

УДК 616.34-855:314.055

ТЕЛЕГІН Д.Є., КОЗЬКО В.М., БОНДАР О.Є., ДУБІНСЬКА Г.М., МИНАК Є.Н., МУНТЕАНУ М.

Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького

Харківський національний медичний університет

Українська медична стоматологічна академія, м. Полтава

Гепатогастроентерологічне відділення клініки Pitié-Salpêtrière, м. Париж, Франція

ІНТЕРФЕРОН-ОПОСЕРЕДКОВАНА РЕГРЕСІЯ ФІБРОЗУ ПІД ЧАС ПРОТИВІРУСНОЇ ТЕРАПІЇ ХРОНІЧНОГО ГЕПАТИТУ С ПРИ РІЗНИХ ВАРІАНТАХ ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНА IL28B

Резюме. У статті розглянуто зв'язок між ступенем зниження HCV-індукованого фіброзу печінки на момент закінчення противірусної терапії (ПВТ) хронічного гепатиту С (ХГС) та основними варіантами поліморфізму гена IL28b. **Матеріали та методи.** Ретроспективно проаналізовано результати лікування 324 хворих, які отримували стандартну противірусну терапію (комбінацію пегільованих інтерферонів PegIFN-alpha2b або PegIFN-alpha2a і рибавіріну) з приводу ХГС 1b генотипу. Загальна тривалість лікування становила 12 місяців. Оцінювали три варіанти вірусологічної відповіді: швидку (RVR, 4-й тиждень ПВТ), ранню (EVR, 12-й тиждень ПВТ) та стійку (SVR, 24-й тиждень після завершення ПВТ). **Результати та обговорення.** Усі варіанти виявлених змін стадій фіброзу на момент закінчення противірусного лікування порівняно з вихідними значеннями розподілилися на такі групи: 1 — суттєве зниження фіброзу (у 25 % пролікованих пацієнтів), 2 — помірне зниження фіброзу (у 64 % хворих), 3 — незмінний ступінь фіброзу (7,6 %), зростання фіброзу (3,4 %). Було порівняно динаміку фіброзу під час противірусної терапії у двох групах хворих: із відсутньою (N = 110) та з наявною (N = 214) Т-алеллю гена IL28b. Найбільш значне зниження ступеня фіброзу констатовано серед хворих із сприятливим СС-варіантом гена IL28b, адже саме в цій групі хворих була найвища частота SVR. Серед осіб, які досягли стійкої авіремії, найнижчий ступінь зменшення фіброзу виявлено в носіїв Т-алелі гена IL28b. **Висновки.** Отримані дані свідчать про те, що не всі хворі на ХГС, які досягають стійкої вірусологічної відповіді, позбуваються ризиків, пов'язаних із наслідками персистенції вірусу ХГС. **Ключові слова:** хронічний гепатит С, фіброз, ген IL28b, вірусологічна відповідь.

Поява нових класів препаратів прямої противірусної дії суттєво збільшує шанси на досягнення успіху в терапії хронічного гепатиту С (ХГС/С). Загальноновизнаним критерієм повного вилікування ХГС є стійка вірусологічна відповідь (SVR), що визначається як авіремія протягом 24 тижнів після завершення курсу противірусної терапії (ПВТ). Однак не менш важливим показником одужання, що корелює з рівнем виживання хворих, є зниження некротично-запальної активності та стадії фіброзу печінки. Водночас широко відомі факти, коли, незважаючи на досягнення SVR, гістологічна картина ХГС не демонструє покращення, а деколи, навпаки, набуває ознак циротичної трансформації і гепатоцелюлярної неоплазії [1]. Тому вивченню закономірностей фіброгенезу при ХГС сьогодні присвячується багато досліджень [2, 3]. Зокрема, виявлено пряму кореляцію між Т-алелем гена IL28b та швидкістю прогресування ХГС до цирозу печінки (ЦП) і гепатоцелюлярної карциноми (ГЦК) [4]. Однак залишаються нез'ясованими закономірності інтерферон-опосередкованої регресії фіброзу та його прогресування після завершення ПВТ. Метою нашої роботи стало дослідження зв'язку між ступенем зниження

HCV-індукованого фіброзу печінки на момент закінчення ПВТ ХГС та основними варіантами поліморфізму гена IL28b.

Матеріали та методи

Під час дослідження нами було ретроспективно проаналізовано результати лікування 324 хворих, які отримували стандартну противірусну терапію з приводу ХГС 1b генотипу у Львівській, Полтавській, Харківській обласних інфекційних клінічних лікарнях (167 осіб) та в гепатологічному відділенні лікарні Pitié-Salpêtrière, м. Париж (157 осіб). Стандартом лікування ХГС 1b генотипу вважали комбінацію пегільованих інтерферонів PegIFN-alpha2b (1,5 мкг/кг) або PegIFN-alpha2a (180 мкг) і рибавіріну (10 мг/кг) із загальною тривалістю 12 місяців. Із дослідження вилучалися пацієнти, які були коінфіковані HBV чи мали іншу патологію печінки (алкогольну хворобу печінки,

© Телегін Д.Є., Козько В.М., Бондар О.Є., Дубінська Г.М., Минак Є.Н., Мунтеану М., 2014

© «Актуальна інфектологія», 2014

© Заславський О.Ю., 2014

неалкогольний стеатогепатит, автоімунний гепатит, гемохроматоз), а також хворі, яким проводилася монотерапія PegIFN, комбінацією лінійних IFN та рибавірину, та ті, які переліковувалися повторно. У групах порівняння оцінювали три варіанти вірусологічної відповіді: швидку (RVR, 4-й тиждень ПБТ), ранню (EVR, 12-й тиждень ПБТ) та стійку (SVR, 24-й тиждень після завершення ПБТ). Вікова, гендерна та клінічна характеристика хворих наведена в табл. 1.

Вірусне навантаження гепатиту С визначали при використанні проби кількісного аналізу Abbott M2000sp/rt HCV у реальному часі (Abbott, Ранжі, Франція). Генотипи вірусу гепатиту С визначали під час часткового секвентування гена NS5B та порівняння отриманої послідовності нуклеотидів з еталонним штамом шляхом філогенетичного аналізу.

Стадію фіброзу оцінювали за шкалою METAVIR методом FibroTest, що обраховували за значеннями віку, статі та п'яти біохімічних показників: альфа-2-макроглобулін, гаптоглобін, гамма-глутамілтранспептидаза (GGT), загальний білірубін та аполіпопротеїн A1 [5, 6]. Співвідношення шкал FibroTest та METAVIR з описом відповідних гістологічних змін наведено в табл. 2.

Аполіпопротеїн A1, альфа-2-макроглобулін та гаптоглобін визначали методом турбідиметрії (системами Modular та Cobas Integra від Roche Diagnostics, Мангейм, Німеччина) та нефелометрії (BNII від Dade-Behring-Siemens Healthcare Diagnostics, Дірфілд, Іллінойс, США), а також при використанні реагентів виробника (Roche Diagnostics, Мангейм, Німеччина, Siemens Healthcare Diagnostics, Дірфілд, Іллінойс, США) і реагентів Diagam (Гіленг'ен, Бельгія) для турбідиметричного аналізу на альфа-2-макроглобулін. Коефіцієнт варіації всіх тестів був нижчим за 3 %. GGT, аланінамінотрансфераза (АЛТ), аспартатаміно-трансфераза (АСТ), загальний білірубін, загальний холестерин, тригліцериди та глюкоза натше визначалися з використанням аналізаторів Hitachi 917, Modular та Cobas Integra (Roche Diagnostics, Мангейм, Німеччина). ActiTest враховував вищезазначені перераховані маркери та АЛТ. У 65 хворих стадію фіброзу було оцінено у кратних обстеженнях: до та після курсу ПБТ.

У всіх 324 пацієнтів визначали варіант поліморфізму гена IL28B за встановленим одностороннім поліморфізмом рестрикційного фрагменту rs12979860 19-ї

Таблиця 1. Клінічна характеристика хворих

Ознака	Категорія	Значення, %
Вік, роки	< 40	40,7
	40–60	52,5
	> 60	6,8
Стать	Чоловіча	59
Вірусні чинники	Генотип 1b HCV	95
	Високе навантаження (> 600 000 МО/мл)	75
Вихідна стадія фіброзу (METAVIR)	F1–F2	23,7
	F3–F4	37,4

хромосоми, вивчаючи вільноцируючу ДНК сироватки крові після екстракції автоматизованою системою NucliSENS[®]easyMag[®]. Генотип IL28b визначали аналізом кривої плавлення гібридаційних зондів із використанням інструменту LightCycler[®]480 (Roche Diagnostics, Мелан, Франція). Генотипи IL28b було визначено, як CC, CT або TT. Генотипування поліморфної ділянки проводилося із використанням системи ABI TaqMan allelic discrimination kit та the ABI7900HT Sequence Detection System (виробництва Biosystems, Carlsbad, CA, США).

У статистичному аналізі використовували: точний критерій Фішера, критерій хі-квадрат, критерій Стюдента, критерій Манна — Уїтні та складну логістичну регресію для багатоваріаційного аналізу. Для всіх аналізів використовували двосторонні статистичні випробування; показник р, що дорівнював 0,05 чи менше, вважався значущим. В оцінці всіх вірогідностей використовували програмне забезпечення Number Cruncher Statistical Systems 2003 (NCSS, Кайсвіль, Юта, США).

Результати та обговорення

Усі варіанти виявлених нами змін стадій фіброзу на момент закінчення ПБТ порівняно з вихідними значеннями розподілилися на такі групи: 1 — суттєве зниження фіброзу (понад 0,35 пункту за шкалою FibroTest або на два ступені за шкалою METAVIR, табл. 2) констатовано у 25 % пролікованих пацієнтів,

Таблиця 2. Характеристика стадій фіброзу відповідно до шкал FibroTest, METAVIR, Knodell, Ishak [6]

Опис фіброзу	Шкала FibroTest	Шкала METAVIR	Шкала Knodell	Шкала Ishak
Цироз	0,75–1,00	F4	F4	F6
Фіброз портальних трактив + множинні септи без цирозу	0,73–0,74	F3–F4	F3–F4	F5
	0,59–0,72	F3	F3	F4
Фіброз портальних трактив + поодинокі септи	0,49–0,58	F2	F1–F3	F3
	0,32–0,48	F1–F2	F1–F3	F2–F3
Фіброз лише портальних трактив	0,28–0,31	F1	F1	F2
	0,22–0,27	F0–F1	F0–F1	F1
Фіброз відсутній	0,00–0,21	F0	F0	F0



Рисунок 1. Варіанти змін стадії фіброзу під час ПВТ ХГС

2 — помірне зниження фіброзу (в середньому на 0,17 пункту за шкалою FibroTest або на один ступінь за шкалою METAVIR) — у 64 % хворих, 3 — незмінний ступінь фіброзу — 7,6 %, зростання фіброзу (в середньому на 0,24 пункту за шкалою FibroTest або до 1-го ступеня за шкалою METAVIR) — 3,4 % (рис. 1).

При порівняльному аналізі таких традиційно визначальних предикторів SVR, як вірусне навантаження, генотип HCV, ступінь фіброзу, вік та стать, було встановлено, що жодна досліджувана група не мала переваг щодо шансів на досягнення SVR. Вірогідні відмінності стосувалися лише суттєвого переважання хворих із надмірною масою тіла серед пацієнтів вітчизняних клінік (76 проти 34 %, $p < 0,0001$; негативний предиктор SVR) та значного числа осіб негроїдної раси серед пацієнтів клініки Pitié-Salpêtrière (18 проти 0 %, $p < 0,0001$; негативний предиктор SVR) (табл. 3).

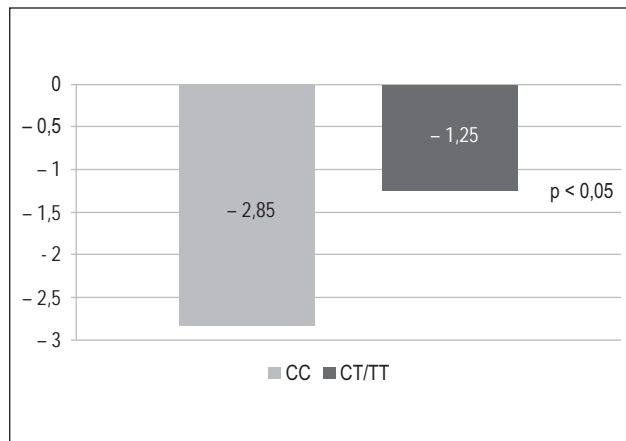


Рисунок 2. Ступінь зниження фіброзу печінки у хворих, які досягли SVR після курсу ПВТ ХГС 1b генотипу залежно від поліморфізму гена IL28b

Незважаючи на те, що для осіб негроїдної раси, як відомо, характерним є переважання Т-алеля гена IL28b, за даними проведених молекулярно-генетичних досліджень, відмінності в частоті варіантів поліморфізму IL28b серед хворих українських та французьких клінічних центрів були статистично невірогідними (табл. 4).

Загальне співвідношення основних варіантів поліморфізму гена IL28b серед 324 обстежених хворих становило: CC — 34 %, CT — 50 %, TT — 16 %. Незважаючи на тотожність рандомізованих груп за предикторами SVR, аналіз ефективності ПВТ у цих групах показав статистично вірогідну відмінність: частота SVR серед українських пацієнтів — 63 проти 47 % — серед пацієнтів клініки Pitié-Salpêtrière ($p < 0,05$). На перший погляд, таку високу ефективність ПВТ в українських клініках можна було б пояснити молодшим віком пацієнтів або гіршим комплайенсом французьких хворих, однак істинні причини відмінностей у частоті SVR у цих

Таблиця 3. Порівняльна характеристика хворих в основних групах дослідження (N = 324)

Основні ознаки	Україна, n (%)	Франція, n (%)	P-значення
Вік > 40 років	90 (54)	121 (77)	0,0004
Чоловіча стать	98 (59)	93 (59)	0,97
Раса:			
— Європеїдна	167 (100)	120 (76)	< 0,0001
— Негроїдна	0 (0)	28 (18)	—
— Азійська	0 (0)	9 (6)	—
Індекс маси тіла > 25	127 (76)	46 (34)	< 0,0001
Високе вірусне навантаження HCV RNA > 600,000 МО/мл	82 (49)	82 (52)	0,68
«Сприятливі до лікування» генотипи G2/G3	30 (18)	36 (23)	0,36

Таблиця 4. Частота варіантів поліморфізму гена IL28b в основних групах дослідження (N = 324)

Варіанти поліморфізму гена IL28b	Франція (%)	Україна (%)	Вірогідність (p)
CC	33	35	0,46
CT	48	52	
TT	19	13	

групах вдалося з'ясувати лише завдяки побудові п'яти 2-факторних моделей із фактором популяції та з кожним з п'яти прогностичних факторів: генотип IL28b, стадія фіброзу, ступінь запалення, генотип вірусу та вірусне навантаження. Значення співвідношення шансів (odds ratio, OR) з однією змінною групи перевірки вірогідності становило 1,98 (1,14–3,45; $P = 0,02$). При цьому прогностичне значення генотипу IL28b в українській групі виявилось вірогідно вищим — 8,95 (діапазон — 2,16–37,1; $p = 0,003$), ніж у французькій — 3,32 (діапазон — 1,29–8,53; $p = 0,01$), у середньому співвідношення шансів (OR) становило 4,84 (діапазон 2,59–12,50; $p = 0,0001$). Отже, основною причиною відмінностей у частоті SVR виявилась результируюча багатофакторного варіаційного аналізу, що враховувала п'ять основних ознак: IL28b, стадія фіброзу (FibroTest), ступінь запалення (ActiTest), генотип вірусу та вірусне навантаження.

Відповідно до мети дослідження ми порівняли динаміку фіброзу під час ПВТ у двох групах хворих: із відсутнього ($N = 110$) та з наявного ($N = 214$) Т-алелю гена IL28b. Цілком прогнозовано ми констатували найбільш значне зниження ступеня фіброзу серед хворих із сприятливим СС-варіантом гена IL28b, адже саме в цій групі хворих була найвища частота SVR (87 проти 44 % при СТ/ТТ-генотипах). Однак, на нашу думку, більш важливими є виявлені нами відмінності в динаміці фіброзу в середині групи хворих, які досягли SVR, адже саме ці пацієнти вважаються остаточно вилікованими і не підлягають подальшому диспансерному спостереженню. Серед осіб, які досягли стійкої авіремії, найнижчий ступінь зниження фіброзу (у середньому на 1,25 пункту за шкалою METAVIR) виявлено в носіїв Т-алелі гена IL28b, натомість максимальне зниження фіброзу констатовано в осіб, у яких однонуклеотидний поліморфізм IL28b відповідає генотипу СС, $p < 0,05$ (рис. 2).

Отримані дані свідчать про те, що не всі хворі на ХГС, які досягають стійкої вірусологічної відповіді, позбуваються ризиків, пов'язаних із наслідками персистенції вірусу HCV. Дані спостереження дозволяють припустити, що в носіїв Т-алелі в рестрикційному фрагменті rs12979860 гена IL28b навіть після елімінації вірусу гепатиту С може зберігатися підвищена активність перисинусоїдальних клітин Іто та експресія білків — інгібіторів апоптозу (таких як Bcl-2), що підтри-

мують процеси фіброгенезу, моно- та поліклональну проліферацію астроцитів та В-лімфоцитів із високим ризиком В-клітинної та гепатоцелюлярної неоплазії. Додатковими тригерами прогресування фіброзу в таких випадках, безперечно, можуть виступати ендегенні (стеатоз) та екзогенні (токсико-аліментарні) фактори. Тому, на нашу думку, доцільним є запровадження диспансерного спостереження із моніторингом фіброгенезу (FibroTest) та канцерогенезу (α -FP) не лише за хворими з наявним хронічним гепатитом С, але і за пацієнтами, які досягли авіремії, проте й надалі належать до груп ризику прогресування фіброзу, цирозу та гепатоцелюлярної карциноми.

Список літератури

1. *Hepatocellular carcinoma after sustained virologic response in hepatitis C patients without cirrhosis on a pre-treatment liver biopsy* / Justin L. Sewell, Kristine M. Stick, Alexander Monto // *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* — 2009. — № 21(2). — P. 225-229.
2. *Interleukin-28B polymorphisms are associated with histological recurrence and treatment response following liver transplantation in patients with hepatitis C virus infection* / Charlton M.R., Thompson A., Veldt B.J., Watt K., Tillmann H., Poterucha J.J., Heimbach J.K., Goldstein D., McHutchison J. // *Hepatology.* — 2011. — 53(1). — P. 317-324.
3. *Role of IL28B polymorphism in the development of hepatitis C virus-induced hepatocellular carcinoma, graft fibrosis, and post-transplant antiviral therapy* / Eurich D., Boas-Knoop S., Bahra M., Neuhaus R., Somasundaram R., Neuhaus P., Neumann U., Seehofer D. // *Transplantation.* — 2012. — № 93(6). — P. 644-649.
4. *Genomics and HCV infection: Progression of fibrosis and treatment response* / Emilie Estrabaud, Michel Vidaud, Patrick Marcellin, Tarik Asselah // *Journal of Hepatology.* — 2012. — Vol. 57. — P. 1110-1125.
5. *Bedossa P., Poynard T. An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C. The METAVIR Cooperative Study Group* // *Hepatology.* — 1996. — № 24(2). — P. 289-293.
6. *Ngo Y., Munteanu M., Messous D., Charlotte F., Imbert-Bismut F., Thabut D., Lebray P., Thibault V., Benhamou Y., Moussalli J., Ratzju V., Poynard T. A prospective analysis of the prognostic value of biomarkers (FibroTest) in patients with chronic hepatitis C* // *Clin. Chem.* — № 52(10). — P. 1887-1896.

Отримано 10.01.14 □

Телегин Д.Е., Козько В.М., Бондарь О.Е., Дубинская Г.М., Минак Е.Н., Мунтеану М.
 Львовский национальный медицинский университет им. Данила Галицкого
 Харьковский национальный медицинский университет
 Украинская медицинская стоматологическая академия, г. Полтава
 Гепатогастроэнтерологическое отделение клиники Pitié-Salpêtrière, г. Париж, Франция

ИНТЕРФЕРОН-ОПОСРЕДОВАННАЯ РЕГРЕССИЯ ФИБРОЗА ВО ВРЕМЯ ПРОТИВОВИРУСНОЙ ТЕРАПИИ ХРОНИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА С ПРИ РАЗНЫХ ВАРИАНТАХ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА IL28B

Резюме. В статье рассмотрена связь между степенью снижения ХГС-индуцированного фиброза печени к моменту окончания противовирусной терапии (ПВТ) хронического гепатита С (ХГС) и основными вариантами полиморфизма гена IL28b. **Материалы и методы.** Ретроспективно проанализированы результаты лечения 324 больных, получавших стандартную противовирусную

терапию (комбинацию пегилированных интерферонов PegIFN-alpha2b или PegIFN-alpha2a и рибавирина) по поводу ХГС 1b генотипа. Общая продолжительность лечения составила 12 месяцев. Оценивали три варианта вирусологического ответа: быстрый (RVR, 4-я неделя ПВТ), ранний (EVR, 12-я неделя ПВТ) и стойкий (SVR, 24-я неделя после завершения ПВТ). **Результаты и об-**

суждение. Все варианты выявленных изменений стадий фиброза к моменту окончания противовирусного лечения в сравнении с исходными значениями распределились на такие группы: 1 — существенное снижение фиброза (у 25 % пролеченных пациентов), 2 — умеренное снижение фиброза (у 64 % больных), 3 — неизменная степень фиброза (7,6 %), рост фиброза (3,4 %). Было проведено сравнение динамики фиброза во время противовирусной терапии в двух группах больных: без (N = 110) и с наличием (N = 214) T-аллели гена IL28b. Наиболее значительное снижение степени фиброза констатировано среди больных с благо-

приятным CC-вариантом гена IL28b, ведь именно в этой группе больных была самая высокая частота SVR. Среди лиц, которые достигли стойкой авиремии, самая низкая степень уменьшения фиброза выявлена у носителей T-аллели гена IL28b. **Выводы.** Полученные данные свидетельствуют о том, что не все больные ХГС, которые достигают стойкого вирусологического ответа, избегают от рисков, связанных с последствиями персистенции вируса ХГС.

Ключевые слова: хронический гепатит С, фиброз, ген IL28b, вирусологический ответ.

Telegin D.Ye., Kozko V.M., Bondar O.Ye., Dubinska G.M., Mynak Ye.N., Munteanu M.

Lviv National Medical University named after Danylo Galytsky, Lviv, Ukraine

Kharkiv National Medical University

Ukrainian Medical Stomatological Academy, Poltava

Department of Hepato-Gastroenterology, Pitié-Salpêtrière, Paris, France

INTERFERON-MEDIATED REGRESSION OF FIBROSIS DURING ANTIVIRAL THERAPY FOR CHRONIC HEPATITIS C IN DIFFERENT VARIANTS OF IL28B GENE POLYMORPHISM

Summary. The article considers the relationship between the degree of reduction of HCV-induced liver fibrosis by the end of antiviral therapy (AVT) for chronic hepatitis C (CHC) and the main variants of IL28b gene polymorphism. **Materials and Methods.** Retrospectively we analyzed the outcomes of treatment of 324 patients who received standard antiviral therapy (a combination of pegylated interferons PegIFN-alpha2b or PegIFN-alpha2a and ribavirin) for CHC genotype 1b. The total duration of treatment was 12 months. We evaluated three types of virologic response: rapid (RVR, 4th week of AVT), early (EVR, 12th week of AVT) and sustained (SVR, 24th week after the AVT). **Results and Discussion.** All types of detected changes of fibrosis stages by the end of antiviral treatment in comparison with baseline values were distributed into the following groups: 1 — a significant reduction of fibrosis (25 % of treated patients), 2 — moderate decrease

in fibrosis (64 % patients), 3 — unchanged degree of fibrosis (7.6 %), increased fibrosis (3.4 %). A comparison of fibrosis dynamics during antiviral therapy was carried out in the two groups of patients: without (N = 110) and with (N = 214) T-allele of the gene IL28b. The most significant decrease in the degree of fibrosis detected among patients with favorable CC gene IL28b variant, because exactly in this group of patients the frequency of SVR was highest. Among those who have reached sustained aviremia, the lowest degree of reduction of fibrosis was found in T-allele carriers of the gene IL28b. **Conclusions.** The findings suggest that not all patients with CHC who achieved sustained virologic response escape the risks associated with the effects of viral persistence of HCV.

Key words: chronic hepatitis C, fibrosis, gene IL28b, virologic response.