

□ Оригинальные научные публикации

С. В. Жаворонок¹, В. Р. Гутмане¹, Д. И. Стратиенко¹,
О. В. Солдатенко², Т. М. Барьяш², Т. В. Зновец¹,
В. М. Мицура³, В. Е. Воропаев³, И. А. Карпов¹,
Д. Е. Данилов¹, Е. Н. Яговдик¹, С. О. Вельгин²

РЕЗУЛЬТАТЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ ЛЕЧЕНИЯ ХРОНИЧЕСКОГО ВИРУСНОГО ГЕПАТИТА С

УО «Белорусский государственный медицинский университет»¹,
УЗ «Городская инфекционная клиническая больница» г. Минск²,
УО «Гомельский государственный медицинский университет»³

Проведена ретроспективная оценка эффективности интерфероновых (ИФН) схем; обоснована целесообразность внедрения в современных условиях безинтерфероновых схем терапии для лечения пациентов, страдающих хроническим вирусным гепатитом С (ХВГС), в особенности, с 1 генотипом, имеющих мутации гена интерлейкин-28В (IL-28В) и не ответивших на ИФН-терапию. В ходе исследования было выявлено, что удельный вес пациентов с 3 генотипом ВГС (42,6 %) превышает таковой показатель распространенности 3 генотипа в регионе, и, в отличие от 1 генотипа, данные пациенты хорошо реагируют на ИФН-схемы терапии, как «стандартными» (устойчивый вирусологический ответ (УВО) – 80,8%), так и пегилированными (ПЕГ) ИФН (УВО – 85,9%). У пациентов с наличием хотя бы 1 мутантного аллеля гена IL-28В (SNP rs12979860) вероятность УВО на ИФН-схемы низкая ($p = 0,001$). ИФН-схемы применимы для лечения пациентов со 2 и 3 генотипом, а также с 1 генотипом без мутантных аллелей гена IL-28В: CC (SNPrs12979860).

Ключевые слова: хронический вирусный гепатит С, интерлейкин-28В, интерферонотерапия, препараты прямого противовирусного действия.

**S. V. Zhavoronok, V. R. Gutmane, D. I. Stratienko, T. M. Baryash,
O. V. Soldatenko, T. V. Znovetz, V. M. Mitsura, E. V. Voropaev,
I. A. Karpov, D. E. Danilau, E. N. Yagovdik, S. O. Velgin**

RESULTS AND PROSPECTS OF THE TREATMENT OF CHRONIC VIRAL HEPATITIS C

The aim of the article was to evaluate the interferon regimens retrospectively; to prove the interferon-free regimens appointment reasonability for treatment of patients, suffering from chronic viral hepatitis C, especially with the first genotype of hepatitis C virus, and also with mutations of interleukin-28B gene. The study revealed, that the proportion of patients with genotype 3 hepatitis C (42.6%) is higher than the rate of genotype 3 prevalence in the region, and, in contrast to genotype 1, in most cases, these patients respond well to interferon-regimens, both «standard» (sustained virological response – 80,8%) and PEGylated interferon (sustained virological response – 85,9%) . In patients with the presence of at least one mutation in the SNPrs12979860 of gene IL-28B likelihood of SVR to interferon schemes is low ($p = 0.001$). Interferonschemes are useful for treating patients with genotype 3, and for those with genotype 1 without mutant alleles of IL-28B gene: CC (SNP rs12979860).

Key words: chronic viral hepatitis C, IL-28B, interferon therapy, direct-acting antiviral agents.

Анализ заболеваемости гепатитами, обусловленными вирусами В и С за период с 2002 по 2015 г. в г. Минске выявил, что средний показатель за указанный период составил 92,0 на 100 000 населения. Максимальная заболеваемость зарегистрирована в 2004 г. и составила – 112,9 на 100 000 населения, минимальная – в 2014 г. – 67,23 на 100 000 населения. Обращает на себя внимание тенденция ежегодного снижения интегрированного

показателя заболеваемости всеми нозоформами парентеральных вирусных гепатитов (ПВГ) (темп снижения 2002–2015 гг. = –3,49%, $p < 0,05$). Однако, в г. Минске за период с 2011 по 2015 год зарегистрировано увеличение уровня распространённости ПВГ на 25,5%. Указанный показатель на 01.01.2016 г. составил 783,63 на 100 000 населения. Аналогичные тенденции выявлены и в других регионах РБ. Учитывая вышесказанное, понятен интерес специа-

листов к эффективности существующих и внедрению новых схем терапии.

Длительное время (с начала 90-х годов) противовирусная терапия, при которой интерферон (ИФН) рассматривался как базовый препарат, была единственно возможным способом лечения ВГС-инфекции. Однако, в настоящее время показания к ИФН-терапии ХВГС постепенно сужаются [7]. Опираясь на данные их клинического применения, половина пациентов с ХВГС, особенно с 1 генотипом, не отвечают на лечение ИФН и рибавирином (РБВ) и требуют повторной терапии [4]. Различают «стандартные» («короткоживущие») ИФН α -2b и α -2a и пегилированные (ПЕГ-ИФН). В настоящее время на рынке представлено три вида ПЕГ-ИФН: ПЕГ-ИФН α -2a «Пегасис», ПЕГ-ИФН α -2b «ПегИнtron» и цепегинтерферон «Альгерон». ПЕГ-ИФН – это ИФН, сорбированный на молекулах полиэтиленгликоля для создания депо и увеличения продолжительности действия ИФН. Тяжелые побочные (нежелательные) эффекты характерны для всех схем лечения с применением ИФН [4].

В настоящее время существует много работ, показывающих влияние генетических факторов на эффективность схем противовирусной терапии с включением ИФН [1–4, 9]. IL-28B – цитокин с иммуномодулирующей активностью. В структуре гена (ДНК), кодирующего IL-28B, возможны замены нуклеотидов, что называется «генетическим полиморфизмом». Единичные нуклеотидные полиморфизмы (SNP) в гене IL-28B коррелируют с устойчивым вирусологическим ответом (УВО) при лечении пациентов ПЕГ-ИФН и РБВ [3, 4]. Знание о наличии мутаций гена IL-28B в геноме пациента с 1 генотипом вируса повышает точность и достоверность прогнозирования УВО на терапию, снижает риск развития рецидива [3, 4]. Наличие этих мутаций влияет и на частоту хронизации ВГС [4].

Изучение патогенетических аспектов адаптивного иммунитета при хронических формах ВГС-инфекции показало, что эндогенная система ИФН в этом случае не только терпит неудачу в элиминации ВГС, но препятствует терапевтическому эффекту противовирусной терапии с включением ИФН. Механизмы данного явления остаются не ясными [10].

На смену ИФН-терапии пришли препараты прямого противовирусного действия (ПППД), основными мишенями которых являются неструктурные белки генома ВГС (необходимы для внутриклеточного размножения). В сравнении со своими предшественниками, преимуществом ПППД является отсутствие серьезных побочных эффектов, пероральное применение (таблетки или капсулы), а также сокращение срока терапии. Первыми препаратами, одобренными к клиническому применению, были телпревир и боцепревир. В то время они получили широкую популярность, но к текущему году клиницисты отошли от их применения [7]. Одним из основных

современных средств лечения ВГС стал софосбувир (SOF), который применяется как с ИФН и РБВ, так и с другими ПППД, такими, как даклатасвир, симепревир, ледипасвир. Софосбувир применяется для лечения пациентов с 1, 2, 3 и 4 генотипами ВГС. На данный момент в Российской Федерации зарегистрированы препараты симепревир (SMP), даклатасвир (DAC), а также комбинированный препарат «Viekira Pak» (омбитасвир + паритапревир, усиленный ритонавиром, и дасабувир; OMB+PTV/r+DAS) стоимостью свыше 1 млн российских руб. В США и ЕС одобрен и широко используется комбинированный препарат «Harvoni» (ледипасвир + софосбувир; LDV+SOF) [7]. Цены на оригинальные препараты «Harvoni» и «ViekiraPak», по данным открытых источников в Интернете, весьма высокие: в США 12-недельный курс «Harvoni» стоит 94,500 долларов США [9], а 12-недельный курс «Viekira Pak» – 83,319 долларов США [8]. На фармацевтическом рынке в Республике Беларусь так же появился комбинированный препарат OMB+PTV/r+DAS стоимостью 331 млн белорусских руб.

Один из лицензионных дженериков «Harvoni» (производитель – Индия) имеет ориентировочную цену от 320 до 600 долларов США за 4 недели терапии [6]. Дженерик LDV+SOF прошел многочисленные клинические испытания, одобрен для лечения пациентов с 1 и 4 генотипами ВГС и не требует комбинаций с другими препаратами. Результаты исследований показали, что шансы на выздоровление начинаются от 95% при трехмесячных курсах и достигают 100% эффекта при шестимесячном курсе, при этом возможно эффективное лечение на стадии цирроза печени (ЦП) [6].

Цель. Оценить эффективность двухкомпонентной противовирусной терапии (ИФН и РБВ) и разработать алгоритм назначения альтернативных схем терапии ПППД с учётом генотипа ВГС, субтипа ВГС, наличия мутаций гена IL-28B и опыта применения двухкомпонентной противовирусной терапии.

Материал и методы. Методом сплошной выборки с помощью программы Microsoft Excel 2010 нами была создана база данных, куда вошли все пациенты, начавшие лечение с 2009 г. и завершившие лечение на 01.09.2015 г. Для участия в исследовании было отобрано 589 пациентов с ХВГС, которые прошли курс лечения «стандартными» ИФН и РБВ или ПЕГ-ИФН и РБВ в Центре инфекционной гепатологии на базе ГКИБ г. Минска в период с 2009 по 2015 гг. Из 589 пациентов было 338 мужчин и 251 женщина, из них репродуктивного возраста – 199 человек (33,8% от всех 589 пациентов). Соотношение М/Ж = 1,347. Медиана возраста составила 39 лет с минимальным возрастом 23 года и максимальным 69 лет.

Полученные данные по результатам терапии были разделены на две группы по критериям: «устойчи-

Оригинальные научные публикации

вый вирусологический ответ» (УВО) – отрицательный результат РНК через 24 недели после окончания курса лечения и «неудачное лечение» (НЛ), который включал в себя: случаи отмены лечения по причине неответа, вирусологического прорыва на фоне лечения; развития побочных эффектов, а также случаи рецидива, связанные с повторным появлением в крови пациентов РНК вируса после завершения курса терапии при достижении ответа на момент ее окончания [4].

Выявление SNP 39743165T > G (rs8099917) и SNP 39738787C > T (rs12979860) гена IL-28B (классификация NCBI) с использованием метода ПЦР-ПДРФ (полиморфизм длин рестрикционных фрагментов) было внедрено в УЗ «Городская инфекционная клиническая больница» (ГИКБ) г. Минска с 2013 г. [3].

Статистическая обработка полученной информации проводилась с помощью программы STATISTICA v 6.0. Для анализа количественных данных использовался непараметрический критерий χ^2 , точный критерий Фишера; расчет доверительных интервалов (ДИ) проводился с помощью откорректированного метода Вальда. Статистически значимой считалась 95% вероятность различий ($p < 0,05$).

Результаты и обсуждение

Среди обследованных пациентов 1-й генотип ВГС выявлен у 294 (49,9%), 2-й – у 37 (6,3%), 3-й – у 251 (42,6%), смешанный – у 3 (0,5%). Генотип не был идентифицирован у 4 (0,7%). В ходе исследования было обнаружено, что количество пациентов, находившихся на противовирусном лечении с 3 генотипом, сопоставимо с количеством пациентов с 1 генотипом. Субтипирование генотипа ВГС выполнялось у 139 (23,6%). Субтип 1a выявлен у 9 (6,5%), 1b – у 70 (50,4%), 1a и 1b – у 5 (4,3%). Субтип 3a выявлен у 50 (36%), 3b – у 2,1%, 1b и 3a – у 0,7. Выборка пролеченных пациентов отличается от выборки инфицированных ВГС и несколько противоречит современным представлениям о существенном превалировании 1b генотипа в регионе [4].

У 152 пациентов (26%) терапия ХВГС проводилась с применением «стандартных» ИФН и РБВ, у 437 (74%) – ПЕГ-ИФН и РБВ.

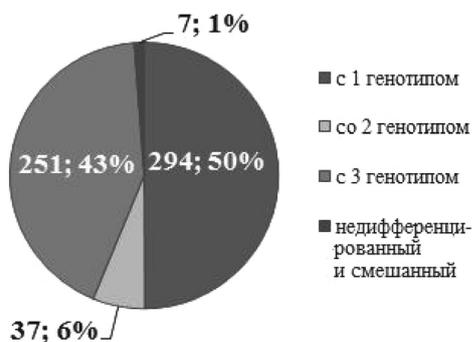


Рис. 1. Распределение пациентов по генотипам ВГС

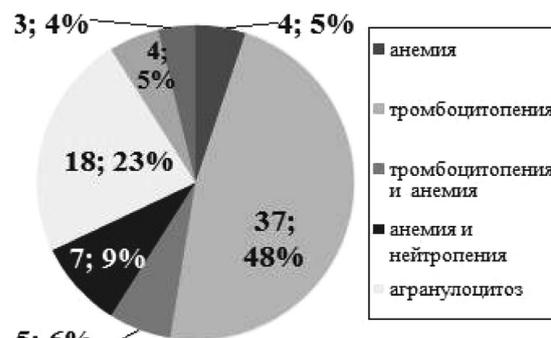


Рис. 2. Структура основных гематологических осложнений при лечении ИФН и РБВ

В процессе лечения ИФН и РБВ у 13,2% (78 из 589; 95% ДИ 10,7–16,2%) наблюдались осложнения со стороны крови, требующие коррекции дозы препарата или его отмены. Анемия развилась у 5,1% из них, тромбоцитопения – у 47,4%, анемия и тромбоцитопения одновременно – у 6,4%, анемия и нейтропения одновременно – у 9%, нейтропения и тромбоцитопения одновременно – у 3,8%, панцитопения – у 5,1%, нейтропения – у 23,2%.

Среди 152 пациентов, завершивших терапию «стандартными» ИФН, 30,2% (95% ДИ 20,2–42,4%) пациентов с 1 генотипом достигли УВО; со 2 генотипом – 53,8% (95% ДИ 29,1–76,8%); с 3 генотипом – 80,8% (95% ДИ 70,2–88,3%). Установлены различия между частотой НЛ при терапии «стандартными» ИФН и наличием у пациента 1 генотипа в сравнении с 3 генотипом ($\chi^2 = 44,52$, $p = 0,001$).

Среди 437 пациентов, завершивших терапию ПЕГ-ИФН, 51,5% (95% ДИ 45,1–57,9) пациентов с 1 генотипом достигли УВО. В то же время среди пациентов со 2 генотипом УВО достигли 91,7% (95% ДИ 73–98,8), а среди пациентов с 3 генотипом – 85,9% (95% ДИ 80–90,4) (рис. 3). Установлены существенные различия между частотой УВО или НЛ и наличием у пациента 1 или 3 генотипа ВГС ($\chi^2 = 44,39$; $p = 0,001$).

При анализе эффективности лечения пациентов со 2 генотипом ВГС в сравнении с имеющими 1 ге-



Рис. 3. Результаты лечения пациентов с ХВГС ПЕГ-ИФН и РБВ в зависимости от генотипа ВГС

нотип вне зависимости от ИФН-схем терапии выявлено, что связь между наличием у пациента 1 генотипа и вероятностью НЛ оказалась статистически значимой ($\chi^2 = 12,97$; $p = 0,001$).

При анализе результатов лечения «стандартными» и ПЕГ-ИФН пациентов с 3 генотипом, статистически значимой связи не было выявлено ($\chi^2 = 1,038$, $p > 0,95$), т. е. в терапии данной группы пациентов достаточно эффективны и «стандартные» ИФН. Напротив, в ходе изучения результатов терапии «стандартными» и ПЕГ-ИФН пациентов со 2 генотипом были выявлены достоверные различия в показателях частоты УВО в пользу ПЕГ-ИФН (точный (двусторонний) критерий Фишера = 0,01, $p = 0,05$).

При анализе лечения пациентов с 1 генотипом ВГС в зависимости от схем терапии («стандартные» ИФН или ПЕГ-ИФН и РБВ) выявлено, что частота

УВО оказалась выше при использовании ПЕГ-ИФН ($\chi^2 = 8,041$; $p = 0,01$).

Генетический фактор – SNP rs12979860 и rs8099917 гена IL-28B был изучен у 103 из 294 пациентов с 1 генотипом ВГС. Из 103 пациентов – количество пациентов, обследованных на SNP в 1 зоне (rs12979860) составило 92 человека, и в 2 зонах: rs12979860 и rs8099917 – 11 человек.

Среди пациентов с 1 генотипом ВГС, прошедших генетическое исследование, были проанализированы результаты лечения у лиц, имеющих SNP rs12979860 CC гена IL-28B в сравнении с пациентами-носителями мутантных аллелей СТ и ТТ вне зависимости от ИФН-схемы терапии (таблица).

Пациенты с вариантом CC (rs12979860) составили 25 % (23 из 92), УВО был зафиксирован у 82,6% (19 из 23). Пациенты с мутантным аллелем

Таблица. Результаты лечения пациентов с 1 генотипом ВГС в зависимости от аллельного варианта SNP rs12979860 гена IL-28B (CC, СТ и ТТ)

Категории	rs12979860 CC	rs12979860 CT	rs12979860 TT
Всего пациентов из 92	23 (25%)	50 (54,3%)	19 (20,7%)
Количество УВО, %	19 из 23 (82,6%); 95% ДИ 62,3–93,6%	14 из 50 (28%); 95% ДИ 17,4–41,8%	2 из 19 (10,5%); 95% ДИ 1,7–32,6%
Количество не ответов и рецидивов, %	4 из 23 (17,4%); 95% ДИ 6,4–37,7%	36 из 50 (72%); 95% ДИ 58,2–82,6%	17 из 19 (89,5%); 95% ДИ 67,4–98,3%

в SNP rs12979860 СТ составили 54,3 % (50 из 92). Была выявлена статистически значимая связь между наличием у пациента с 1 генотипом ВГС мутантного аллеля в SNP rs12979860 СТ и вероятностью НЛ ИФН и РБВ ($\chi^2 = 18,96$; $p = 0,001$). Обоснованным является предположение о низкой вероятности УВО на ИФН-схемы терапии у пациентов с SNP rs12979860 СТ.

Пациенты с вариантом ТТ (rs12979860) составили 20,7% (19 из 92). Была выявлена статистически значимая связь между наличием у пациента аллельного варианта ТТ и вероятностью неудачного лечения ИФН и РБВ по сравнению с вариантом CC ($\chi^2 = 36,07$; $p = 0,001$). Обоснованным является предположение о низкой вероятности УВО на ИФН-схемы терапии у пациентов с двумя SNP rs12979860 ТТ.

Приведенные данные подтверждают концепцию о недостаточно высокой эффективности применяемых до настоящего времени схем лечения пациентов с 1 генотипом ХВГС, имеющих хотя бы один мутантный аллель гена IL-28B. Безинтерфероновые схемы лечения ВГС в соответствии с рекомендациями EASL 2015 [7] были бы эффективны именно для этих пациентов. При этом больший количественный эффект результативного лечения ХВГС мог бы быть достигнут при расширении скринингового тестирования на ВГС и инициации лечения. Стоимость лечения дженерическим препаратом LDV+SOF [6] не менее 20 пациентов с 1 генотипом ХВГС и имеющим SNP гена IL-28B в настоящее время равняется затратам на однопересадку пе-

чени, без учета затрат на лечение на стадии ЦП, при наименьшей стоимости трансплантации печени в Республике Беларусь в 20,000 долларов США [5]. Таким образом, назначенные пациентам с ХВГС на стадии фиброза F2-3 безинтерфероновые схемы терапии позволили бы избежать: прогрессирования ХВГС в ЦП у данных пациентов, улучшить качество их жизни и продлить трудоспособность, а также значительных затрат государства на лечение и оперативные вмешательства при декомпенсированном ЦП. Кроме того, эффективная, удобная и экономически реальная для пациентов терапия дженерическими препаратами на основе ингибитора NS5 софосбувира в комбинации с ингибиторами NS5A востребована и могла бы быть использована в широких масштабах, что привело бы в перспективе к снижению эпидемиологического процесса ВГС и ликвидации гепатита С среди населения Республики Беларусь.

Выводы

1. Среди всех пациентов, прошедших курс лечения от ХВГС, удельный вес пациентов с 3 генотипом составил 42,6%, со 2 – 6,3%, при этом они лучше реагировали на ИФН-схемы терапии, как «стандартными», так и ПЕГ-ИФН в сравнении с пациентами с 1 генотипом ВГС без анализа SNP гена IL-28B.

2. У пациентов с 1 генотипом ВГС, получавших ИФН-схемы терапии без анализа SNP гена IL-28B («стандартными» ИФН и ПЕГ-ИФН), было зафиксировано 53% (156 из 294 случаев) неудачи лечения;

■ Оригинальные научные публикации

при лечении «стандартными» ИФН неудачи составили 69,8%, а ПЕГ-ИФН – 48,5%. Среди пациентов с одной мутацией **SNP rs12979860 (CT) неудачи в лечении** составили 72%, а с двумя (TT) – 89,5%. Кроме изученных генетических факторов, существуют другие причины неэффективности ИФН-схем терапии.

3. В настоящее время ИФН-схемы целесообразно использовать только для лечения пациентов со 2 и 3 генотипом, а также - с 1 генотипом при наличии аллельного варианта CC (SNP rs12979860).

4. Для достижения перспектив УВО у пациентов с 1 генотипом с наличием аллельных вариантов CT и TT (SNP rs12979860 гена IL-28В) и rs8099917, а также не ответивших на ИФН-схемы терапии, следует ускорить внедрение безинтерфероновых схем, предпочтительно путем регистрации или освоения выпуска менее дорогих дженерических препаратов прямого противовирусного действия.

Литература

1. Данилов, Д. Е., Литвинчук Д. В., Левданский О. Д., Карпов И. А., Давыденко О. Г., Давыденко Н. Г., Панкратов В. С., Соловей Н. В., Родькин М. С. Влияние однонуклеотидного полиморфизма гена IL28В на эффективность терапии Пег-ИФН/рибавирином пациентов с 1 генотипом хронического вирусного гепатита С // Медицинский журнал. – 2015. – № 4. – С. 61–63.

2. Мицура, В. М., Воропаев Е. В., Осипкина О. В., Жаворонок С. В. Полиморфизм генов интерлейкина-28В и клиническое значение его выявления у пациентов с хроническим вирусным гепатитом С // Лабораторная диагностика. Восточная Европа. – 2012. – № 2. – С. 86–97.

3. Мицура, В. М., Воропаев Е. В., Жаворонок С. В., Осипкина О. В., Терешков Д. В. Метод прогнозирования эффективности интерферонотерапии хронического гепатита С на основе определения полиморфизма гена ИЛ-28 // Инструкция по применению Минздрава Республики Беларусь № 019-0213. – Минск; Гомель, 2013. – 3 с.

4. Мицура, В. М., Воропаев Е. В., Жаворонок С. В. «Гепатит С вирусная инфекция» (диагностика, структура клинических проявлений и исходов, молекулярно-генетические и иммунные механизмы патогенеза, лечение в современных условиях). – М.: Новое знание, 2014. – 302 с.

5. Гуманно и выгодно // Белорусы и рынок. Еженедельная газета URL: <http://www.Belmarket.By/ru/222/60/17628/Гуманно-и-выгодно.Htm> (дата обращения: 06.03.2016).

6. Ледифос – доступный дженерик Harvoni // ledifos. Com URL: <http://ledifos. Com/Ledifos> (дата обращения: 06.03.2016).

7. EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C 2015 // J. Hepatol. – 2015. – Vol. 63, № 1. – P. 199–236.

8. Fair Pricing Coalition Recognizes Merck's Lower Price for Curative Hepatitis C Treatment, Calls for Manufacturers to Reduce Excessive Prices and Increase Patient Assistance // Fair Pricing Coalition URL: <http://fairpricingcoalition.Org/> (дата обращения: 06.03.2016).

9. Tanaka, Y., Nishida N., Sugiyama M. et al. Genome-wide association of IL28B with response to PEGylated interferon-[alpha] and ribavirin therapy for chronic hepatitis C // Nat. Genet. – 2009. – Vol. 41. – P. 1105–1109.

10. Stetson, D. B., Medzhitov R. Type I interferons in host defense // Immunity. – 2006. – № 25. – P. 373–381.

Поступила 19.04.2016 г.