Giusti, D., Le Jan, S., Gatouillat, G. et al. *Experimental Dermatology.* 2017. Vol. 26(12). P. 1240-1247. URL: <https://doi.org/10.1111/exd.13459>.
148. IL-17: A promising therapeutic target for atherosclerosis / Fan, Z., Yang, J., Yang, C. et al. *International Journal Of Cardiology.* 2016. Vol. 202. P. 930-931. URL: <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2015.08.195>
149. Heterogeneous expression pattern of interleukin 17A (IL-17A), IL-17F and their receptors in synovium of rheumatoid arthritis, psoriatic arthritis and osteoarthritis: possible explanation for nonresponse to anti-IL-17 therapy? / van Baarsen L, Lebre M, van der Coelen D et al. *Arthritis Res Ther.* 2014. Vol. 16(4). URL: <https://doi.org/10.1186/s13075-014-0426-z>
150. IL-17 response mediates acute lung injury induced by the 2009 Pandemic Influenza A (H1N1) Virus / Li, C., Yang, P., Sun, Y. et al. *Cell Research.* 2011. Vol. 22(3). P. 528-538. URL: <https://doi.org/10.1038/cr.2011.165>
151. Interleukin-17 as a predictor of sepsis in polytrauma patients: a prospective cohort study / Ahmed Ali, M., Mikhael, E., Abdelkader, A. et al. *European Journal Of Trauma And Emergency Surgery.* 2017. Vol. 44(4). P. 621-626. URL: <https://doi.org/10.1007/s00068-017-0841-3>
152. IL-17A Plays a Critical Role in the Pathogenesis of Liver Fibrosis through Hepatic Stellate Cell Activation / Tan, Z., Qian, X., Jiang, R. et al. *The Journal Of Immunology.* 2013. Vol. 191(4). P. 1835-1844. URL: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1203013>
153. IL-17 contributes to autoimmune hepatitis. Journal Of Huazhong University Of Science And Technology / Yu, H., Huang, J., Liu, Y. et al. *Medical*

*Sciences*. 2010. Vol. 30(4). P. 443-446. URL: <https://doi.org/10.1007/s11596-010-0446-0>

154. Th17 cells are increased with severity of liver inflammation in patients with chronic hepatitis C / Chang, Q., Wang, Y., Zhao, Q. et al. *Journal Of Gastroenterology And Hepatology*. 2012. Vol. 27(2). P. 273-278. URL: <https://doi.org/10.1111/j.1440-1746.2011.06782.x>

155. The proportion of different interleukin-17-producing T-cell subsets is associated with liver fibrosis in chronic hepatitis C / Cachem, F., Dias, A., Monteiro, C. et al. *Immunology*. 2017. Vol. 151(2). P. 167-176. URL: <https://doi.org/10.1111/imm.12720>

156. Булатова И. А. Исследование интерлейкина-17 и полиморфизма гена интерлейкина-17f (rs763780) при хроническом гепатите С. *Пермский медицинский журнал*. 2014. № 31 (1). С. 103-108.

157. Direct-Acting Antiviral–Induced Hepatitis C Virus Clearance Does Not Completely Restore the Altered Cytokine and Chemokine MILieu in Patients With Chronic Hepatitis C / Hengst, J., Falk, C., Schlaphoff, V. et al. *Journal Of Infectious Diseases*. 2016. Vol. 214(12). P. 1965-1974. URL: <https://doi.org/10.1093/infdis/jiw457>

158. Cytokine profile in chronic hepatitis C: An observation / Baskic, D., Vukovic, V., Popovic, S. et al. *Cytokine*. 2017. Vol. 96. P. 185-188. URL: <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2017.04.008>

159. Schaalán, M. Vitamin D deficiency: Correlation to interleukin-17, interleukin-23 and PIIINP in hepatitis C virus genotype 4. *World Journal Of Gastroenterology*. 2012. Vol. 18(28). P. 3738. URL: <https://doi.org/10.3748/wjg.v18.i28.3738>

160. Correlates of Elevated Interleukin-6 and C-Reactive Protein in Persons With or at High Risk for HCV and HIV Infections / Salter, M., Lau, B., Mehta, S. et al. *Journal Of Acquired Immune Deficiency Syndromes*. 2013. Vol. 64(5). P. 488-495. URL: <https://doi.org/10.1097/qai.0b013e3182a7ee2e>

161. Association of HIV, hepatitis C virus and liver fibrosis severity with interleukin-6 and C-reactive protein levels / Shah, S., Ma, Y., Scherzer, R. et al. *AIDS*. 2015. Vol. 29(11). P. 1325–1333. URL: <https://doi.org/10.1097/qad.0000000000000654>

162. Content of interleukins-4, 6 and nuclear transcription factor NF- $\kappa$ B in children with atopic bronchial asthma depending on Ile50Val polymorphism of IL4RA gene, severity of the disease course and level of its control / Dudnyk, V., Moroz, L., Zaichko, N. et al. *Zaporozhye Medical Journal*. 2019. Vol. 0(1). URL: <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2019.1.155818>

163. Бекенова Н. Б., Гржибовский А. М., Муковозова Л. А. Ассоциация полиморфизма rs 2275913 гена ИЛ-17 а с уровнем ИЛ-17 а при роже у лиц казахской национальности. *Вестник Казахского Национального медицинского университета*. 2016. № (1). С. 119-122.

164. Полиморфизм rs8193036 гена ИЛ-17А в казахской популяции и его связь с продукцией ИЛ-17А у больных рожей / Бекенова Н. Б., Гржибовский А. М., Муковозова Л. А. и др. *Экология человека*. 2016. № (4). С. 50-55.

165. The association between interleukin-1 polymorphisms and their protein expression in Chinese Han patients with breast cancer / Wang, J., Shi, Y., Wang, G. et al. *Molecular Genetics & Genomic Medicine*. 2019. Vol. 7(8). URL: <https://doi.org/10.1002/mgg3.804>

166. Гусейнов Е. М. Клініко-епідеміологічна характеристика, діагностика, лікування та прогноз гострого бруцельозу : автореф. дис на здобуття наук. ступеня д-ра. м. наук : 14.01.13. Вінниця, 2019. 40 с

167. Individualized treatment strategies and predictors of virological response for chronic hepatitis C: a multicenter prospective study from China / Nan, Y. M., Zhang, Y. G., Zheng, H. W. et al. *International journal of clinical and experimental medicine*. 2015. Vol. 8(9). P. 14871–14884

168. Polymorphisms of  $\alpha$ 1-antitrypsin and Interleukin-6 genes and the progression of hepatic cirrhosis in patients with a hepatitis C virus infection /

Motawi, T., Shaker, O., Hussein, R. et al. *Balkan Journal Of Medical Genetics*. 2016. Vol. 19(2). P. 35-44. URL: <https://doi.org/10.1515/bjmg-2016-0034>

169. Genetic polymorphisms of interleukin-6 modulate fibrosis progression in mild chronic hepatitis C / Falletti, E., Fabris, C., Vandelli, C. et al. *Human Immunology*. 2010. Vol. 71(10). P. 999-1004. URL: <https://doi.org/10.1016/j.humimm.2010.06.006>

170. Telaprevir for Retreatment of HCV Infection / Zeuzem, S., Andreone, P., Pol, S. et al. *New England Journal Of Medicine*. 2011. Vol. 364(25). P. 2417-2428. URL: <https://doi.org/10.1056/nejmoa1013086>

171. A brief history of the treatment of viral hepatitis C / Doris B., Strader M.D., Leonard B. et al. *Clinical Liver Disease*. 2012. Vol.1 (1). P. 6-11. URL: <https://doi.org/10.1002/cld.1>

172. Pegylated Interferon- $\alpha$  Plus Ribavirin Therapy Improves Left Ventricular Diastolic Dysfunction in Patients With Chronic Hepatitis C Attaining Sustained Virological Response / Mohammed, A., Auckle, R., Li, H. et al. *The American Journal Of The Medical Sciences*. 2018. Vol. 355(6). P. 566-572. URL: <https://doi.org/10.1016/j.amjms.2018.02.001>

173. Efficacy and safety of pegylated interferon  $\alpha$  and ribavirin in patients monoinfected with HCV genotype 4 / Kozielowicz, D., Grabińska, A., Madej, G. et al. *Gastroenterology Review*. Vol. 13(1). P. 22-29. URL: <https://doi.org/10.5114/pg.2018.74558>

174. AASLD/IDSA/IAS-USA. HCV Guidance: Recommendations for Testing, Managing and Treating Hepatitis C. 2016. <http://www.hcvguidelines.org/> (Last accessed: 25.08.2020)

175. Adherence to PEG/ribavirin treatment for chronic hepatitis C: prevalence, patterns, and predictors of missed doses and nonpersistence / Evon, D., Esserman, D., Bonner, J. et al. *Journal Of Viral Hepatitis*. 2013. Vol. 20(8). P. 536-549. URL: <https://doi.org/10.1111/jvh.12079>

176. PEG-Interferon- $\alpha$  ribavirin-induced HCV viral clearance: a pharmacogenetic multicenter Spanish study / Milara, J., Outeda-Macias, M.,

Aumente-Rubio, M. D. et al. *Farmacia hospitalaria : organo oficial de expresion cientifica de la Sociedad Espanola de Farmacia Hospitalaria*. 2015. Vol. 39(1). P. 29–43. URL: <https://doi.org/10.7399/fh.2015.39.1.8547>

177. The effects of female sex, viral genotype, and IL28B genotype on spontaneous clearance of acute hepatitis C virus infection / Grebely, J., Page, K., Sacks-Davis, R. et al. *Hepatology*. 2013. Vol. 59(1). P. 109-120. URL: <https://doi.org/10.1002/hep.26639>

178. Patterns of Hepatitis C Virus RNA Levels during Acute Infection: The InC3 Study / Hajarizadeh, B., Grady, B., Page, K. et al. *PLOS ONE*. 2015. Vol. 10(4). P. e0122232. URL: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0122232>

179. Potential role for Interleukin-28B genotype in treatment decision-making in recent hepatitis C virus infection / Grebely, J., Petoumenos, K., Hellard, M. et al. *Hepatology*. 2010. Vol. 52(4). P. 1216-1224. URL: <https://doi.org/10.1002/hep.23850>

180. A Polymorphism Near IL28B Is Associated With Spontaneous Clearance of Acute Hepatitis C Virus and Jaundice / Tillmann, H., Thompson, A., Patel, K. et al. *Gastroenterology*. 2010. Vol. 139(5). P. 1586-1592.e1. URL: <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2010.07.005>

181. IL28B is associated with response to chronic hepatitis C interferon- $\alpha$  and ribavirin therapy / Suppiah, V., Moldovan, M., Ahlenstiel, G. et al. *Nature Genetics*. 2009. Vol. 41(10). P. 1100-1104.

182. The association of CCL3 and CCL4 polymorphisms with HCV clearance in Chinese Han population / Liu, M., Yue, M., Yao, Y. et al. *Gene*. 2018. Vol. 665. P. 35–40. URL: <https://doi.org/10.1016/j.gene.2018.04.079>

183. Interleukin 27 polymorphisms in HCV RNA positive patients: is there an impact on response to interferon therapy? / Zicca, E., Quirino, A., Marascio, N. et al. *BMC Infectious Diseases*. 2014. Vol. 14(5). S5. URL: <https://doi.org/10.1186/1471-2334-14-s5-s5>

184. Impact of IFNL4rs12979860 and rs8099917 polymorphisms on response to Peg-Interferon- $\alpha$  and Ribavirin in patients with congenital bleeding

disorder and chronic hepatitis C / Keshvari, M., Alavian, S., Behnava, B. et al. *Journal Of Clinical Laboratory Analysis*. 2016. Vol. 31(4). P. e22063. URL: <https://doi.org/10.1002/jcla.22063>

185. Vince, A., Duvnjak, M., & Kurelac, I. Preporuke za liječenje bolesnika s kroničnim hepatitisom C genotipa 1 [Treatment guidelines for patients with genotype 1 chronic hepatitis C infection]. *Acta medica Croatica : casopis Hrvatske akademije medicinskih znanosti*. 2013. Vol. 67(4). P. 329–338.

186. Harnois, D. Boceprevir for Previously Treated Chronic HCV Genotype 1 Infection. *Yearbook Of Gastroenterology*. 2011. P. 234-236. URL: <https://doi.org/10.1016/j.ygas.2011.07.059>

187. Telaprevir for Previously Untreated Chronic Hepatitis C Virus Infection / Jacobson, I., McHutchison, J., Dusheiko, G. et al. *New England Journal Of Medicine*. 2011. Vol. 364(25). P. 2405-2416. URL: <https://doi.org/10.1056/nejmoa1012912>

188. Response-Guided Telaprevir Combination Treatment for Hepatitis C Virus Infection / Sherman, K., Flamm, S., Afdhal, N. et al. *New England Journal Of Medicine*. 2011. Vol. 365(11). P. 1014-1024. URL: <https://doi.org/10.1056/nejmoa1014463>.

189. Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection / Gower, E., Estes, C., Blach, S. et al. *Journal Of Hepatology*. 2014. Vol. 61(1). P. S45-S57. URL: <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2014.07.027>

190. Keating, G. Ledipasvir/Sofosbuvir: A Review of Its Use in Chronic Hepatitis C. *Drugs*. 2015. Vol. 75(6). P. 675-685. URL: <https://doi.org/10.1007/s40265-015-0381-2>

191. Sofosbuvir plus pegylated interferon and ribavirin in patients with genotype 1 hepatitis C virus in whom previous therapy with direct-acting antivirals has failed / Pol, S., Sulkowski, M., Hassanein, T. et al. *Hepatology*. 2015. Vol. 62(1). P. 129-134. URL: <https://doi.org/10.1002/hep.27836>

192. Ferguson, M. Sofosbuvir with ribavirin is safe and effective in hepatitis C genotype 1 with unfavourable pretreatment characteristics. *Evidence*

*Based Medicine*. 2013. Vol. 19(3). P. 90-90. URL: <https://doi.org/10.1136/eb-2013-101592>

193. Fabrizi, F., Dixit, V., & Messa, P. Antiviral therapy of symptomatic HCV-associated mixed cryoglobulinemia: Meta-analysis of clinical studies. *Journal Of Medical Virology*. 2013. Vol. 85(6). P. 1019-1027. URL: <https://doi.org/10.1002/jmv.23562>

194. Long-term effect of HCV eradication in patients with mixed cryoglobulinemia: A prospective, controlled, open-label, cohort study / Gragnani, L., Fognani, E., Piluso, A. et al. *Hepatology*. 2015. Vol. 61(4). P. 1145-1153. URL: <https://doi.org/10.1002/hep.27623>

195. D. Batische, M. Karmochkine. Sustained exacerbation of cryoglobulinemia-related vasculitis following treatment of hepatitis C with peginterferon-alfa. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol*. 2004. Vol. 16. P. 701-703.

196. W. Beuthien, H.U. Mellinghoff. Vasculitis complications of interferon-alpha treatment for chronic hepatitis C virus infection: case report and review of the literature. *Clin. Rheumatol*. 2005. Vol. 30. P. 369-371.

197. Treatment for hepatitis C virus-associated mixed cryoglobulinaemia / Montero, N., Favà, A., Rodriguez, E. et al. *Cochrane Database Of Systematic Reviews*. 2018. URL: <https://doi.org/10.1002/14651858.cd011403.pub2>

198. Treatment of hepatitis C virus-associated mixed cryoglobulinemia with direct-acting antiviral agents / Sise, M., Bloom, A., Wisocky, J. et al. *Hepatology*. 2015. Vol. 63(2). P. 408-417. URL: <https://doi.org/10.1002/hep.28297>

199. Persistence of mixed cryoglobulinemia despite cure of hepatitis C with new oral antiviral therapy including direct-acting antiviral sofosbuvir: A case series / Cornella, S., Stine, J., Kelly, V. et al. *Postgraduate Medicine*. 2015. Vol. 127(4). P. 413-417. URL: <https://doi.org/10.1080/00325481.2015.1021660>

200. Survival and Prognostic Factors in Mixed Cryoglobulinemia: Data from 246 Cases / Mazzaro, C., Maso, L., Mauro, E. et al. *Diseases*. 2018. Vol. 6(2). P. 35. URL: <https://doi.org/10.3390/diseases6020035>



201. Prospective study of guideline-tailored therapy with direct-acting antivirals for hepatitis C virus-associated mixed cryoglobulinemia / Gragnani, L., Visentini, M., Fognani, E. et al. *Hepatology*. 2016. Vol. 64(5). P. 1473-1482. URL: <https://doi.org/10.1002/hep.28753>

202. Evidence-based recommendations on the management of extrahepatic manifestations of chronic hepatitis C virus infection / Ramos-Casals, M., Zignego, A., Ferri, C. et al. *Journal Of Hepatology*. 2017. Vol. 66(6). P. 1282-1299. URL: <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2017.02.010>

203. Bunchorntavakul, C., Mitrani, R., & Reddy, K. Advances in HCV and Cryoglobulinemic Vasculitis in the Era of DAAs: Are We at the End of the Road?. *Journal Of Clinical And Experimental Hepatology*. 2018. Vol. 8(1). P. 81-94. URL: <https://doi.org/10.1016/j.jceh.2017.11.012>

204. The role of genetic polymorphisms Toll-like receptor 4 and 7 in the chronic hepatitis c and gender features of their distribution / Sizova, L., Koval, T., Kaidashev, I. et al. *Georgian Med News*. 2016. Vol. 250. P. 51-6.

205. Prevalence of IFNL3 rs4803217 single nucleotide polymorphism and clinical course of chronic hepatitis C / Świątek-Kościelna, B., Kałużna, E., Strauss, E. et al. *World Journal Of Gastroenterology*. 2017. Vol. 23(21). P. 3815. URL: <https://doi.org/10.3748/wjg.v23.i21.3815>

206. The -3279C>A and -924A>G polymorphisms in the FOXP3 Gene Are Associated With Viral Load and Liver Enzyme Levels in Patients With Chronic Viral Liver Diseases / Pereira, L., Amoras, E., da Silva Conde, S. et al. *Frontiers In Immunology*. 2018. Vol. 9. URL: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02014>

207. Role of IL28B genotyping in patients with hepatitis C virus-associated mixed cryoglobulinemia and response to PEG-IFN and ribavirin treatment / Boglione, L., Cusato, J., Allegra, S. et al. *Archives of Virology*. 2015. Vol. 160(8). P. 2009–2017. URL: <https://doi.org/10.1007/s00705-015-2482-3>

208. Bulatova, I. A. INVESTIGATION OF INTERLEUKIN-17 AND INTERLEUKIN-17F GENE (RS763780) POLYMORPHISM IN CHRONIC

HEPATITIS C. *Perm Medical Journal*. 2014. Vol. 31(1). P. 103-108. URL: <https://doi.org/10.17816/pmj311103-108>

209. HLA expression in type II mixed cryoglobulinemia and chronic hepatitis C virus / Ossi E, Bordin MC, Businaro MA et al. *Clin Exp Rheumatol*. 1995. Vol.13(13). P. 91–93

210. Haplotype HLA-B8-DR3 confers susceptibility to hepatitis C virus-related mixed cryoglobulinemia / Lenzi M, Frisoni M, Mantovani V et al. *Blood*. 1998. Vol.91. P. 2062–2066

211. Giannitrapani, L. Genetic association of interleukin-6 polymorphism (-174 G/C) with chronic liver diseases and hepatocellular carcinoma. *World Journal Of Gastroenterology*. 2013. Vol. 19(16). P. 2449

212. Interleukin 6 promoter polymorphisms influence the outcome of chronic hepatitis C / Cussigh, A., Falletti, E., Fabris, C. et al. *Immunogenetics*. 2010. Vol. 63(1). P. 33-41.

213. Raised levels of interleukin 6 in systemic lupus erythematosus correlate with anaemia / Ripley B. J. M., Goncalves B., Isenberg D. A. et al. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2005. Vol. 64(6). P. 849–853. URL: <https://doi.org/10.1136/ard.2004.022681>

214. Rheumatologic manifestations of chronic hepatitis C infection / Lormeau C, Falgarone G, Roulot D et al. *Joint Bone Spine*. 2006. Vol. 73. P. 633-8. URL: <https://doi.org/10.1016/j.jbspin.2006.05.005>

215. Presence of Rheumatoid Factor during Chronic HCV Infection Is Associated with Expansion of Mature Activated Memory B-Cells that Are Hypo-Responsive to B-Cell Receptor Stimulation and Persist during the Early Stage of IFN Free Therapy /Elane Reyes-Avilés, Lenche Kostadinova, Anne Rusterholtz et al. *PLoS One*. 2015. Vol. 10(12). P. e0144629. URL: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0144629>

216. Interleukin-6 haplotypes and the response to therapy of chronic hepatitis C virus infection / Yee, L., Im, K., Borg, B. et al. *Genes & Immunity*. 2009. Vol. 10(4). P. 365-372. URL: <https://doi.org/10.1038/gene.2009.26>

217. Increased Th1, Th17 and pro-fibrotic responses in hepatitis C-infected patients are down-regulated after 12 weeks of treatment with pegylated interferon plus ribavirin / Jimenez-Sousa, M., Almansa, R., de la Fuente, C. et al. *Eur Cytokine Netw.* 2010. Vol. 21(2). P. 84-91. URL: <https://doi.org/10.1684/ecn.2010.0191>

218. Immune response of Th17-associated cytokines by peripheral blood mononuclear cells from patients with chronic hepatitis C virus infection / Cabral, M., Santos, T., Santos, P. et al. *Cytokine.* 2018. Vol. 102. P. 200-205. URL: <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2017.09.015>

219. Cost-effectiveness of sofosbuvir-based triple therapy for untreated patients with genotype 1 chronic hepatitis C / Petta, S., Cabibbo, G., Enea, M. et al. *Hepatology.* Vol. 59(5). P. 1692-1705. URL: <https://doi.org/10.1002/hep.27010>

220. Autoantibodies in patients with chronic hepatitis C virus infection: pitfalls for the diagnosis of rheumatic diseases / Palazzi, C., Buskila, D., D'Angelo, S. et al. *Autoimmunity Reviews.* 2012. Vol. 11(9). P. 659-663. URL: <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2011.11.011>

221. The positivity of rheumatoid factor and anti-cyclic citrullinated peptide antibody in nonarthritic patients with chronic hepatitis C infection / Orge E, Cefle A, Yazici A et al. *Rheumatol Int.* 2009. Vol. 30. P. 485–8. URL: <https://doi.org/10.1007/s00296-009-0997-1>

222. Proteinase 3 and dihydrolipoamide dehydrogenase (E3) are major autoantigens in hepatitis C virus (HCV) infection / Wu YY, Hsu TC, Chen TY et al. *Clin Exp Immunol.* 2002. Vol. 128. P. 347–52. URL: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2249.2002.01827.x>

223. Riabokon, Y., Kalashnyk, K., & Riabokon, O. Influence of interleukin-6 gene polymorphism on the efficacy of antiviral treatment in patients with chronic hepatitis C. *Запорожский медицинский журнал.* 2019. Т. 21, № 1 (112). С. 84-89 <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2019.1.155826>

224. Kalashnyk, K., Riabokon, Y., & Riabokon, O. Interaction of polymorphism of the interleukin-6 gene with immunological damages and their

role in the development of mixed cryoglobulinemia in patients with chronic hepatitis C. *Pathologia*. 2019. T. 16, № 1 (45). С. 27-32  
<https://doi.org/10.14739/2310-1237.2019.1.166189>

225. Kalashnyk K., Riabokon Yu., Riabokon O. Clinical-pathogenetical role of dynamics of concentration of interleukin-6 depending on polymorphism of its gene in conducting antiviral therapy for patients with chronic hepatitis C. *Georgian Med News*. 2018. №10 (283). P. 85-88.

226. Kalashnyk, K.V., & Riabokon, Yu.Yu. The role of interleukin-17 gene polymorphism (RS612242 C11139G) in the formation of the cryoglobulinemic syndrome in patients with chronic hepatitis C. *Journal Of Education, Health And Sport*. 2019. Vol. 9, №11. P. 248-258.  
<https://doi.org/10.5281/zenodo.3558948>

227. Riabokon, Y., Kalashnyk, K., Kamyshnyi, O., & Riabokon, O. Роль поліморфізму гена інтерлейкіну-6 у перебігу хронічного гепатиту С та формуванні змішаної криоглобулінемії. *Інфекційні Хвороби*. 2018. № 2 (92). С. 36-41. <https://doi.org/10.11603/1681-2727.2018.2.9032>

228. Калашник К.В., Рябоконт Ю.Ю., Абрамов А.В., Рябоконт О.В. Вплив поліморфізму гену ІЛ-17 (rs 612242) на перебіг хронічного гепатиту С, ефективність протівірусної терапії та динаміку вмісту ІЛ-17 в сироватці крові залежно від результатів лікування. *Гепатологія*. 2019. №4 (46). С. 29-39

229. Рябоконт Е.В., Калашник К.В., Іпатова Д.П., Рябоконт Ю.Ю. Эффективность комбинированной противовирусной терапии с включением препарата с прямым механизмом действия у пациентов с хроническим гепатитом С (по результатам выполнения Государственной целевой программы в Запорожской области). *Клиническая инфектология и паразитология*. 2017. № 6 (3). С. 330-334.

230. Калашник К.В., Рябоконт Ю.Ю., Іпатова Д.П. Аналіз ефективності протівірусного лікування із застосуванням препарату з прямим механізмом дії у хворих на хронічний гепатит С з різним генотипом вірусу. *Епідеміологічні та клінічні ускладнення інфекційних і паразитарних хвороб у*

*сучасних умовах* : матеріали всеукр. наук.-практ. конф. і пленуму ГО «Всеукраїнська асоціація інфекціоністів», м. Житомир, 5-6 жовт. 2017 р., Ж. 2017. С. 74-76.

231. Калашник К.В., Рябоконт Ю.Ю., Абрамов А.В. Роль змін вмісту інтерлейкіну-6 залежно від поліморфізму його гена в ефективності противірусного лікування хворих на хронічний гепатит С. *Актуальна інфектологія*. 2018. №5 (6). С. 81-82.

232. Калашник К.В. Аналіз вірусологічної відповіді у хворих на хронічний гепатит С на фоні противірусної терапії софосбувір-вмісними схемами. *Сучасні аспекти медицини і фармації-2017* : зб. матеріалів всеукр. наук.-практ. конф., м. Запоріжжя, 11-12 травн. 2017 р., 3., 2017. С. 75.

233. Калашник К.В. Ефективність противірусного лікування із застосуванням препарату з прямим механізмом антивірусної дії (Софосбувір). *Інфекційні хвороби в практиці лікаря-інтерніста: сучасні аспекти* : зб. матеріалів всеукр. наук.-практ. конф., м. Суми, 25-26 травн. 2017 р., С., 2017. С. 129-131.

234. Калашник К.В. Клінічне значення поліморфізму гену інтерлейкіну-6 в маніфестації HCV-асоційованої змішаної кріоглобулінемії. *Актуальні питання сучасної медицини та фармації. До 50-річчя заснування ЗДМУ* : зб. матеріалів всеукр. наук.-практ. конф. з міжнародн.уч., м. Запоріжжя, 18-25 квітн. 2018 р. 3., 2018. С. 110-111.

235. Калашник К.В. Роль поліморфізму гену інтерлейкіну-17 у виникненні HCV-асоційованої змішаної кріоглобулінемії. *Інфекційні хвороби в практиці лікаря-інтерніста: сучасні аспекти* : зб. матеріалів всеукр. наук.-практ. конф., м. Суми, 30-31 травн. 2018 р., С., 2018. С. 57-59.

236. Калашник К.В., Рябоконт Ю.Ю., Камишний О.М. Роль поліморфізму гену інтерлейкіну-17 у прогнозуванні ефективності різних схем противірусної терапії хворих на хронічний гепатит С. *Сучасні діагностичні, лікувальні і профілактичні технології у практиці інфекціоніста* : зб.

матеріалів всеукр. наук.-практ. конф., м. Чернівці, 4-5 жовтн. 2018 р. Ч., 2018. С. 40-42.

237. Калашник К.В., Рябоконт Ю.Ю., Камишний О.М. Ефективність противірусного лікування хворих на хронічний гепатит С за схемою рег-IFN $\alpha$ +SOF+RBV залежно від поліморфізму гену інтерлейкіна-6. *Інфекційні хвороби сучасності: етіологія, епідеміологія, діагностика, лікування, профілактика, біологічна безпека* : зб. матеріалів всеукр. наук.-практ. конф. з міжнародн.уч., м. Київ, 11-12 жовт. 2018 р., К., 2018. С. 74-76.

238. Калашник К.В., Рябоконт Ю.Ю., Абрамов А.В. Роль змін вмісту інтерлейкіну-6 залежно від поліморфізму його гена в ефективності противірусного лікування хворих на хронічний гепатит С. *Актуальні інфекційні захворювання. Сучасні аспекти клініки, діагностики, лікування та профілактики*: зб. матеріалів всеукр. наук.-практ. конф. з міжнародн.уч., 2018. Т. 6, №5. С. 81-82.


239. Калашник К.В., Рябоконт Ю.Ю. Взаємозв'язки автоімунних порушень з кількісним вмістом інтерлейкіну-17 залежно від поліморфізму його гену у хворих на хронічний гепатит С. *Актуальні питання сучасної медицини та фармації 2019*: зб. матеріалів всеукр. наук.-практ. конф., м. Запоріжжя, 13-17 травн. 2019 р. З., 2019. С. 55-56.

240. Калашник К.В. Роль поліморфізму гену інтерлейкіну-17 в розвитку змішаної кріоглобулінемії та ефективності противірусного лікування хворих на хронічний гепатит С. *Інфекційні хвороби в практиці лікаря-інтерніста: сучасні аспекти*: зб. матеріалів всеукр. наук.-практ. конф., м. Суми, 29-30 травн. 2019 р. С., 2019. С. 49-51.

241. Калашник К.В., Рябоконт Ю.Ю., Камишний О.М. Клініко-патогенетична роль поліморфізму гену інтерлейкін-6 та його кількісного вмісту в розвитку змішаної кріоглобулінемії та ефективності противірусної терапії хворих на хронічний гепатит С. *Всеукраїнська асоціація інфекціоністів*: зб. матеріалів всеукр. наук.-практ. конф., м. Кропивницький, 3-4 жовтн.. 2019 р. Кр., 2019. С. 68-70.

## ДОДАТОК А1

«ЗАТВЕРДЖУЮ»  
 Головний лікар КУ «Обласна  
 інфекційна клінічна лікарня ЗОР»  
 Шинкаренко В.Л.  
 (керівник установи, в якій проведено впровадження)  
 2019 р.



## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Спосіб прогнозування успішності терапії у хворих на хронічний гепатит С  
 ( назва пропозиції для впровадження )
2. Запорізький державний медичний університет, м.Запоріжжя, пр. Маяковського, 26, 69035, Рябоконт Ю. Ю., Калашник К.В.  
 ( установа-розробник, її поштовий адрес, ПІБ авторів )
3. Джерело інформації: Патент на корисну модель № 136009 Україна, МПК G01N 33/49 (2006.01). Спосіб прогнозування успішності терапії у хворих на хронічний гепатит С / Рябоконт Юрій Юрійович (UA ); Калашник Кирило Вадимович (UA ); заявник та патентовласник: Запорізький державний медичний університет (UA) // Промислова власність. – Опубл. 25.07.2019, Бюл. № 14  
 ( назва, рік видання методичних рекомендацій, інформаційного листа, вихідні данні статті, № патенту тощо )
4. Впроваджено за 2019 р. в КУ «Обласна інфекційна клінічна лікарня» ЗОР  
 ( назва лікувально-профілактичної установи )
5. Строки впровадження з 05.08.2019 р. по 29.11.2019 р.
6. Загальна кількість спостережень: 23
7. Ефективність впровадження згідно з критеріями, викладеними у джерелі інформації (п.3) спосіб прогнозування успішності терапії у хворих на хронічний гепатит С забезпечив підвищення ефективності прогнозування результатів противірусної терапії за схемою peg-IFN $\alpha$ +SOF+RB щодо досягнення стійкої вірусологічної відповіді через 24 тижні після закінчення лікування.
8. Зауваження, додатки: немає

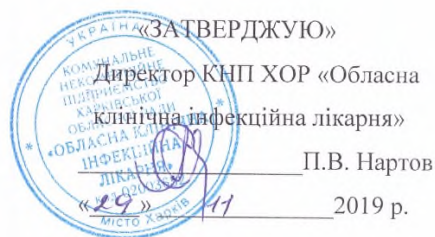
« 29 » листопада 2019 р.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри інфекційних хвороб Запорізького державного медичного університету професор Рябоконт О.В.  
 (посада, підпис, ПІБ)



## ДОДАТОК А2



## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Спосіб прогнозування успішності терапії у хворих на хронічний гепатит С  
( назва пропозиції для впровадження )
2. Запорізький державний медичний університет, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26, 69035, Рябоконт Ю. Ю., Калашник К.В.  
( установа-розробник, її поштовий адрес, ПІБ авторів )
3. Джерело інформації: Патент на корисну модель № 136009 Україна, МПК G01N 33/49 (2006.01). Спосіб прогнозування успішності терапії у хворих на хронічний гепатит С / Рябоконт Юрій Юрійович (UA ); Калашник Кирило Вадимович (UA ); заявник та патентовласник: Запорізький державний медичний університет (UA) // Промислова власність. – Опубл. 25.07.2019, Бюл. № 14  
( назва, рік видання методичних рекомендацій, інформаційного листа, вихідні данні статті, № патенту тощо )
4. Впроваджено за 2019 р. в КНП ХОР «Обласна клінічна інфекційна лікарня»  
( назва лікувально-профілактичної установи )
5. Строки впровадження з серпень 2019 р. по листопад 2019 р.
6. Загальна кількість спостережень: 85
7. Ефективність впровадження згідно з критеріями, викладеними у джерелі інформації (п.3) спосіб прогнозування успішності терапії у хворих на хронічний гепатит С забезпечив підвищення ефективності прогнозування результатів противірусної терапії за схемою peg-IFN $\alpha$ +SOF+RB щодо досягнення стійкої вірусологічної відповіді через 24 тижні після закінчення лікування.
8. Зауваження, додатки: немає

« 29 » ..... 11 ..... 2019 р.

Відповідальні за впровадження:

Доцент кафедри інфекційних  
хвороб ХНМУ, к.мед.н.

О.С. Бондар

О.С. Бондар

Завідувач кафедри інфекційних  
хвороб ХНМУ, д.мед.н., професор

К.В. Юрко

К.В. Юрко



## ДОДАТОК АЗ



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Головний лікар Івано-Франківської  
обласної клінічної інфекційної лікарні

Р.С. Остяк

«19» 11 2019 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Спосіб прогнозування успішності терапії у хворих на хронічний гепатит С  
( назва пропозиції для впровадження )
2. Запорізький державний медичний університет, м.Запоріжжя, пр. Маяковського, 26, 69035, Рябоконт Ю. Ю., Калашник К.В.  
( установа-розробник, її поштовий адрес, ПІБ авторів )
3. Джерело інформації: Патент на корисну модель № 136009 Україна, МПК G01N 33/49 (2006.01). Спосіб прогнозування успішності терапії у хворих на хронічний гепатит С / Рябоконт Юрій Юрійович (UA ); Калашник Кирило Вадимович (UA ); заявник та патентовласник: Запорізький державний медичний університет (UA) // Промислова власність. – Опубл. 25.07.2019, Бюл. № 14  
( назва, рік видання методичних рекомендацій, інформаційного листа, вихідні данні статті, № патенту тощо )
4. Впроваджено за 2019 р. в Івано-Франківська ОКІЛ  
( назва лікувально-профілактичної установи )
5. Строки впровадження з серпень 2019 р. по листопад 2019 р.
6. Загальна кількість спостережень: 83
7. Ефективність впровадження згідно з критеріями, викладеними у джерелі інформації (п.3) спосіб прогнозування успішності терапії у хворих на хронічний гепатит С забезпечив підвищення ефективності прогнозування результатів противірусної терапії за схемою reg-IFN $\alpha$ +SOF+RB щодо досягнення стійкої вірусологічної відповіді через 24 тижні після закінчення лікування.
8. Зауваження, додатки: немає

« 18 » ..... 11 ..... 2019 р.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри інфекційних хвороб  
та епідеміології  
Івано-Франківського національного  
медичного університету  
д.мед.н., професор

О.Я. Пришляк

## ДОДАТОК А4

«ЗАТВЕРДЖУЮ»  
 ТВО директора КНП «ВМКЛ №1»  
 Чорна Д.В. МЕДИЧНОЇ  
 Керівник установи. Діє проведено впровадження  
 « 11 2019 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Спосіб прогнозування успішності терапії у хворих на хронічний гепатит С  
 ( назва пропозиції для впровадження )
2. Запорізький державний медичний університет, м.Запоріжжя, пр. Маяковського, 26, 69035, Рябоконт Ю. Ю., Калашник К.В.  
 ( установа-розробник, її поштовий адрес, ПІБ авторів )
3. Джерело інформації: Патент на корисну модель № 136009 Україна, МПК G01N 33/49 (2006.01). Спосіб прогнозування успішності терапії у хворих на хронічний гепатит С / Рябоконт Юрій Юрійович (UA ); Калашник Кирило Вадимович (UA ); заявник та патентовласник: Запорізький державний медичний університет (UA) // Промислова власність. – Опубл. 25.07.2019, Бюл. № 14  
 ( назва, рік видання методичних рекомендацій, інформаційного листа, вихідні данні статті, № патенту тощо )
4. Впроваджено за 2019 р. в КНП «Вінницька міська клінічна лікарня № 1», м. Вінниця  
 (назва лікувально-профілактичної установи)
5. Строки впровадження з серпень 2019 р. по листопад 2019 р.
6. Загальна кількість спостережень: 25 (двадцять п'ять) спостережень.
7. Ефективність впровадження згідно з критеріями, викладеними у джерелі інформації (п.3) спосіб прогнозування успішності терапії у хворих на хронічний гепатит С забезпечив підвищення ефективності прогнозування результатів противірусної терапії за схемою peg-IFN $\alpha$ +SOF+RB щодо досягнення стійкої вірусологічної відповіді через 24 тижні після закінчення лікування.
8. Зауваження, додатки: немає

« 11 » ..... 11 ..... 2019 р.

Відповідальний за впровадження:  
 Завідуючий інфекційним відділенням  
 міської клінічної лікарні № 1 м. Вінниця



Чорний А. М.



## ДОДАТОК А5

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

проректор з наукової роботи  
Харківського національного  
медичного університету

д. мед. н., проф. В.В. М'ясоєдов



2019 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

**1. Найменування пропозиції** (метод профілактики, діагностики, лікування, пристрій, форма організаційної роботи та ін.): «Спосіб прогнозування успішності терапії у хворих на хронічний гепатит С».

**2. Ким і коли запропонований:**

Кафедра інфекційних хвороб Запорізького державного медичного університету (м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26, 69035)

Рябоконт Юрій Юрійович,

Калашник Кирило Вадимович.

**3. Джерела інформації** (методичні рекомендації, інформаційний лист, звіт про НДР, дисертація, монографія, з'їзди, конференції, семінари та ін.):

Патент на корисну модель № 136009 Україна, МПК G01N 33/49 (2006.01). Спосіб прогнозування успішності терапії у хворих на хронічний гепатит С / Рябоконт Юрій Юрійович (UA); Калашник Кирило Вадимович (UA); заявник та патентовласник: Запорізький державний медичний університет (UA) // Промислова власність. – Опубл. 25.07.2019, Бюл. № 14.

**4. Де і коли введено**

В лекційний курс і практичні заняття кафедри інфекційних хвороб ХНМУ за темою «Вірусні гепатити» протокол засідання кафедри № 28 від 18.11.2019.

**5. Результати застосування методу** за період з 19.06.19 по 19.11.19 рр.

Позитивні.

**6. Ефективність впровадження** за критеріями, встановленими в джерелах інформації (п.3): 94,7 %**7. Зауваження, пропозиції:** не має.

Відповідальний (і) за впровадження:


Доцент кафедри інфекційних  
хвороб ХНМУ, к.мед.н.

Завідувач кафедри інфекційних  
хвороб ХНМУ, д.мед.н., професор

20.11.2019

(дата)

 Н.Ф. Меркулова

 К.В. Юрко

## ДОДАТОК А6

«ЗАТВЕРДЖУЮ»  
 Проректор з науково-педагогічної  
 роботи Запорізького державного  
 медичного університету  
 \_\_\_\_\_ проф. В.А. Візір  
 « 18 » \_\_\_\_\_ 05 \_\_\_\_\_ 2019 р.



**АКТ**  
**впровадження у навчальний процес**

**1. Назва впровадження:** «Спосіб прогнозування успішності терапії у хворих на хронічний гепатит С».

**2. Ким запропоновано, адреса, виконавці:**  
 кафедра інфекційних хвороб Запорізького державного медичного університету (м.Запоріжжя, пр. Маяковського, 26, 69035) Калашник Кирило Вадимович.

**3. Джерело інформації:** Патент на корисну модель № 136009 Україна, МПК G01N 33/49 (2006.01). Спосіб прогнозування успішності терапії у хворих на хронічний гепатит С / Рябоконт Юрій Юрійович (UA); Калашник Кирило Вадимович (UA); заявник та патентовласник: Запорізький державний медичний університет (UA) // Промислова власність. – Опубл. 25.07.2019, Бюл. № 14.

**4. Де впроваджено (назва навчального закладу):**  
 в навчальний процес кафедри інфекційних хвороб Запорізького державного медичного університету при викладанні лекційного матеріалу та проведенні практичних занять для студентів 6 курсу медичних факультетів та лікарів інтернів за темою «Вірусні гепатити».

**5. Термін впровадження:** 2019-2020 навчальний рік.

**Відповідальний за впровадження:**

Завідувач кафедри інфекційних  
 хвороб Запорізького державного  
 медичного університету,  
 доктор медичних наук, професор

О.В. Рябоконт



## ДОДАТОК А7

«ЗАТВЕРДЖУЮ»  
Перший проректор  
Івано-Франківського національного  
медичного університету  
д., біол. н., проф. Г. М. Ерстенюк



2019 р.

## АКТ

## впровадження у навчальний процес

**1. Назва впровадження:** «Спосіб прогнозування успішності терапії у хворих на хронічний гепатит С».

**2. Ким запропоновано, адреса, виконавці:**  
кафедра інфекційних хвороб Запорізького державного медичного університету (м.Запоріжжя, пр. Маяковського, 26, 69035) Рябокони́й Юрій Юрійович, Калашник Кирило Вадимович.

**3. Джерело інформації:** Патент на корисну модель № 136009 Україна, МПК G01N 33/49 (2006.01). Спосіб прогнозування успішності терапії у хворих на хронічний гепатит С / Рябокони́й Юрій Юрійович (UA); Калашник Кирило Вадимович (UA); заявник та патентовласник: Запорізький державний медичний університет (UA) // Промислова власність. – Опубл. 25.07.2019, Бюл. № 14.

**4. Де впроваджено (назва навчального закладу):**  
в навчальний процес кафедри інфекційних хвороб при викладанні лекційного матеріалу та проведенні практичних занять для за темою «Вірусні гепатити».

**5. Термін впровадження:** 2019-2020 навчальний рік.

**Відповідальний за впровадження:**  
Завідувач кафедри інфекційних хвороб  
та епідеміології  
Івано-Франківського національного  
медичного університету  
д.мед.н., професор

О.Я. Пришляк

## ДОДАТОК А8

ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор

за наукової роботи

Вінницького національного медичного

університету ім. М.І. Пирогова

проф. О.В. Власенко

2019 р.



АКТ

## впровадження у навчальний процес

**1. Назва впровадження:** «Спосіб прогнозування успішності терапії у хворих на хронічний гепатит С».

**2. Ким запропоновано, адреса, виконавці:**

кафедра інфекційних хвороб Запорізького державного медичного університету (м.Запоріжжя, пр. Маяковського, 26, 69035) Рябоконт Юрій Юрійович, Калашник Кирило Вадимович.

**3. Джерело інформації:** Патент на корисну модель № 136009 Україна, МПК G01N 33/49 (2006.01). Спосіб прогнозування успішності терапії у хворих на хронічний гепатит С / Рябоконт Юрій Юрійович (UA); Калашник Кирило Вадимович (UA); заявник та патентовласник: Запорізький державний медичний університет (UA) // Промислова власність. – Опубл. 25.07.2019, Бюл. № 14.

**4 Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п. 3):** Використання результатів наукових досліджень у навчальному процесі дозволяє розширити знання студентів щодо прогнозування успішності терапії у хворих на хронічний гепатит С

**5. Термін впровадження:** 01.09.2019 – 01.12.2019 в навчальний процес кафедри інфекційних хвороб з курсом епідеміології ВНМУ ім. М. І. Пирогова

**Відповідальний за впровадження:**

Завідувач кафедри інфекційних хвороб

з курсом епідеміології

Вінницького національного

медичного університету ім. М.І. Пирогова,

доктор медичних наук, професор

Л.В. Мороз

**ДОДАТОК Б**  
**СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ АВТОРОМ ПРАЦЬ НА ТЕМУ**  
**ДИСЕРТАЦІЇ**

1. Riabokon, Y., Kalashnyk, K., & Riabokon, O. Influence of interleukin-6 gene polymorphism on the efficacy of antiviral treatment in patients with chronic hepatitis C. *Запорожский медицинский журнал*. 2019. Т. 21, № 1 (112). С. 84-89 (*Дисертантом проведено аналіз літератури, відбір, клінічне обстеження хворих, аналіз лабораторних показників, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка статті до друку*). <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2019.1.155826>
2. Kalashnyk, K., Riabokon, Y., & Riabokon, O. Interaction of polymorphism of the interleukin-6 gene with immunological damages and their role in the development of mixed cryoglobulinemia in patients with chronic hepatitis C. *Pathologia*. 2019. Т. 16, № 1 (45). С. 27-32. (*Дисертантом проведено аналіз літератури, відбір, клінічне обстеження хворих, аналіз лабораторних показників, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка статті до друку*). <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2019.1.166189>
3. Kalashnyk K., Riabokon Yu., Riabokon O. Clinical-pathogenetical role of dynamics of concentration of interleukin-6 depending on polymorphism of its gene in conducting antiviral therapy for patients with chronic hepatitis C. *Georgian Med News*. 2018. №10 (283). Р. 85-88. (*Дисертантом проведено аналіз літератури, відбір, клінічне обстеження хворих, аналіз лабораторних показників, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка статті до друку*). <https://doi.org/10.11603/1681-2727.2018.2.9032>.
4. Kalashnyk, K.V., & Riabokon, Yu.Yu. The role of interleukin-17 gene polymorphism (RS612242 C11139G) in the formation of the cryoglobulinemic syndrome in patients with chronic hepatitis C. *Journal Of Education, Health And Sport*. 2019. Vol. 9, №11. Р. 248-258.

- (Дисертантом проведено аналіз літератури, відбір, клінічне обстеження хворих, аналіз лабораторних показників, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка статті до друку).*  
<https://doi.org/10.5281/zenodo.3558948>
5. Riabokon, Y., Kalashnyk, K., Kamyshnyi, O., & Riabokon, O. Роль поліморфізму гена інтерлейкіну-6 у перебігу хронічного гепатиту С та формуванні змішаної кріоглобулінемії. *Інфекційні Хвороби*. 2018. № 2 (92). С. 36-41. *(Дисертантом проведено аналіз літератури, відбір, клінічне обстеження хворих, аналіз лабораторних показників, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка статті до друку).*  
<https://doi.org/10.11603/1681-2727.2018.2.9032>
  6. Калашник К.В., Рябоконт Ю.Ю., Абрамов А.В., Рябоконт О.В. Вплив поліморфізму гену ІІ-17 (rs 612242) на перебіг хронічного гепатиту С, ефективність противірусної терапії та динаміку вмісту ІІ-17 в сироватці крові залежно від результатів лікування. *Гепатологія*. 2019. №4 (46). С. 28-39. *(Дисертантом проведено аналіз літератури, відбір, клінічне обстеження хворих, аналіз лабораторних показників, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка статті до друку).*
  7. Рябоконт Е.В., Калашник К.В., Іпатова Д.П., Рябоконт Ю.Ю. Эффективность комбинированной противовирусной терапии с включением препарата с прямым механизмом действия у пациентов с хроническим гепатитом С (по результатам выполнения Государственной целевой программы в Запорожской области). *Клиническая инфектология и паразитология*. 2017. Т. 6, №3. С. 330-334. *(Дисертантом проведено аналіз літератури, відбір, клінічне обстеження хворих, аналіз лабораторних показників, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка статті до друку).*
  8. Калашник К.В., Рябоконт Ю.Ю., Іпатова Д.П. Аналіз ефективності противірусного лікування із застосуванням препарату з прямим механізмом дії у хворих на хронічний гепатит С з різним генотипом



- вірусу. *Епідеміологічні та клінічні ускладнення інфекційних і паразитарних хвороб у сучасних умовах* : матеріали всеукр. наук.-практ. конф. і пленуму ГО «Всеукраїнська асоціація інфекціоністів», м. Житомир, 5-6 жовт. 2017 р., Ж. 2017. С. 74-76. (Дисертантом проведено аналіз літератури, відбір та клінічне обстеження хворих, аналіз лабораторних показників, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка тез до друку).
9. Калашник К.В., Рябокони Ю.Ю., Абрамов А.В. Роль змін вмісту інтерлейкіну-6 залежно від поліморфізму його гена в ефективності противірусного лікування хворих на хронічний гепатит С. *Актуальна інфектологія*. 2018. Т. 6, №5. С. 81-82. (Дисертантом проведено аналіз літератури, відбір та клінічне обстеження хворих, аналіз лабораторних показників, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка тез до друку, усна доповідь на конференції).
10. Калашник К.В. Аналіз вірусологічної відповіді у хворих на хронічний гепатит С на фоні противірусної терапії софосбувір-вмісними схемами. *Сучасні аспекти медицини і фармації-2017* : зб. матеріалів всеукр. наук.-практ. конф., м. Запоріжжя, 11-12 травн. 2017 р., 3., 2017. С. 75. (Дисертантом проведено аналіз літератури, відбір та клінічне обстеження хворих, аналіз лабораторних показників, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка тез до друку).
11. Калашник К.В. Ефективність противірусного лікування із застосуванням препарату з прямим механізмом антивірусної дії (Софосбувір). *Інфекційні хвороби в практиці лікаря-інтерніста: сучасні аспекти* : зб. матеріалів всеукр. наук.-практ. конф., м. Суми, 25-26 травн. 2017 р., С., 2017. С. 129-131. (Дисертантом проведено аналіз літератури, відбір та клінічне обстеження хворих, аналіз лабораторних показників, статистичний аналіз отриманих даних, стендова доповідь на конференції).

12. Калашник К.В. Клінічне значення поліморфізму гену інтерлейкіну-6 в маніфестації HCV-асоційованої змішаної кріоглобулінемії. *Актуальні питання сучасної медицини та фармації. До 50-річчя заснування ЗДМУ* : зб. матеріалів всеукр. наук.-практ. конф. з міжнародн.уч., м. Запоріжжя, 18-25 квітн. 2018 р. З., 2018. С. 110-111. (Дисертантом проведено аналіз літератури, відбір та клінічне обстеження хворих, аналіз лабораторних показників, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка тез до друку, усна доповідь на конференції).
13. Калашник К.В. Роль поліморфізму гену інтерлейкіну-17 у виникненні HCV-асоційованої змішаної кріоглобулінемії. *Інфекційні хвороби в практиці лікаря-інтерніста: сучасні аспекти* : зб. матеріалів всеукр. наук.-практ. конф., м. Суми, 30-31 травн. 2018 р., С., 2018. С. 57-59. (Дисертантом проведено аналіз літератури, відбір та клінічне обстеження хворих, аналіз лабораторних показників, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка тез до друку).
14. Калашник К.В., Рябоконт Ю.Ю., Камишний О.М. Роль поліморфізму гену інтерлейкіну-17 у прогнозуванні ефективності різних схем противірусної терапії хворих на хронічний гепатит С. *Сучасні діагностичні, лікувальні і профілактичні технології у практиці інфекціоніста* : зб. матеріалів всеукр. наук.-практ. конф., м. Чернівці, 4-5 жовтн. 2018 р. Ч., 2018. С. 40-42. (Дисертантом проведено аналіз літератури, відбір та клінічне обстеження хворих, аналіз лабораторних показників, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка тез до друку).
15. Калашник К.В., Рябоконт Ю.Ю., Камишний О.М. Ефективність противірусного лікування хворих на хронічний гепатит с за схемою рег-IFN $\alpha$ +SOF+RBV залежно від поліморфізму гену інтерлейкіна-6. *Інфекційні хвороби сучасності: етіологія, епідеміологія, діагностика, лікування, профілактика, біологічна безпека* : зб. матеріалів всеукр. наук.-практ. конф. з міжнародн.уч., м. Київ, 11-12 жовт. 2018 р., К.,

2018. С. 74-76. *(Дисертантом проведено аналіз літератури, відбір та клінічне обстеження хворих, аналіз лабораторних показників, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка тез до друку).*
16. Калашник К.В., Рябоконт Ю.Ю. Взаємозв'язки автоімунних порушень з кількісним вмістом інтерлейкіну-17 залежно від поліморфізму його гену у хворих на хронічний гепатит С. *Актуальні питання сучасної медицини та фармації 2019: зб. матеріалів всеукр. наук.-практ. конф., м. Запоріжжя, 13-17 травн. 2019 р. З., 2019. С. 55-56. (Дисертантом проведено аналіз літератури, відбір та клінічне обстеження хворих, аналіз лабораторних показників, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка тез до друку).*
17. Калашник К.В. Роль поліморфізму гену інтерлейкіну-17 в розвитку змішаної кріоглобулінемії та ефективності противірусного лікування хворих на хронічний гепатит С. *Інфекційні хвороби в практиці лікаря-інтерніста: сучасні аспекти: зб. матеріалів всеукр. наук.-практ. конф., м. Суми, 29-30 травн. 2019 р. С., 2019. С. 49-51. (Дисертантом проведено аналіз літератури, відбір та клінічне обстеження хворих, аналіз лабораторних показників, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка тез до друку).*
18. Калашник К.В., Рябоконт Ю.Ю., Камишний О.М. Клініко-патогенетична роль поліморфізму гену інтерлейкін-6 та його кількісного вмісту в розвитку змішаної кріоглобулінемії та ефективності противірусної терапії хворих на хронічний гепатит С. *Всеукраїнська асоціація інфекціоністів: зб. матеріалів всеукр. наук.-практ. конф., м. Кропивницький, 3-4 жовтн.. 2019 р. Кр., 2019. С. 68-70. (Дисертантом проведено аналіз літератури, відбір та клінічне обстеження хворих, аналіз лабораторних показників, статистичний аналіз отриманих даних, публікація тез).*
19. Спосіб прогнозування успішності терапії у хворих на хронічний гепатит С / Рябоконт Юрій Юрійович (UA); Калашник Кирило

Вадимович (UA); заявник та патентовласник: Запорізький державний медичний університет (UA) // Промислова власність. – Оpubл. 25.07.2019, Бюл. № 14. Патент на корисну модель № 136009 Україна, МПК G01N 33/49 (2006.01) *(Дисертантом проведено аналіз літератури, відбір та клінічне обстеження хворих, аналіз лабораторних показників, статистичний аналіз отриманих даних)*

## ДОДАТОК В

### АПРОБАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Всеукраїнська науково-практична конференція, присвяченої 20-річчю кафедри інфекційних хвороб з епідеміологією СумДУ на тему: «Інфекційні хвороби в практиці лікаря-інтерніста: сучасні аспекти», м. Суми, 25-26 травня 2017 р. (стендова доповідь);
2. Всеукраїнська науково-практична конференція і пленуму ГО «Всеукраїнська асоціація інфекціоністів» на тему: «Епідеміологічні та клінічні ускладнення інфекційних і паразитарних хвороб у сучасних умовах», м. Житомир, 5-6 жовт. 2017 р. (публікація тез);
3. Всеукраїнська науково-практична конференція «Сучасні аспекти медицини і фармації-2017», м. Запоріжжя, 11-12 травн. 2017 р. (публікація тез);
4. Всеукраїнська науково-практична конференція інфекціоністів і пленуму ГО «Всеукраїнська асоціація інфекціоністів» на тему: «Сучасні діагностичні, лікувальні і профілактичні технології у практиці інфекціоніста», м. Чернівці, 4-5 жовтня 2018 р. (публікація тез);
5. Всеукраїнська конференція молодих вчених та студентів з міжнародною участю на тему: «Актуальні питання сучасної медицини та фармації. До 50-річчя заснування ЗДМУ», м. Запоріжжя, 18-25 квітня 2018 р. (усна доповідь, публікація тез);
6. Всеукраїнська науково-практична конференція на тему: «Інфекційні хвороби в практиці лікаря-інтерніста: сучасні аспекти», м. Суми, 30-31 травня 2018 р. (публікація тез);
7. Науково-практична конференція з міжнародною участю, присвяченої щорічним «читанням» пам'яті академіка Л.В. Громашевського та приуроченої до 25-річчя національної академії медичних наук України на тему: «Інфекційні хвороби сучасності: етіологія, епідеміологія, діагностика, лікування, профілактика, біологічна безпека», м. Київ, 11-12 жовтня 2018 р. (публікація тез);

8. Науково-практична конференція з міжнародною участю присвячена пам'яті М.М. Городецького, приурочена до 95-річчя від дня його народження на тему: «Актуальні інфекційні захворювання. Сучасні аспекти клініки, діагностики, лікування та профілактики», м. Київ, 29-30 листопада 2018р. (публікація тез);

9. Науково-практична конференція з міжнародною участю молодих вчених та студентів на тему «Актуальні питання сучасної медицини та фармації 2019», м. Запоріжжя, 13-17 травня 2019 р. (усна доповідь, публікація тез);

10. Всеукраїнська науково-практична конференція на тему: «Інфекційні хвороби в практиці лікаря-інтерніста: сучасні аспекти», м. Суми, 29-30 травня 2019 р. (публікація тез);

11. Всеукраїнська науково-практична конференція інфекціоністів і пленуму ГО «Всеукраїнська асоціація інфекціоністів», м. Кропивницький, 3-4 жовтня 2019 р. (публікація тез).