

В. М. Пампуха, А. М. Кучеренко, Л. В. Мороз*, Л. А. Лівшиць

Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, 03680 Київ

**Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова МОЗ України, 21018 Вінниця*

ФАРМАКО-ГЕНЕТИЧНІ МАРКЕРИ ПРОГНОЗУ ПЕРЕБІГУ ЛІКУВАННЯ ХРОНІЧНОГО ГЕПАТИТУ С (огляд літератури та власних досліджень)

(Представлено акад. НАМН України В. А. Кордюмом)

Близько 3 % населення світу вражені вірусом гепатиту С, який у хронічно інфікованих осіб може призвести до цирозу печінки або гепатоцелюлярної карциноми. Стандартом лікування хронічного гепатиту С є комбінація пегільованого інтерферону та рибавіріну, яка, проте, має істотні побічні реакції та різну ефективність лікування. Нашими дослідженнями та роботами інших авторів було показано, що вірусологічна відповідь на лікування інтерфероном асоційована з алельними варіантами гена *IFNL4* (*rs12979860* і *rs368234815*). Визначені численні показники стану вірусу та організму-хазяїна, які можуть бути використані як предиктори відповіді на лікування інтерфероном та рибавірином. Беручи до уваги, що *rs368234815* викликає зміни експресії гена *IFNL4*, він є кращим кандидатом для використання в якості фармакогенетичного маркера. Варіант *rs1127354* гена інозин трифосфатази (*ITPA*) має асоціацію з рибавірин-індукованою анемією, що потребує корегування лікувальної дози для хворих-носіїв цього алеля. При цьому алельні варіанти гена *ITPA* також є інформативними фармакогенетичними маркерами побічних ефектів при лікуванні рибавірином. Впровадження генетичного тестування фармакогенетичних маркерів дасть змогу істотно поліпшити персоналізовану терапію вірусного гепатиту С в Україні.

Ключові слова: хронічний гепатит С, протівірусна терапія, пегільований інтерферон, рибавірин, ген *IFNL4*, ген *ITPA*.

Лікарі давно помітили, що фармакологічна відповідь на терапію у різних пацієнтів може відрізнятися. Проаналізувавши накопичені дані, вчені прийшли до висновку, що відповідь на терапію зумовлена генетичними, фізіологічними, біохімічними, метаболічними особливостями пацієнтів. Вивченням генетичних особливостей індивіду, які зумовлюють фармакологічну відповідь на лікування, займається фармакогенетика. Ці генетичні особливості, як правило, є поліморфними ділянками ге-

нів (алельними варіантами), білкові продукти яких беруть участь у фармакокінетиці та фармакодинаміці лікарських засобів. Виявлення конкретних алельних варіантів таких генів і є суттю фармакогенетичного тестування.

Хронічний гепатит С (ХГС) — захворювання печінки, що триває понад 6 місяців, причиною якого є інфікування вірусом гепатиту С, що призводить до запальних і фіброзних змін тканини печінки. За оцінками ВОЗ, 3 % населення планети

Інститут молекулярної біології і генетики НАН України

Відділ геноміки людини

Л. А. Лівшиць — зав. відділом, д.б.н., професор (ludmila.imbg@gmail.com)

В. М. Пампуха — н.с., к.б.н.

А. М. Кучеренко — м.н.с.

Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова МОЗ України

Кафедра інфекційних хвороб

Л. В. Мороз — зав. кафедри, д.м.н., професор

© В. М. Пампуха, А. М. Кучеренко, Л. В. Мороз, Л. А. Лівшиць, 2015.

інфіковані вірусом гепатиту С. Поширеність інфекції в Північній Європі становить менше 0,1 %, але перевищує 1% у Південній Європі. Більш розповсюджений вірусний гепатит С в Азії та Африці, де інфіковано 5 % населення. Найбільший відсоток інфікованих жителів (15 %) зафіксовано в Єгипті [16].

На підставі аналізу послідовностей РНК численних ізолятів вірусу гепатиту С, що були отримані у різних регіонах світу, виділяють сім основних груп вірусу (генотипів або типів) [23]. Незважаючи на те, що вірус гепатиту С поширений по усьому світу, в окремих регіонах спостерігається циркуляція певних генотипів вірусу. Генотипи 1 та 4 переважають у Центральній та Північній Африці, генотип 2 — у Західній Африці, 3 — у Південній Азії, 5 — у Південній Африці, 6 — у Східній Азії. В Україні домінують віруси гепатиту 1-го та 3-го типів.

У стандартній схемі лікування хворих на гепатит С використовують інтерферон α (IFNA) та рибавірин [12]. Генотип вірусу є важливим чинником у визначенні тривалості лікування гепатиту С. У випадку генотипів 2 або 3 тривалість лікування комбінацією інтерферону та рибавірину, як правило, становить 24 тижні. Терапія при генотипі 1 триває довше — 48 тижнів. Генотип вірусу важливий не лише для визначення тривалості лікування, але й для вибору препаратів і розрахунку їх дозування. Наприклад, рекомендована доза рибавірину для хворих з генотипом 2 і 3 становить 800 мг/добу, а при генотипі 1 вона може варіювати від 800 до 1400 мг/добу. Інгібітори протеази рекомендовано для лікування хворих, інфікованих вірусом гепатиту 1-го типу.

Одним із показників ефективності противірусної терапії є стійка вірусологічна відповідь — відсутність РНК вірусу гепатиту С через 24 тижні після закінчення лікування. Предикторами сприятливої відповіді на лікування хронічного гепатиту С є 2, 3, 5 та 6-й генотипи вірусу, вірусне навантаження менше 400 тис. МО/мл, жіноча стать і вік пацієнта до сорока років.

Кілька років тому низкою досліджень була показана ефективність використання одонуклеотидного поліморфізму *rs12979860*, що локалізований біля гена *IL28B* (*IFNL3*) як предиктора досягнення стійкої вірусологічної відповіді при подвійній терапії (пегільований інтерферон/рибавірин) хворих, інфікованих вірусом гепатиту С (тип 1) [14, 39, 47, 48, 50]. Серед пацієнтів європеїдної раси з хронічним гепатитом С, які отримали терапію пегільованим інтерфероном/рибавірином і мають генотипи СС, СТ, ТТ, стійка вірусологічна відповідь досягається у 69 %, 33 % і 27 %, відпо-

відно. Також показано, що частота поширення генотипу СС серед пацієнтів із спонтанним кліренсом вірусу гепатиту С при гострому гепатиті приблизно в 2 рази вища порівняно з тими, у кого інфекція набула хронічного перебігу. Прогностичне значення визначення поліморфізму *rs12979860* відносно досягнення стійкої вірусологічної відповіді на етапі планування противірусної терапії вище ніж прогностичне значення рівня вірусного навантаження, стадії фіброзу, віку та статі. Цей факт став підставою для рекомендації тестування поліморфізму *rs12979860* у пацієнтів, інфікованих вірусом гепатиту С (тип 1) перед початком противірусної терапії.

Нами був розроблений простий метод визначення поліморфізму *rs12979860* на основі аналізу поліморфізму довжини рестрикційних фрагментів (ПДРФ) та проведено генотипування цього поліморфізму серед осіб з невизначеним статусом хронічного гепатиту С в популяції України. Виявлено такий розподіл генотипів: СС — 56 %, СТ — 34 %, ТТ — 10 %. Зважаючи на високу частоту генотипу СС в популяції України, аналіз поліморфізму *rs12979860* можна використовувати для прогнозу відповіді пацієнта на лікування [34]. Нами також проведено аналіз поліморфізму *rs12979860* серед хворих на хронічний гепатит С з України, яких лікували пегільованим інтерфероном та рибавірином, і підтверджено висновки інших дослідників про те, що генотип СС є предиктором стійкої вірусологічної відповіді у хворих на хронічний гепатит С [2, 3].

У 2013 р. був відкритий інтерферон *IFNL4*, ген якого розташований на відстані приблизно 3 т.п.н. перед геном *IFNL3* [36]. Після відкриття гена *IFNL4* було встановлено, що поліморфізм *rs12979860* локалізований в першому інтроні даного гена, а в першому екзоні гена *IFNL4* ідентифіковано новий поліморфний локус *ss469415590* (зараз він має називу *rs368234815*). Він представляє собою поліморфізм, в якому алель *rs368234815*[G] може бути замінений на алель *rs368234815*[TT]. У випадку алеля *rs368234815*[G] існує рамка зчитування і синтезується протеїн *IFNL4*. А у випадку алеля *rs368234815*[TT] відбувається зсув рамки зчитування, в результаті чого не синтезується функціональний протеїн. В кількох дослідженнях показано, що алель *rs368234815*[G] перебуває у нерівноважному зчепленні із алелем *rs12979860*[T] і є предиктором поганої вірусологічної відповіді на лікування гепатиту С [36, 40, 46].

Ген *IFNL4* присутній у більшості ссавців, за виключенням мишей та щурів. За результатами порівняльного аналізу кодуєчої послідовності ДНК даного гена 12 ссавців встановлено її високу

консервативність, що є свідченням функціональної важливості цього гена. Також було встановлено, що алель *rs368234815*[G] у людей є предковим, а алель *rs368234815*[TT] виник у результаті мутації. Найнижча частота алеля *rs368234815*[TT] (29 %) виявлена серед африканських популяцій, а найвища (97 %) — серед жителів Східної Азії. В європейських популяціях частота даного алеля коливається в межах 58-77 % [18]. Таку різницю в поширенні алеля *rs368234815*[TT] серед різних популяцій можна пояснити його селективною перевагою.

Нами проведено аналіз розподілу генотипів та алельних варіантів *rs368234815* гена *IFNL4* в групах хворих із хронічним вірусним гепатитом С (група пацієнтів зі стійкою вірусологічною відповіддю та група індивідів зі слабкою або відсутньою відповіддю на терапію). Отримані дані про асоціацію алеля *rs368234815*[G] у пацієнтів з поганою відповіддю на терапію вкладаються в адитивну модель успадкування, тобто значення пенетрантності для гетерозигот є проміжним між значеннями ознаки пенетрантності для обох гомозигот. За результатами розрахунку показника відношення шансів, наявність алеля *rs368234815*[G] в генотипі пов'язана з трикратним збільшенням відносного ризику поганої відповіді на противірусну терапію пег-інтерфероном та рибавирином [22]. Спостерігається парадоксальне явище, коли експресія інтерферону *IFNL4* призводить до погіршення звільнення від вірусу гепатиту С, хоча показано, що *IFNL4* в культурі клітин пригнічує реплікацію вірусу гепатиту С [15].

Негативний вплив експресії гена *IFNL4* на механізми противірусного захисту пов'язують з його впливом на експресію інтерферон-стимульованих генів (ISG). Показано, що *IFNL4* долучається до сигнального каскаду за рахунок утворення комплексу *IFNL4* з відповідними рецепторами та може індукувати експресію інтерферон-стимульованих генів через Янус-кіназний шлях передачі і активацію транскрипційного сигнального шляху. Особи, які мають алель *rs368234815*[G], можуть продукувати низькі рівні *IFNL4*, що, у свою чергу, індукує слабку, але стійку експресію інтерферон-стимульованих генів у печінці, що робить ці клітини несприйнятливими до стимуляції за допомогою інтерферону *IFNA*. Було показано, що у таких осіб базальний рівень експресії інтерферон-стимульованих генів дещо вищий, і вони з меншою вірогідністю ефективно реагують на комбіновану терапію пег-інтерфероном та рибавирином [4]. Отже, поліморфізм *rs368234815* гена *IFNL4* є не лише інформативним, але й функціонально обґрунтованим з погляду молекулярних особливостей перебігу вірусної інфекції.

Останнім часом активізувалися дослідження усіх членів родини *IFNL*. Це зумовлено накопиченням даних про їх високу ефективність як противірусного агента та більшою спрямованістю їх дії внаслідок того, що відповідні рецептори синтезуються лише вузьким колом клітин і це зменшує ризик виникнення побічних реакцій органів та систем, що не залучені в безпосередню боротьбу з вірусною інфекцією.

Протеїни *IFNL1*, *IFNL2*, *IFNL3* були відкриті одночасно двома незалежними групами дослідників у 2003 р. [20, 43]. Відкриті протеїни спочатку отримали назву *IL29*, *IL28A*, та *IL28B*. Проте у 2012 р. Комітет HUGO з номенклатури змінив офіційні символи на *IFNL1*, *IFNL2* та *IFNL3*, відповідно. Ці зміни зумовлені тим, що дані цитокіни за своїми функціями є інтерферонами, а не інтерлейкінами. Протеїни *IFNL1*, *IFNL2* та *IFNL3* є високогомологічні один до одного. Так, послідовність амінокислот у протеїнах *IFNL2* та *IFNL3* співпадає на 96 %, а ідентичність між *IFNL1* та *IFNL2/IFNL3* становить 81 %. Після відкриття у 2013 р. інтерферону *IFNL4* було встановлено, що він гомологічний до інтерферону *IFNL3* лише на 29 %, але взаємодіє з тим самим комплектом рецепторів, що і *IFNL3*, і проявляє подібну антивірусну активність [15].

Інтерферони родини *IFNL* також називають інтерферонами III типу. Як відомо, інтерферони — група сигнальних протеїнів, які продукуються клітинами у відповідь на присутність таких патогенів, як віруси, бактерії, паразити, клітини пухлин. Вони належать до великого класу протеїнів, відомих як цитокіни, молекули яких задіяні в комунікації між клітинами, в результаті якої запускаються захисні засоби імунної системи, що спрямовані на звільнення від патогенів. У залежності від типу рецепторів, за допомогою яких інтерферони передають сигнал, їх поділяють на три типи. Інтерферони I типу (*IFNA* та *IFNB*) зв'язуються з рецепторним комплексом *IFNAR*, який складається з ланцюгів *IFNAR1* та *IFNAR2*. Інтерферони II типу (*IFNG*) взаємодіють з рецептором *IFNGR*, який складається з ланцюгів *IFNGR1* та *IFNGR2*. Інтерферони III типу (*IFNL*) передають сигнал клітині, взаємодіючи з рецепторним комплексом, який складається з *IL10R2* та *IFNLR1*.

На відміну від рецепторів для інтерферонів I типу, які експресуються на поверхні клітин всіх типів, рецептори для *IFNL* (зокрема, ланцюг *IFNLR1*) експресуються на обмеженій кількості типів клітин. Це переважно епітеліальні клітини респіраторного, шлунково-кишкового, уrogenітального трактів та шкіри [27, 35, 37, 45]. Гепатоцити — найбільш численні клітини печінки —

мають епіталіальне походження і тому очікувано відповідають на дію IFNL. На поверхні гепатоцитів добре експресуються рецептори до IFNL [8, 9, 11]. IFNLR1 також експресуються на деяких клітинах неепіталіального походження, наприклад, на поверхні міелоїдних та плазмацитоїдних дендритних клітин (mDCs та pDCs) [55, 58].

Експресія генів *IFNL* була виявлена в епіталіальних клітинах дихальних шляхів, кератиноцитах, гепатоцитах, в нервових клітинах [7, 20, 53, 54, 56]. В ряді досліджень показано, що основними продуцентами IFNL є міелоїдні та плазмацитоїдні дендритні клітини (mDCs та pDCs). І що цікаво, плазмацитоїдні дендритні клітини продукують як інтерферони родини IFNL, так IFNA, а міелоїдні дендритні клітини — тільки інтерферони родини IFNL [7, 24, 26, 55, 58]. Як відомо, основною функцією дендритних клітин є презентація антигенів Т-клітинам. Вони виконують також важливі імунорегуляторні функції — такі, як контроль за диференціюванням Т-лімфоцитів, регуляція активації чи супресії імунної відповіді. Найбільше дендритних клітин виявляють у тканинах, які контактують із зовнішнім середовищем, наприклад в епіталіальному шарі слизової оболонки кишечника, легень, шлунка. У відповідь на стимуляцію індукторами дозрівання міелоїдні дендритні клітини продукують переважно цитокіни Th1 спектра, зокрема IL-6, IL-12 та інтерферони II типу (IFNG). А плазмацитоїдні дендритні клітини продукують цитокіни переважно Th2 спектра, зокрема IL-4, IL-10. До того ж вони є основними продуцентами інтерферонів I типу (IFNA та IFNB) [52]. Важливо ще раз зауважити, що лише інтрферони III типу (IFNL) синтезуються як міелоїдними, так і плазмацитоїдними дендритними клітинами.

В ряді досліджень показано, що індукція інтерферонів I і III типів відбувається подібними сигнальними шляхами [20, 43, 53]. Тому цілком очікуваним є перехресний вплив інтерферонів різних систем один на одного. Наприклад, кількома групами дослідників показано, що міелоїдні дендритні клітини та макрофаги, на які діяли інтерфероном IFNA, збільшують експресію інтерферонів IFNL [53]. У свою чергу, інтерферони IFNL впливають на експресію IFNA. Наприклад, під дією IFNL мононуклеарні клітини крові та плазмацитоїдні дендритні клітини збільшують продукцію інтерферону IFNA [58].

У ряді досліджень перебігу деяких вірусних інфекцій шлунково-кишкового тракту та дихальних шляхів було встановлено, що інтерферони III типу відіграють більш значну роль, ніж інтерферони I типу, як медіатори противірусного захисту. Наприклад, у відповідь на інфікування ринові-

русами чи вірусами грипу А епіталіальні клітини дихальних шляхів продукують переважно інтерферони IFNL [17, 19, 54]. В культурі кератиноцитів, яка була інфікована вірусом везикулярного стоматиту, було виявлено високий рівень продукування IFNL, а інтерферони I типу були в дуже низькій концентрації [56]. На прикладі ротавірусної інфекції продемонстровано, що інтерферони IFNL відіграють головну роль у противірусному захисті клітин травного тракту [35]. А гепатоцити у відповідь на інфікування вірусом гепатоциту С теж активно продукують інтерферони IFNL [10]. Також встановлено, що *IFNL1* та *IFNL3* підсилюють противірусну дію інтерферону IFNA відносно вірусу гепатиту С [33, 44]. Важливо звернути увагу на те, що *IFNL4* пригнічує індукцію гена *IFNL3* і асоційований із вірусологічною невідповіддю на лікування інтерфероном IFNA [30]. Також показано, що за відсутності експресії гена *IFNL4* спостерігається значно вища експресія гена *IFNL3* [6].

Стандартна схема лікування хронічного гепатиту передбачає використання препаратів інтерферону IFNA. Лікування цим препаратом супроводжується рядом побічних ефектів, які частково можна пояснити присутністю рецепторів IFNAR на всіх клітинах. А рецептори для інтерферонів IFNL представлені тільки на деяких типах клітин. Тому можна очікувати менше побічних ефектів при терапії препаратами IFNL.

На культурах клітин та на печінці мишей було показано, що багаторазова стимуляція інтерфероном IFNA призводить до стану несприйняття (відсутності відповіді) клітинами даного препарату [42]. Важливо наголосити, що інтрферони IFNL не викликають в такій мірі стану відсутності відповіді і тому можуть бути більш адаптованими до багаторазової стимуляції [25].

Наразі тривають клінічні випробування пегільованого інтерферону IFNL1 (pegIFNL1) для лікування хронічного гепатиту С. Пройдено два етапи клінічних випробувань. Показано, що при лікуванні pegIFNL1 побічні ефекти менш виражені, ніж при лікуванні pegIFNA. І що важливо, не була виявлена гематологічна токсична дія pegIFNL [28, 29, 38, 57]. Також тривають клінічні випробування pegIFNL1 у комбінації з препаратами прямої антивірусної дії для терапії хронічного гепатиту С [53]. Дана комбінація препаратів, можливо, стане домінуючою в майбутньому при лікуванні гепатиту С. Можливо, препарати інтерферонів родини IFNL знайдуть широке застосування для терапії інфекцій з епіталіальним тропізмом, оскільки при застосуванні даних препаратів будуть мінімальні побічні ефекти. В майбутньому буде важливим провести клінічні дослідження застосування пре-

паратів інтерферонів родини IFNL при терапії респіраторних захворювань, викликаних вірусами грипу чи коронавірусу, чи при терапії кишкових інфекцій, спричинених ротавірусами або норовірусами. Також буде корисним провести аналіз впливу поліморфізму *rs368234815* гена *IFNL* на ефективність терапії іншими інтерферонами, і оцінити можливі ризики.

Всі гени родини *IFNL* локалізовані в обмеженій ділянці довжиною 50 т.п.н. на довгому плечі хромосоми 19. На відміну генів родини *IFNA*, які не мають інтронів, гени родини *IFNL* мають екзонно-інтронну структуру. Так, *IFNL1*, *IFNL4* мають 5 екзонів, а *IFNL2* і *IFNL3* — 6 екзонів [15]. Гени *IFNL1*, *IFNL2*, *IFNL3* є функціональними генами, а *IFNL4* є псевдогеном у значній частині осіб в різних популяціях. В даному локусі також знаходяться ще два псевдогени, а саме *IFNL3P1* та *IFNL4P1*.

Псевдогени — це послідовність ДНК, яка має високу ступінь гомології з нормальним геном, але сама по собі функціонально неактивна. Існує кілька класів псевдогенів. У даному випадку це непроцесовані гени, які не експресують, тобто це нефункціональні копії нормальних генів. Вони містять всі структурні компоненти (екзони, інтрони, фланкуючі послідовності) діючого гена, але мають певні мутації, що блокують їх експресію (наприклад, стоп-кодон на початку кодуючої послідовності або зсув рамки зчитування). Вважають, що основним механізмом утворення неекспресуючих непроцесованих псевдогенів є тандемна дуплікація функціонального гена. Як правило, одна із двох еквівалентних копій гена під тиском відбору зберігає активність, експресується і дає функціональний продукт. Друга копія гена в умовах послаблення дії відбору може накопичувати мутації і в результаті перетворитись на псевдоген. За відсутності відбору мутації у псевдогені будуть накопичуватись і надалі, і можуть змінити псевдоген до невпізнання. Варто наголосити, що дуплікація гена не обов'язково призводить до перетворення однієї з копій на псевдоген. Копія гена з часом може стати новим експресуючим геном. Вважають, що дуплікації генів забезпечують можливість блочних перебудов, які приводять до комбінування фрагментів із різних гомологічних генів і псевдогенів і до появи нових протейнів зі зміненими функціями.

Насьогодні відомі послідовності амінокислот інтерферонів родини IFNL багатьох видів ссавців. На основі філогенетичного аналізу можна зробити висновок, що в усіх ссавців, за виключенням гризунів, були один предковий *IFNL4*-подібний ген та інший ген, який на різних етапах еволюції у різних видів ссавців у результаті дуплікацій дав початок для інтерферонів *IFNL1*, *IFNL2*, *IFNL3*.

Аналізуючи геномну організацію локусу генів родини *IFNL* у людини, можна зробити припущення, що в процесі еволюції предків людини в результаті дуплікації *IFNL1*-подібного гена утворився ген *IFNL2*. Далі в процесі еволюції людини в результаті дуплікації регіону, який містив *IFNL4*-подібний ген та ген *IFNL2*, з'явилися гени *IFNL3* та *IFNL4*. Далі була ще одна дуплікаційна подія і поява псевдогена *IFNL3P1*. Також псевдогенізація зазнала одна з копій *IFNL4* і утворення *IFNL4P1*. Інша копія гена *IFNL4* є псевдогеном у значній частині осіб людської популяції. Припускають, що мутація в гені *IFNL4* (*rs368234815*), в результаті якої відбувається зсув рамки зчитування, мала місце в Африці і після виходу людей 55 тисяч років тому з даного континенту на простори Євразії набула широкого поширення в різних популяціях. Вважають, що в нових умовах середовища селективну перевагу отримали особи, у яких був виключений ген *IFNL4*. Враховуючи, що дана мутація швидко поширилась в популяціях Євразії, то очевидно, що це відбулось під тиском інфекційних агентів, які дуже поширені на даному континенті, і менше поширені в Африці.

При лікуванні хворих на хронічний гепатит С інтерфероном IFNA та рибавірином у багатьох пацієнтів спостерігають низку побічних ефектів, а саме, анемію, тромбоцитопенію, аутоімунні прояви, тиреоїдити та ін. Розвиток анемії у хворих пов'язаний із застосуванням рибавіріну. В дослідженнях, проведених в різних лабораторіях світу, а також за результатами наших досліджень, показано, що поліморфні варіанти гена інозин трифосфат пірофосфатази (ITPA) можуть відігравати протективну роль у розвитку рибавірин-індукованої анемії, що виникає під час лікування хворих на гепатит С [13, 21, 23, 32, 41, 51]. В даному гені ідентифіковані два найбільш часті поліморфізми ДНК (*rs1127354* та *rs7270101*), які зумовлюють понижену активність ферменту ITPA [5].

У групі хворих з хронічним гепатитом С (I тип вірусу) з України ми провели аналіз асоціації поліморфізмів *rs1127354* та *rs7270101* гена ITPA з розвитком анемії. Розподіл генотипів за поліморфними варіантами *rs7270101* достовірно не відрізнявся в групах пацієнтів з рибавірин-індукованою анемією та без анемії. Але було виявлено достовірну асоціацію поліморфного варіанта *rs1127354* гена ITPA зі стійкістю до розвитку рибавірин-індукованої гемолітичної анемії у пацієнтів з хронічним гепатитом С. Частота носіїв алеля *rs1127354[A]* була достовірно вищою ($P < 0,05$) в групі пацієнтів без анемії (23,7 %) порівняно з групою пацієнтів з анемією (7,3 %) [21]. Таким чином, одонуклеотидний поліморфізм *rs1127354* може слугувати фарма-

когенетичним маркером для прогнозу анемії при використанні рибавіріну та для індивідуальної корекції противірусної терапії хронічного гепатиту С.

Отже, фармакогенетичне тестування при лікуванні хронічного гепатиту С дає змогу застосовувати індивідуальний підхід у призначенні лікар-

ських засобів і їх дозуванні та прогнозувати перебіг захворювання і таким чином уникати помилок у призначенні лікування. Це дозволяє знизити ймовірність побічних явищ, зменшити зайві фінансові витрати, що створює підґрунтя для ефективної персоніфікованої терапії.

Список використаної літератури

1. Кучеренко А. М., Романчук К. Ю., Пампуха В. М. та ін. Поліморфізм гена *IFNL4* — новий фармакогенетичний маркер ефективності терапії хронічного вірусного гепатиту С // *Гепатологія*. — 2015. — **27**, № 1. — С. 21-26.
2. Мороз Л. В., Дудник В. М., Лівшиць Л. А. та ін. Прогностичне значення поліморфізму гена *IL-28b* щодо успішності противірусної терапії у хворих на хронічний гепатит С // *Сучасна гастроентерологія*. — 2011. — № 2. — С. 24-26.
3. Мороз Л. В., Романчук К. Ю. Прогнозирование фармакотерапии хронического гепатита С в зависимости от полиморфизма гена *IL28B* // *Актуальна інфектологія*. — 2014. — № 3. — С. 24-26.
4. Amanzada A., Kopp W., Spengler U. et al. Interferon- λ 4 (*IFNL4*) Transcript Expression in Human Liver Tissue Samples // *PLoS One*. — 2013. — **8**, № 12. — doi: 10.1371/journal.pone.0084026.
5. Arenas M., Duley J., Sumi S. et al. The ITPA c.94C>A and g.IVS2+21A>C sequence variants contribute to missplicing of the ITPA gene // *Biochim. Biophys. Acta*. — 2007. — **1772**. — P. 96-102.
6. Bibert S., Roger T., Calandra T. et al. *IL28B* expression depends on a novel TT/-G polymorphism which improves HCV clearance prediction // *J. Exp. Med*. — 2013. — **210**. — P. 1109-1116.
7. Coccia E. M., Severa M., Giacomini E. et al. Viral infection and Toll-like receptor agonists induce a differential expression of type I and lambda interferons in human plasmacytoid and monocyte-derived dendritic cells // *Eur. J. Immunol*. — 2004. — **34**. — P. 796-805.
8. Dickensheets H., Sheikh F., Park O. et al. Interferon-lambda (*IFN-lambda*) induces signal transduction and gene expression in human hepatocytes, but not in lymphocytes or monocytes // *J. Leukoc. Biol*. — 2013. — **93**. — P. 377-385.
9. Diegelmann J., Beigel F., Zitzmann K. et al. Comparative analysis of the lambda-interferons *IL-28A* and *IL-29* regarding their transcriptome and their antiviral properties against hepatitis C virus // *PloS One*. — 2010. — **5**, № 12. — doi: 10.1371/journal.pone.0015200.
10. Dolganiuc A., Kodys K., Marshall C. et al. Type III interferons, *IL-28* and *IL-29*, are increased in chronic HCV infection and induce myeloid dendritic cell-mediated FoxP3+ regulatory T cells // *PloS One*. — 2012. — **7**, № 10. — doi: 10.1371/journal.pone.0044915.
11. Doyle S. E., Schreckhise H., Khuu-Duong K. et al. Interleukin-29 uses a type I interferon-like program to promote antiviral responses in human hepatocytes // *Hepatology*. — 2006. — **44**. — P. 896-906.
12. European Association for Study of Liver EASL Recommendations on treatment of hepatitis C 2015 // *J. Hepatol*. — 2015. — **63**. — P. 199-236.
13. Fellay J., Thompson A. J., Ge D. et al. ITPA gene variants protect against anaemia in patients treated for chronic hepatitis C // *Nature*. — 2010. — **464**. — P. 405-408.
14. Ge D., Fellay J., Thompson A. J. et al. Genetic variation in *IL28B* predicts hepatitis C treatment-induced viral clearance // *Nature*. — 2009. — **461**. — P. 399-401.
15. Hamming O. J., Terczynska-Dyla E., Veyres G. et al. Interferon lambda 4 signals via the IFN λ receptor to regulate antiviral activity against HCV and coronaviruses // *EMBO J*. — 2013. — **32**. — P. 3055-3065.
16. Hanafiah K. M., Groeger J., Flaxman A. D., Wiersma S. T. Global epidemiology of hepatitis C virus infection: new estimates of age-specific antibody to HCV seroprevalence // *Hepatology*. — 2013. — **57**. — P. 1333-1342.
17. Ioannidis I., Ye F., McNally B. et al. Toll-like receptor expression and induction of type I and type III interferons in primary airway epithelial cells // *J. Virol*. — 2013. — **87**. — P. 3261-3270.
18. Key F. M., Peter B., Dennis M. Y. et al. Selection on a variant associated with improved viral clearance drives local, adaptive pseudogenization of interferon lambda 4 (*IFNL4*) // *PLoS Genet*. — 2014. — **10**, № 10. — doi: 10.1371/journal.pgen.1004681.
19. Khaitov M. R., Laza-Stanca V., Edwards M. R. et al. Respiratory virus induction of alpha-, beta- and lambda-interferons in bronchial epithelial cells and peripheral blood mononuclear cells // *Allergy*. — 2009. — **64**. — P. 375-386.
20. Kotenko S. V., Gallagher G., Baurin V. V. et al. IFN-hs mediate antiviral protection through a distinct class II cytokine receptor complex // *Nat. Immunol*. — 2002. — **4**. — P. 69-77.
21. Kucherenko A., Pampukha V., Bobrova I. et al. ITPA gene variant may protect against anemia induced during pegylated interferon alfa and ribavirin combination treatment in Ukrainian patients with chronic hepatitis C // *Tsitol. Genet*. — 2015. — **49**. — P. 38-41.
22. Kucherenko A. M., Pampukha V. M., Livshits L. A. Study on the *IFNL4* gene *ss469415590* variant in Ukrainian population // *Biopolymers and Cell*. — 2014. — **30**, № 5. — P. 400-402.
23. Kurosaki M., Tanaka Y., Tanaka K. et al. Relationship between polymorphisms of the inosine triphosphatase gene and anaemia or outcome after treatment with pegylated interferon and ribavirin // *Antivir. Ther*. — 2011. — **16**. — P. 685-694.
24. Lauterbach H., Bathke B., Gilles S. et al. Mouse CD8alpha+ DCs and human BDCA3+ DCs are major producers of IFN-lambda in response to poly IC // *J. Exp. Med*. — 2010. — **207**. — P. 2703-2717.
25. Makowska Z., Duong F. H., Trincucci G. et al. Interferon-beta and interferon-lambda signaling is not affected by

- interferon-induced refractoriness to interferon- α *in vivo* // *Hepatology*. — 2011. — **53**. — P. 1154-1163.
26. Megjugorac N. J., Gallagher G. E., Gallagher G. et al. IL-4 enhances IFN- λ 1 (IL-29) production by plasmacytoid DCs via monocyte secretion of IL-1Ra // *Blood*. — 2010. — **115**. — P. 4185-4190.
 27. Mordstein M., Neugebauer E., Ditt V. et al. Lambda interferon renders epithelial cells of the respiratory and gastrointestinal tracts resistant to viral infections // *J. Virol.* — 2010. — **84**. — P. 5670-5677.
 28. Muir A. J., Arora S., Everson G. et al. A randomized phase 2b study of peginterferon lambda-1a for the treatment of chronic HCV infection // *J. Hepatol.* — 2014. — **61**. — P. 1238-1246.
 29. Muir A. J., Shiffman M. L., Zaman A. et al. Phase 1b study of pegylated interferon lambda 1 with or without ribavirin in patients with chronic genotype 1 hepatitis C virus infection // *Hepatology*. — 2010. — **52**. — P. 822-832.
 30. Murakawa M., Asahina Y., Nakagawa M. et al. Impaired induction of interleukin 28B and expression of interferon λ 4 associated with nonresponse to interferon-based therapy in chronic hepatitis C // *J. Gastroenterol. Hepatol.* — 2015. — **30**. — P. 1075-1084.
 31. Nakano T., Lau G. M., Lau G. M. et al. An updated analysis of hepatitis C virus genotypes and subtypes based on the complete coding region // *Liver Int.* — 2012. — **32**. — P. 339-345.
 32. Nishimura T., Osaki R., Shioya M. et al. Polymorphism of the inosine triphosphate pyrophosphatase gene predicts ribavirin-induced anemia in chronic hepatitis C patients // *Mol. Med. Rep.* — 2012. — **5**. — P. 517-520.
 33. Pagliaccetti N. E., Eduardo R., Kleinstein S. H. et al. Interleukin-29 functions cooperatively with interferon to induce antiviral gene expression and inhibit hepatitis C virus replication // *J. Biol. Chem.* — 2008. — **283**. — P. 30079-30089.
 34. Pampukha V. M., Kravchenko S. A., Moroz L. V. et al. IFN- λ 3 (IL28B) genotyping by restriction fragment length polymorphism method: detection polymorphism of rs12979860 // *Biopolymers and Cell.* — 2011. — **27**. — P. 231-234.
 35. Pott J., Mahlkoiv T., Mordstein M. et al. IFN- λ 3 determines the intestinal epithelial antiviral host defense // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. — 2011. — **108**. — P. 7944-7949.
 36. Prokunina-Olsson L., Muchmore B., Tang W. et al. A variant upstream of IFNL3 (IL28B) creating a new interferon gene IFNL4 is associated with impaired clearance of hepatitis C virus // *Nat. Genet.* — 2013. — **45**. — P. 164-171.
 37. Pulverer J. E., Rand U., Lienenklaus S. et al. Temporal and spatial resolution of type I and III interferon responses *in vivo* // *J. Virol.* — 2010. — **84**. — P. 8626-8638.
 38. Ramos E. L. Preclinical and clinical development of pegylated interferon-lambda 1 in chronic hepatitis C // *J. Interferon Cytokine Res.* — 2010. — **30**. — P. 591-595.
 39. Rauch A., Kutalik Z., Descombes P. et al. Genetic variation in IL28B is associated with chronic hepatitis C and treatment failure: a genome-wide association study // *Gastroenterology*. — 2010. — **138**. — P. 1338-1345.
 40. Real L. M., Neukam K., Herrero R. et al. IFNL4 rs469415590 variant shows similar performance to rs12979860 as predictor of response to treatment against hepatitis C virus genotype 1 or 4 in Caucasians // *PLoS One*. — 2014. — **9**, № 4. — doi: 10.1371/journal.pone.0095515.
 41. Sakamoto N., Tanaka Y., Nakagawa M. et al. ITPA gene variant protects against anemia induced by pegylated interferon- α and ribavirin therapy for Japanese patients with chronic hepatitis C // *Hepatol. Res.* — 2010. — **40**. — P. 1063-1071.
 42. Sarasin-Filipowicz M., Wang X., Yan M. et al. Alpha interferon induces long-lasting refractoriness of JAK-STAT signaling in the mouse liver through induction of USP18/UBP43 // *Mol. Cell Biol.* — 2009. — **29**. — P. 4841-4851.
 43. Sheppard P., Kindsvogel W., Xu W. et al. IL-28, IL-29 and their class II cytokine receptor IL-28R // *Nat. Immunol.* — 2002. — **4**. — P. 63-68.
 44. Shindo H., Maekawa S., Komase K. et al. IL-28B (IFN- λ 3) and IFN- α synergistically inhibit HCV replication // *J. Viral. Hepat.* — 2013. — **20**. — P. 281-289.
 45. Sommereyns C., Paul S., Staeheli P. et al. IFN- λ 3 (IFN- λ) is expressed in tissue-dependent fashion and primarily acts on epithelial cells *in vivo* // *PLoS Pathog.* — 2008. — **4**, № 3. — doi: 10.1371/journal.ppat.1000017.
 46. Stättermayer A. F., Strassl R., Maieron A. et al. Polymorphisms of interferon- λ 4 and IL28B — effects on treatment response to interferon/ribavirin in patients with chronic hepatitis C // *Aliment. Pharmacol. Ther.* — 2014. — **39**, № 1. — P. 104-111.
 47. Suppiah V., Moldovan M., Ahlenstiel G. et al. IL28B is associated with response to chronic hepatitis C interferon- α and ribavirin therapy // *Nat. Gen.* — 2009. — **41**. — P. 1100-1104.
 48. Tanaka Y., Nishida N., Sugiyama M. et al. Genome-wide association of IL28B with response to pegylated interferon- α and ribavirin therapy for chronic hepatitis C // *Nat. Genet.* — 2009. — **41**. — P. 1105-1109.
 49. Taniguchi T., Ogasawara K., Takaoka A. et al. IRF family of transcription factors as regulators of host defense // *Annu. Rev. Immunol.* — 2001. — **19**. — P. 623-655.
 50. Thomas D. L., Thio C. L., Martin M. P. et al. Genetic variation in IL28B and spontaneous clearance of hepatitis C virus // *Nature*. — 2009. — **461**. — P. 798-801.
 51. Thompson A. J., Fellay J., Patel K. et al. Variants in the ITPA gene protect against ribavirin-induced hemolytic anemia and decrease the need for ribavirin dose reduction // *Gastroenterology*. — 2010. — **39**. — P. 1181-1189.
 52. Ueno H., Klechevsky E., Morita R. et al. Dendritic cell subsets in health and disease // *Immunol. Rev.* — 2007. — **219**. — P. 118-142.
 53. Wack A., Terczyńska-Dyla E., Hartmann R. Guarding the frontiers: the biology of type III interferons // *Nat. Immunol.* — 2015. — **16**. — P. 802-809.
 54. Wang J., Oberley-Deegan R., Wang S. et al. Differentiated human alveolar type II cells secrete antiviral IL-29 (IFN- λ 1) in response to influenza A infection // *J. Immunol.* — 2009. — **182**. — P. 1296-1304.
 55. Yin Z., Dai J., Deng J. et al. Type III IFNs are produced by and stimulate human plasmacytoid dendritic cells // *J. Immunol.* — 2012. — **189**. — P. 2735-2745.
 56. Zahn S., Rehkemper C., Kummerer B. M. et al. Evidence for a pathophysiological role of keratinocyte-derived type III interferon (IFN λ) in cutaneous lupus erythematosus // *J. Invest. Dermatol.* — 2011. — **131**. — P. 133-140.
 57. Zeuzem S., Arora S., Bacon B. et al. Pegylated interferon-lambda (pegIFN λ) shows superior viral response with

improved safety and tolerability versus pegIFN- α 2 in HCV patients (G1/2/3/4): EMERGE phase IIB through week 12 // J. Hepatol. — 2011. — 54. — P. 538-539.

58. Zhang S., Kodys K., Li K. et al. Human type 2 myeloid dendritic cells produce interferonlambda and amplify interferon-alpha in response to hepatitis C virus infection // Gastroenterology. — 2013. — 144. — P. 414-425.

Одержано 20.01.2015

ФАРМАКО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ПРОГНОЗА ПРОТЕКАНИЯ ЛЕЧЕНИЯ ХРОНИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА С (обзор литературы и собственных исследований)

В. Н. Пампуха, А. М. Кучеренко, Л. В. Мороз*, Л. А. Лившиц

Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины, 03680 Киев

*Винницкий национальный медицинский университет им. Н. И. Пирогова МЗ Украины, 21018 Винница

Около 3 % населения поражены вирусом гепатита С, который у хронически инфицированных индивидов может привести к циррозу печени или гепатоцеллюлярной карциноме. Стандартом лечения хронического гепатита С является комбинация пегилированного интерферона и рибавирина, которая, однако, имеет существенные побочные реакции и разную эффективность лечения. Нашими исследованиями и работами других авторов было показано, что вирусологический ответ на лечение интерфероном ассоциирован с аллельными вариантами гена *IFNL4* (*rs12979860* и *rs368234815*). Определены многочисленные показатели состояния вируса и организма-хозяина, которые могут быть использованы как предикторы ответа на лечение интерфероном и рибавирином. Учитывая то, что *rs368234815* вызывает изменения экспрессии гена *IFNL4*, он является лучшим кандидатом для использования в качестве фармакогенетического маркера. Вариант *rs1127354* гена инозин трифосфатазы (*ITPA*) ассоциирован с рибавирин-индуцированной анемией, в связи с чем необходима коррекция лекарственной дозы для больных-носителей этого аллеля. При этом аллельные варианты гена *ITPA* также являются информативными фармакогенетическими маркерами побочных эффектов при лечении рибавирином. Внедрение генетического тестирования фармакогенетических маркеров позволит существенно улучшить персонализированную терапию вирусного гепатита С в Украине.

PHARMACOGENETIC MARKERS FOR PROGNOSIS OF TREATMENT COURSE OF CHRONIC HEPATITIS C (review of literature and own data)

V. M. Pampukha, A. M. Kucherenko, L. V. Moroz*, L. A. Livshits

Institute of Molecular Biology and Genetics NAS Ukraine, 03680 Kyiv

*N. I. Pyrohov National Medical University Ministry of Health Ukraine, 21018 Vinnitsa

About 3 % of the world population are affected by hepatitis C virus, which may lead to cirrhosis and hepatocellular carcinoma in chronically infected patients. Standard treatment for chronic hepatitis C includes a combination of interferon and ribavirin, which, however, produce significant adverse effects and varying response to treatment. The results of own research and of studies by other authors have shown that viral response to interferon treatment was associated with allelic variants of the gene *IFNL4* (*rs12979860* and *rs368234815*). Identified are numerous viral and host factors, which can be useful predictors of response to interferon and ribavirin treatment. Considering that *rs368234815* modifies the *IFNL4* gene expression, it is the best candidate for being a pharmacogenetic marker. *Rs1127354* variant of inosine triphosphatase (*ITPA*) gene is associated with ribavirin-induced anemia, thus requiring a correction of drug doses for the carriers of this allele. The allelic variants of the *ITPA* gene are also informative pharmacogenetic markers of the side effects of ribavirin treatment. The introduction of genetic testing of pharmacogenetic markers may significantly improve the personalized treatment of hepatitis C in Ukraine.