

УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
«БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

УДК 616.36-002:615.281:616-097

ДАНИЛОВ
Дмитрий Евгеньевич

**ПРОТИВОВИРУСНОЕ ЛЕЧЕНИЕ ГЕПАТИТОВ В И С,
ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПРЕДИКТОРЫ ЭФФЕКТИВНОСТИ**

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

по специальности 14.01.09 – инфекционные болезни

Минск 2019

Научная работа выполнена в учреждении образования «Белорусский государственный медицинский университет»

Научный консультант: **Карпов Игорь Александрович**, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой инфекционных болезней учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет»

Официальные оппоненты: **Василевский Игорь Вениаминович**, доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры клинической фармакологии учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет»

Щерба Алексей Евгеньевич, доктор медицинских наук, доцент, заместитель директора по хирургической работе государственного учреждения «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии»

Калинин Андрей Леонидович, доктор медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой пропедевтики внутренних болезней учреждения образования «Гомельский государственный медицинский университет»

Оппонирующая организация: государственное учреждение образования «Белорусская медицинская академия последипломного образования»

Защита состоится 15 октября 2019 года в 12.00 на заседании совета по защите диссертаций Д 03.18.04 при учреждении образования «Белорусский государственный медицинский университет» по адресу: 220116, г. Минск, пр-т Дзержинского, 83, e-mail: uchsovet@bsmu.by, тел. 277 16 21.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет».

Автореферат разослан «____» сентября 2019 года.

Ученый секретарь совета
по защите диссертаций Д 03.18.04,
кандидат медицинских наук, доцент



А.П. Музыченко

ВВЕДЕНИЕ

По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) хроническая форма инфекции, вызванной вирусом гепатита С (ВГС) и вирусом гепатита В (ВГВ), диагностирована в мире у 325 миллионов человек. Как отмечала бывший Генеральный директор ВОЗ Маргарет Чен: «В настоящее время вирусный гепатит признается одной из основных проблем общественного здравоохранения, требующей безотлагательных действий». В 2015 году было зарегистрировано более 1,3 миллионов смертей, обусловленных причинами, связанными с вирусным гепатитом, что сопоставимо с количеством смертей от туберкулеза и вируса иммунодефицита человека (ВИЧ).

В настоящее время около 2 миллиардов человек в мире инфицированы вирусом гепатита В, который является основной причиной развития цирроза печени и гепатоцеллюлярной карциномы (ГЦК). У 248 миллионов человек имеется хроническое течение ВГВ инфекции. В 2015 году около 887 тысяч пациентов в мире умерло по причинам, связанным с ВГВ [ВОЗ, 2017].

Учитывая, что аналоги нуклеоз(-т)идов (НА) являются основными лекарственными средствами в лечении ВГВ инфекции, представляется существенным дальнейшее изучение факторов, влияющих на их эффективность. Существуют исследования, подтверждающие хороший профиль безопасности при длительном (до 6 лет) лечении ламивудином, однако появление устойчивых мутаций резистентности может ухудшить течение заболевания [Lok A.S.F., 2003].

В 2015 году около 1,8 миллиона человек были вновь инфицированы ВГС, а суммарное количество пациентов с ВГС инфекцией достигло 71 миллиона человек. Гепатит С регистрируется повсеместно. ВОЗ отмечает значительную распространенность ВГС инфекции в Восточном Средиземноморье и Европе (2,3% и 1,5% соответственно); в других регионах она варьирует от 0,5% до 1,0% населения. Около 400 тысяч человек ежегодно умирают от осложнений, связанных с ВГС инфекцией, преимущественно от декомпенсации цирроза или гепатоцеллюлярной карциномы. В Республике Беларусь гепатит С также является одним из самых актуальных заболеваний, по мере прогрессирования сопровождающихся рядом последовательных морфологических изменений [Цыркунов В.М. и др., 2012].

Распространение ВГС и его генотипические особенности имеют значительные регионарные различия. В мире, а также в Республике Беларусь, наиболее распространен генотип 1 ВГС [Gordon S.C., 2019; Гасич Е.Л., Еремин В.Ф., 2016], плохо поддававшийся лечению стандартной комбинацией интерферон-содержащего лекарственного средства и рибавирина [Manns M.P., 2001] и долгое время являвшейся основной лечебной схемой для данной

категории пациентов [Ключарева А.А., 2003]. Поиск генетических маркеров, позволяющих с высокой точностью прогнозировать эффективность лечения, продолжается и в настоящее время, так как все большее число изолятов вируса приобретают мутации резистентности к лекарственным средствам прямого противовирусного действия (ЛСППД) [Pawlotsky J.-M., 2016], в то время как к лекарственным средствам на основе интерферона резистентность не развивается [Antonelli G., 2015].

Известно, что течение и исход лечения инфекционных заболеваний зависят от индивидуальных особенностей пациента, в том числе генетических [Fletcher R.H., 2014]. В 2009 подобная закономерность была доказана для пациентов с ВГС инфекцией генотипа 1. В ходе исследований было выяснено, что генотип пациента СС по однонуклеотидному полиморфизму (ОНП) rs12979860 вблизи гена IL28B повышает вероятность достижения устойчивого вирусологического ответа (УВО) при лечении пегилированным интерфероном в сочетании с рибавирином, а также вероятность спонтанной элиминации вируса [Ge D., 2009].

Опубликованы результаты исследований, в которых изучалась взаимосвязь других возможных генетических предикторов эффективности лечения пациентов с ВГС. Среди генов-кандидатов на дополнительную предикцию эффективности наиболее перспективными представляются CCR5, CCL5 и TNF- α [Radwan M.I., 2012]. К настоящему времени ясность в этом вопросе отсутствует, убедительные статистические данные в современной научной литературе не приводятся. В связи с этим представляется целесообразным выявление других генов, аллели которых могут оказывать влияние на течение и эффективность лечения хронической формы ВГС инфекции [Мицура В.М., Воропаев Е.В., Жаворонок С.В., 2014].

Применение ЛСППД [Jakobsen J.C., 2017] принципиально изменило не только эффективность лечения пациентов с ВГС инфекцией, но и значительно уменьшило вероятность развития нежелательных явлений во время проведения противовирусного лечения. Наиболее частыми нежелательными явлениями, связанными с лечением интерфероном, являлись нейтропения (32%), лейкопения (52%), анемия (11%), тромбоцитопения (5%); эритема в месте инъекции (27%), зуд (10%) и алоpecia (13%) [Druyts E., 2013]. При этом, несмотря на хорошую переносимость ЛСППД, вероятность возникновения нежелательных явлений остается достаточно высокой.

Использование наиболее эффективных и безопасных схем ЛСППД исключительно важно для реализации глобальной стратегии по элиминации ВГС как угрозы общественному здравоохранению.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Связь работы с крупными научными программами, темами

Работа выполнялась в рамках инновационного проекта «Разработать и внедрить метод предварительной оценки эффективности терапии хронического вирусного гепатита С на основе анализа генетических полиморфизмов пациента» (№ государственной регистрации: 20141390). Сроки выполнения: 1 квартал 2014 – 2 квартал 2016 гг.

Кроме того, работа реализовывалась в соответствии с инициативной темой кафедры инфекционных болезней учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет» «Комплексное изучение этиопатогенетических и клинических аспектов в современной инфектологии» (№ государственной регистрации: 20093140). Сроки выполнения: 01.01.2014 – 31.12.2018.

Цель и задачи исследования

Цель исследования: установить оптимальные схемы противовирусного лечения у пациентов с хронической ВГВ и ВГС инфекцией, а также новые генетические предикторы эффективности лечения хронической ВГС инфекции.

Задачи исследования:

1. Провести сравнительную оценку вирусологической, биохимической и серологической активности тенофовира и ламивудина у пациентов с ВГВ инфекцией, а также выявить факторы, влияющие на развитие вирусологического прорыва у пациентов, получающих лечение ламивудином.

2. Определить возможность использования генетических однонуклеотидных полиморфизмов rs12979860 IL28B, CCR5Δ32, -308G/A TNFα и -403G/A CCL5 для прогнозирования вероятности достижения непосредственного вирусологического ответа и развития рецидива заболевания при лечении интерферон-содержащими лекарственными средствами пациентов с генотипом 1 ВГС.

3. Установить эффективность использования лекарственных средств прямого противовирусного действия белорусского производства при лечении пациентов с ВГС инфекцией.

4. Провести филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей вируса гепатита С, выделенных от пациентов с гемофилией, для оценки их кластерной общности.

5. Выявить наиболее часто возникающие нежелательные явления при лечении пациентов с ВГС инфекцией лекарственными средствами прямого противовирусного действия.

Объект и предмет исследования

Объектом исследования являются хронические вирусные гепатиты В и С.

Предмет исследования – пациенты с ВГВ и ВГС инфекцией, которым проводилось противовирусное лечение.

Научная новизна

При сравнении эффективности лечения ламивудином и тенофовиром ВГВ инфекции выявлено, что предикторами вирусологического прорыва у пациентов, получающих лечение ламивудином, являются возраст пациентов старше 43 лет и наличие цирроза печени. Установлено, что к 24 месяцу лечения тенофовиром авиремия достигается у максимального количества пациентов – 95,7%.

Впервые у пациентов с ВГС инфекцией генотипа 1, получающих лечение интерферон-содержащими лекарственными средствами, определены генетические однонуклеотидные полиморфизмы в качестве предикторов для прогнозирования достижения непосредственного вирусологического ответа и развития рецидива заболевания. В частности, сочетание генотипов СТ IL28B и GA или AA CCL5 является предиктором достижения непосредственного вирусологического ответа, а однонуклеотидный полиморфизм TNF α (-308)G/A с генотипом GA у пациентов, достигших непосредственного вирусологического ответа, является предиктором рецидива заболевания.

Получены новые сравнительные данные по эффективности лекарственных средств прямого противовирусного действия, доступных в Республике Беларусь, в том числе дженериков отечественного производства, свидетельствующие о высокой частоте достижения устойчивого вирусологического ответа у пациентов с генотипом 1 ВГС – 98,1-100%. Уровни достижения устойчивого вирусологического ответа при использовании отечественных лекарственных средств софосбувир + даклатасвир \pm рибавирин не имели различий в зависимости от генотипов ВГС.

Впервые в белорусской популяции проведен филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей вируса гепатита С, выделенных от пациентов с гемофилией, и оценена их кластерная общность. Установлено, что отдельные референс-последовательности вирусов имели узел поддержки, равный 0,999-1,0, что указывает на их единое происхождение.

Впервые установлены нежелательные явления при лечении ВГС инфекции ЛСППД в Республике Беларусь (софосбувир/ледипасвир \pm рибавирин или софосбувир + даклатасвир \pm рибавирин): слабость, головная боль, сонливость, снижение внимания и головокружение. Нежелательные явления, приводящие к госпитализации пациентов, а также отмене ЛСППД отсутствовали. При лечении указанными схемами относительный риск

развития анемии был выше в 11,3 раза при включении в данные схемы рибавирина.

Положения, выносимые на защиту

1. У пациентов с ВГВ инфекцией, получающих длительное противовирусное лечение (24 месяца и более), отмечается более высокая вирусологическая эффективность тенофовира, а также большая частота достижения сероконверсии HBeAg по сравнению с лечением ламивудином. Возраст пациентов и наличие цирроза печени на момент инициации противовирусного лечения являются факторами риска вирусологических прорывов при лечении ламивудином.

2. Сочетание генотипов СТ IL28B и GA или AA CCL5 является предиктором эффективности при лечении пациентов с генотипом 1 ВГС интерферон-содержащими лекарственными средствами. Наличие генотипа СТ IL28B в сочетании с генотипом GG CCL5 не влияет на вероятность достижения непосредственного вирусологического ответа. Однонуклеотидный полиморфизм TNF α (-308)G/A является предиктором рецидива заболевания у пациентов с генотипом 1 ВГС, достигших непосредственного вирусологического ответа в результате лечения интерферон-содержащими лекарственными средствами.

3. У пациентов с генотипом 1 ВГС, получающих лечение лекарственными средствами прямого противовирусного действия, отсутствуют значимые различия в частоте достижения устойчивого вирусологического ответа в зависимости от используемой схемы лечения (омбитасвир/паритапревир/ритонавир + дасабувир \pm рибавирин, софосбувир + даклатасвир \pm рибавирин, софосбувир/ледипасвир \pm рибавирин). Результаты противовирусного лечения у пациентов, получающих лечение схемой софосбувир + даклатасвир \pm рибавирин, не зависят от генотипа ВГС.

4. Имеются общие нуклеотидные последовательности нескольких подгенотипов вируса гепатита С, выделенных от пациентов с гемофилией из разных областей Республики Беларусь, которые указывают на общность происхождения вирусов. Среди пациентов с гемофилией встречаются инфицированные рекомбинантной формой вируса 2k/1b.

5. Применение лекарственных средств прямого противовирусного действия сопровождается нежелательными явлениями: слабостью, головной болью, сонливостью, снижением внимания, головокружением. В случаях развития анемии на фоне использования схем софосбувир/ледипасвир \pm рибавирин или софосбувир + даклатасвир \pm рибавирин данное нежелательное явление чаще развивается в течение первого месяца лечения. Риск развития анемии значительно выше (более чем в 11 раз) при включении в схему лечения рибавирина.

Личный вклад соискателя ученой степени

Соискателем самостоятельно проведен патентно-информационный поиск, проанализированы основные источники отечественной и зарубежной научной литературы по теме диссертации, выявлены наиболее перспективные и актуальные направления дальнейших научных исследований (вклад 100%). Совместно с научным консультантом определены цель и задачи диссертационного исследования, а также методологический подход к планируемой работе. Автором самостоятельно разработан дизайн, план и протокол исследования, самостоятельно создана база данных в программе Excel, а также с помощью статистического пакета R с использованием библиотек survival, msSurv, p3state.msm, HardyWeinberg, MASS, epiR, gplots, rcompanion, FactoMineR проведена статистическая обработка данных и их интерпретация (консультативная помощь при проведении статистических исследований осуществлялась ведущим научным сотрудником лаборатории биоинформатики ГНУ «Объединенный институт проблем информатики Национальной академии наук Беларуси», доцентом, к.т.н. Красько О.В.). Автором лично проводилась консультативная работа и комплексное клиническое наблюдение пациентов на базе Минского городского центра инфекционной гепатологии в УЗ «Минская городская инфекционная клиническая больница» (вклад 80%) (главный врач – Юровский Н.Н.), а также анализ амбулаторной и стационарной медицинской документации 957 пациентов, получавших противовирусное лечение (вклад 100%). Автором лично получены и проанализированы научные результаты исследования, оценена научная новизна, сформулированы положения, выносимые на защиту, основные выводы и результаты диссертационной работы (вклад 100%). Общеклинические, иммунологические и молекулярно-биологические исследования выполнялись в клинической и биохимической лабораториях УЗ «Минская городская инфекционная клиническая больница» (заведующие – к.м.н. Рогачева Т.А., к.м.н. Анисько Л.А.). Результаты клинических исследований изложены в статьях и материалах конференций (личный вклад 50-100%) [1, 6, 7, 8, 14, 20-23, 27, 44]. Секвенирование и филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей вируса гепатита С, выделенных от пациентов с гемофилией, а также определение генотипов вируса гепатита В осуществлялось в лаборатории диагностики ВИЧ и сопутствующих инфекций ГУ «Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии» (заведующие – профессор, д.м.н. Еремин В.Ф., д.б.н. Гасич Е.Л.); вклад в публикации по данной тематике – 85% [4,11]. Анализ однонуклеотидных генетических полиморфизмов человека проводился в лаборатории нехромосомной наследственности ГНУ «Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси» (заведующий

лабораторией – член-корреспондент Национальной академии наук Беларуси, профессор, д.м.н. Давыденко О.Г.); вклад в публикации по данной тематике – 85% [9, 10, 12, 13, 16, 17, 26, 37, 38, 40, 42].

В Министерстве здравоохранения Республики Беларусь утверждены 6 инструкций по применению, разработанных на основании результатов диссертационного исследования (личный вклад 50-90%). Автор лично участвовал в оформлении заявки на изобретение (вклад 70%), а также разработке и написании клинического протокола «Диагностика и лечение пациентов (взрослое население) с хроническими вирусными гепатитами В и С» (вклад 40%).

Апробация диссертации и информация об использовании ее результатов

Результаты диссертационной работы были представлены на Республиканском обучающем семинаре «Современные подходы к диагностике и лечению гемофилии» (Минск, 2012); научно-практической конференции «Современные медицинские технологии в условиях регионального здравоохранения» (Пинск, 2012); X Российской научно-практической конференции с международным участием «Вирусные гепатиты – эпидемиология, диагностика, лечение и профилактика (Москва, Россия, 2013); X международном симпозиуме гепатологов Беларуси «Актуальные вопросы гепатологии» (Гродно, 2013); научно-практической конференции, посвященной 100-летию ГИКБ г. Минска (Минск, 2013); Республиканской научно-практической конференции с международным участием «Современные проблемы инфекционной патологии человека», посвященной 90-летию РНПЦ эпидемиологии и микробиологии (Минск, 2014); Республиканском семинаре «Актуальные вопросы гепатологии» (Минск, 2014); научных сессиях БГМУ, посвящённых Дню медицинской науки (Минск, 2015-2019); Республиканской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 50-летию медико-профилактического факультета БГМУ (2015); III школе по инфектологии (Витебск, 2015); монотематической конференции «Фокус на вирусный гепатит В» под эгидой Азиатско-Тихоокеанской ассоциации изучения печени (Ереван, Армения, 2015); I Международном Минском медицинском форуме (Минск, 2015); 25-й Международной конференции Азиатско-Тихоокеанской Ассоциации по изучению заболеваний печени (APASL 2016) (Токио, Япония, 2016, доклад отмечен в числе победителей одной из номинаций лучших докладов конференции); Республиканской научно-практической конференции, посвященной проблемам гемофилии (Минск, 2016); Республиканской научно-практической конференции (Андижон, Узбекистан, 2016); образовательном семинаре Академии по изучению

заболеваний печени на базе кафедры инфекционных болезней и гепатологии Белостокского медицинского университета (Белосток, Республика Польша, 2016); Республиканском семинаре «Актуальные вопросы эпидемиологии, лечения, диагностики и профилактики ВИЧ-инфекции, гепатитов В и С» на базе ГУ «Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии» (Минск, 2016); Республиканской научно-практической конференции «Достижения гастроэнтерологии – в практику» (Минск, 2017); II Минском международном медицинском форуме (Минск, 2017); областной научно-практической конференции с международным участием, посвященной 55-летию кафедры инфекционных болезней УО «ГрГМУ», «Актуальные вопросы инфекционной патологии» (Гродно, 2017); научно-практической конференции «Опыт лечения хронического вирусного гепатита С» (Киев, Украина, 2017); научной конференции «Вирусные гепатиты в практике врача-интерниста» (Одесса, Украина, 2018); научно-практической конференции «Лечение вирусных гепатитов» (Ташкент, Узбекистан, 2018); научно-практической конференции с международным участием «Мечниковские чтения – 2018. Актуальные проблемы парентеральных инфекций» (Харьков, Украина, 2018); Республиканской с международным участием научно-практической конференции, посвященной 60-летию Гродненского государственного медицинского университета (Гродно, 2018); научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы диагностики, лечения и профилактики инфекционных и паразитарных заболеваний. Тропическая медицина» (Киев, Украина, 2018).

Результаты внедрены в работу учреждений здравоохранения «Городская инфекционная клиническая больница г. Минска», «9-я городская клиническая больница г. Минска» (ГУ «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии»); «Могилевская инфекционная больница», «Гомельская областная инфекционная клиническая больница», «Минская областная клиническая больница», а также в учебный процесс учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет». Созданы Национальные протоколы по лечению вирусных гепатитов В и С («Диагностика и лечение пациентов (взрослое население) с хроническими вирусными гепатитами В и С»). Данные, полученные в результате определения однонуклеотидных полиморфизмов человека, включены в Государственный регистр информационного ресурса «База данных пациентов с хроническим вирусным гепатитом С (1 генотип) и их генотипов». Получен патент Республики Беларусь на изобретение «Способ прогнозирования эффективности этиотропной терапии хронического вирусного гепатита С генотипа 1 пегилированным интерфероном и рибавирином».

Опубликование результатов диссертации

По материалам диссертации опубликованы 52 печатные работы, включая 26 статей в рецензируемых журналах, соответствующих пункту 18 «Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь» (общий объем 11,2 авторских листа), включая 2 статьи в странах дальнего зарубежья; 18 других публикаций (8 статей и 10 тезисов в сборниках научных трудов, общий объем 3,9 авторских листа), 6 инструкций по применению (3,6 авторских листа). Получен 1 патент, утвержден 1 клинический протокол. Общий объем опубликованных материалов – 20,2 авторских листа.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 196 страницах компьютерного текста (отдельным томом представлены приложения), состоит из введения, общей характеристики работы, 7 глав (обзор литературы, материал и методы, 5 глав результатов собственных исследований), заключения, библиографического списка и 20 приложений. Объем содержательной части диссертации составил 161 страницу, включая 34 таблицы (объем – 14 страниц) и 37 рисунков (объем – 19 страниц). Библиографический список включает 352 источника, из которых 28 русскоязычных и 324 иностранных, а также 52 собственных публикации соискателя.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

Материал исследования

Отбор пациентов для исследования проводился в Минском городском Центре инфекционной гепатологии на базе УЗ «Минская городская инфекционная клиническая больница». В исследование вошли 957 пациентов: 134 пациента с ВГВ инфекцией, у которых проводилось противовирусное лечение в период с января 2010 по декабрь 2018 года, а также 823 пациента с ВГС инфекцией и противовирусным лечением в период с 2007 по 2018 гг. Для филогенетического анализа использовались образцы крови, полученные у 48 пациентов с различными формами гемофилии и хроническим гепатитом С.

В группе пациентов с ВГВ инфекцией критериями исключения являлись: наличие коинфекции с вирусом иммунодефицита, одновременное использование нескольких противовирусных лекарственных средств для лечения ВГВ-инфекции, нарушения схем приема лекарственных средств (низкая приверженность к лечению), а также отсутствие клинико-лабораторных данных в медицинской документации (пациенты, которые по разным причинам не проходили необходимые обследования).

Критериями исключения пациентов из исследования результатов лечения ВГС инфекции являлись: наличие коинфекции с вирусом иммунодефицита человека; наличие ортотопической трансплантации печени в анамнезе; острый гепатит С; смена лекарственных средств в процессе противовирусного лечения; летальный исход от патологии, не связанной с противовирусным лечением (онкологические заболевания, не ассоциированные с ВГС инфекцией); досрочное самостоятельное прекращение лечения пациентом; пролонгирование курса лечения (до 72 недель) при использовании ЛС на основе интерферона; отсутствие сведений по достижению непосредственного вирусологического ответа (НВО) и УВО12 (УВО24); противовирусное лечение ЛСППД в анамнезе.

Методы исследования

Общеклинические методы

Обследование пациентов с применением общеклинических, иммунологических и молекулярно-биологических методов проводилось в соответствии с инструкцией по применению Министерства здравоохранения Республики Беларусь «Алгоритм диспансерного наблюдения при вирусных гепатитах» и другой соответствующей нормативной документацией, утвержденной Министерством здравоохранения Республики Беларусь.

Для исследуемых групп пациентов выполнялись общий анализ крови и биохимический анализ крови. Определение числа лейкоцитов, эритроцитов,

тромбоцитов, гемоглобина и гематокрита, а также частичная дифференцировка лейкограммы проводились на гематологических анализаторах МЕК-6410К (Российская Федерация) и Nihon Konden (Япония). Биохимические показатели крови определяли с использованием биохимического анализатора А-25 (Испания) и реагентов Byosistems (Испания).

Иммунологические методы

Для диагностики вирусных гепатитов методом иммуноферментного анализа (ИФА) использовались сертифицированные иммуноферментные тест-системы:

- ИФА-ГЕПА-АТ-М, Республика Беларусь;
- ВектоНВsAg (подтверждающий), Российская Федерация;
- ВектоНВsAg-антитела, Российская Федерация;
- ВектоНВcAg-антитела, Российская Федерация;
- ВектоНВcAg-IgM, Российская Федерация;
- ВектоНВeAg, Российская Федерация;
- ВектоНВeAg-IgG, Российская Федерация;
- Вектогеп D-антитела, Российская Федерация;
- Вектогеп D-IgM, Российская Федерация;
- Бест анти-ВГС, Российская Федерация;
- РекомбиБест анти-ВГС – IgM, Российская Федерация.

Молекулярно-биологические методы

Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) выполняли с использованием следующих тест-систем:

- РеалБест РНК ВГС ЗАО «Вектор-Бест», Российская Федерация;
- РеалБест РНК ВГС количественный ЗАО «Вектор-Бест», Российская Федерация;
- РеалБест ДНК ВГВ ЗАО «Вектор-Бест», Российская Федерация;
- РеалБест ДНК ВГВ количественный ЗАО «Вектор-Бест», Российская Федерация;
- РеалБест РНК ВГD ЗАО «Вектор-Бест», Российская Федерация.

Экстракцию нуклеиновых кислот возбудителей из биологического материала проводили с использованием наборов РеалБест Экстракция 100 ЗАО «Вектор-Бест» (Российская Федерация) в соответствии с инструкцией по применению.

С целью выполнения условий исследования у пациентов с ВГС и ВГВ инфекцией определялась вирусная нагрузка методом ПЦР в реальном времени, а также генотип вируса для пациентов с ВГС инфекцией.

У пациентов с ВГВ инфекцией определение генотипов вирусов гепатита В осуществлялось в лаборатории диагностики ВИЧ и сопутствующих инфекций ГУ «Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии».

Для выявления и количественного определения РНК вируса гепатита С в клинических образцах плазмы крови использовались наборы реагентов «РеалБест РНК ВГС». Определение основано на обратной транскрипции вирусной РНК с последующей амплификацией кДНК в полимеразной цепной реакции с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов ПЦР в режиме реального времени.

Для выявления и количественного определения ДНК вируса гепатита В в клинических образцах плазмы крови использовались наборы реагентов «РеалБест ДНК ВГВ». Определение основано на амплификации вирусной ДНК в полимеразной цепной реакции с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов ПЦР в режиме реального времени.

Учет результатов ПЦР проводили согласно инструкции по применению используемого набора.

Согласно инструкциям к наборам, гарантированное определение РНК ВГС осуществлялось при концентрации не менее 15 МЕ/мл. Гарантированное определение ДНК ВГВ – при концентрации не менее 5 МЕ/мл.

Диапазон определяемых концентраций (область линейности): от 100 МЕ/мл до 100 000 000 МЕ/мл РНК ВГС и ДНК ВГВ.

Для определения вирусной нагрузки в копиях РНК ВГС применялся коэффициент пересчета 1 МЕ = 2,5 копии РНК ВГС. Для определения вирусной нагрузки в копиях ДНК ВГВ применялся коэффициент пересчета 1 МЕ = 4,5 копии ДНК ВГВ.

Для дифференциации генотипов 1, 2, 3 вируса гепатита С использовался набор реагентов «РеалБест РНК ВГС-генотип 1/2/3». Выявлялись вирусы гепатита С генотипов 1а, 1b, 2а, 2b, 2с, 2i, 3, 4, 5а, 6 и определялись генотипы 1 (субтипы 1а, 1b), 2 (субтипы 2а, 2b, 2с, 2i), 3 (субтипы 3а, 3b). Указанные реагенты позволяли определять генотип ВГС при концентрациях РНК более 400 МЕ/мл.

Генетические методы

Забор материала у пациентов для генетического исследования проводился в ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси» из буккального эпителия, полученного в результате мазка ватной палочкой по слизистой внутренней поверхности щеки. В дальнейшем выделялась ДНК человека с последующим генотипированием по локусам хромосом rs12979860 IL28B, CCR5Δ32, -308G/A TNFα и -403G/A CCL5.

Секвенирование и филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей вируса гепатита С, выделенных у пациентов с гемофилией, а также определение генотипов вируса гепатита В осуществлялось в лаборатории диагностики ВИЧ и сопутствующих инфекций ГУ «Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии». Выделение вирусной РНК/ДНК из образцов сыворотки/плазмы крови выполняли с использованием «Комплекта реагентов для выделения НК» производства ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск, Россия) и «Комплекта реагентов для выделения ДНК из клинического материала» «РИБО-сорб», «РНК-преп» производства ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора (Российская Федерация). Работа осуществлялась согласно инструкциям, прилагаемым к наборам. Электрофореграммы исследуемых образцов были получены на генетическом анализаторе ABI PRISM® 3100-Avant™ Genetic Analyzer (Applied Biosystems, США).

Из 48 положительных на ВГС в ИФА и ОТ-ПЦР (ПЦР с обратной транскрипцией) образцов плазмы крови 23 были секвенированы по участку генов core/E1. Анализ электрофореграмм и сборка последовательностей фрагментов ДНК проводилась с помощью программного обеспечения Sequencing Analysis Software™ (Applied Biosystems®) v5.1.1, SeqScape v2.6 и Geneious® v8 (Biomatters Ltd.). Множественное выравнивание нуклеотидных последовательностей проводили с помощью алгоритма ClustalW.

Поиск генетически близких референсных сиквентов ВГС осуществлялся с помощью программы BLAST. Филогенетические деревья строились с применением алгоритма ML (maximum likelihood) в программах PHYL (Phylogenetic maximum likelihood) и GARLI (Genetic Algorithm for Rapid Likelihood Inference), с моделью замены нуклеотидов GTR + I + G (I – proportion of invariable sites, G – Gamma shape parameter). Оптимизация топологии дерева – с помощью алгоритма Best of NNIs and SPRs. Для расчета статистической достоверности кластеров использовался тест SH-aLRT. Достоверными считались кластеры филогенетического дерева, корневая ветвь которых имела значение 0,9 и более.

Определение генотипов/подгенотипов и рекомбинантных форм ВГС и построение филогенетического дерева осуществлялось с помощью программ Sequencing Analysis, BioEdit, SeqScape, MEGA6, Geneious для автоматического генотипирования: geno2pheno, <https://hcv.lanl.gov/cgi-bin/LOCATE/locate.cgi> с использованием референсных сиквентов для генотипирования ВГС, взятых из международной базы данных GeneBank.

Статистические методы

Все статистические расчеты, в том числе анализ данных изменения текущего состояния заболевания, проводились в статистическом пакете R, версия 3.4, с использованием библиотек survival, msSurv, p3state.msm, HardyWeinberg, MASS, epiR, gplots, rcompanion, FactoMineR.

Оценка соответствия вида распределения количественных показателей закону нормального распределения выполнялась с использованием критерия Шапиро–Уилка. В зависимости от соответствия/несоответствия вида распределения анализируемых признаков закону нормального распределения в расчетах использованы параметрические и непараметрические методы описательной статистики.

Количественные показатели исследования представлены медианой и квартилями в виде Me (Q25;Q75), в случае нормального распределения – средним и стандартным отклонением в виде $m \pm SD$. Сравнение количественных показателей проводилось с помощью критерия Манна–Уитни (между двумя группами) либо с помощью критерия Краскела–Уоллиса (при сравнении более двух групп). При обнаружении статистически значимых различий дополнительный анализ осуществлялся апостериорным критерием Данна с поправкой на множественные сравнения методом Холма. Для нормально распределенных величин использовался критерий Стьюдента.

Качественные показатели представлены частотами и процентами в группе. Исследование таблиц сопряженности выполнялось при помощи критерия хи-квадрат с поправкой Йейтса, в случае нарушения предположений, лежащих в основе критерия хи-квадрат, использовался точный критерий Фишера. Для отношения шансов (ОШ) рассчитывались 95% доверительные интервалы (95% ДИ).

Анализ событий во времени (вирусологический ответ, вирусологический прорыв, биохимический ответ, достижение сероконверсии) осуществлялся с помощью оценки Каплан–Мейер. Для значения кумулятивной вероятности в контрольных точках рассчитывалась стандартная ошибка ($\% \pm SE$). Сравнение наблюдений во времени проводилось с помощью лог-ранк критерия.

В работе использовалась регрессионная модель Кокса–Маркова. Вероятности состояний и переходов между ними для цензурированных данных рассчитывались согласно Datta S. and Satten G.A. на основе оценки Нельсона–Аалена и представлены графически во времени и таблицами на контрольные временные точки.

Взаимоотношение нежелательных явлений и используемых схем противовирусного лечения изучалось с помощью анализа соответствий.

При проведении мультивариантного анализа использовалась модель логистической регрессии. В анализ включались переменные и их попарное

взаимодействие с известным предиктором IL28B. Далее модель редуцировалась с помощью алгоритма пошагового исключения на базе критерия ВИС для предотвращения переобучения модели. Для модели рассчитывались классические показатели производительности (диагностическая точность, специфичность, чувствительность, прогностическая значимость положительного результата, прогностическая значимость отрицательного результата, отношение правдоподобия для положительных результатов, отношение правдоподобия для отрицательных результатов, диагностическое отношение шансов) и их 95% ДИ. Для окончательной модели рассчитывалось ОШ как экспоненциальное преобразование соответствующих коэффициентов регрессии. Доверительные интервалы для ОШ рассчитывались также как экспоненциальное преобразование соответствующих доверительных интервалов коэффициентов регрессии. Оценка непротиворечия полученной модели исходным данным проводилась на основании критерия Хосмера–Лемешева (С-критерий). Информативность модели (способность различать наличие и отсутствие клинического ответа на лечение) и дискриминационные свойства модели оценивалась с помощью ROC-кривой (С-индекс).

Уровень статистической значимости в исследовании принимался $p < 0,05$.

Результаты исследования

Сравнение результатов лечения ламивудином и тенофовиром у пациентов с ВГВ инфекцией

В соответствии с критериями исключения в сравнительный анализ не включены 18/134 (13,4%) пациентов. Соответственно, итоговый анализ проведен у 116/134 (86,6%) пациентов. Количество мужчин – 87/116 (75%). Количество женщин – 29/116 (25%). Соотношение М : Ж – 3 : 1. Общее количество пациентов в обеих исследуемых группах (лечение ламивудином или тенофовиром), у которых уже имелось противовирусное лечение ВГВ в анамнезе, составило 21/116 (18,1%); у 4/116 (3,5%) пациентов имелась коинфекция вирусом гепатита D; у 25/116 (21,6%) на момент инициации противовирусного лечения выявлялся HBeAg. Общее количество пациентов с циррозом печени составило 33/116 (28,5%), при этом у 18/33 (54,6%) пациентов диагноз был подтвержден с помощью эластометрии (стадии фиброза F4 и F3-F4), остальным 15/33 (45,4%) пациентам диагноз цирроза печени был выставлен клинически. По всем вышеприведенным показателям группы были однородны и сопоставимы.

У 74/116 пациентов (63,8%) проводилось генотипирование ВГВ. Выявлена следующая частота генотипов ВГВ в исследуемой выборке: A2 – 12/74 (16,2%), D1 – 11/74 (14,9%), D2 – 30/74 (40,5%), D3 – 21/74 (28,4%).

Таким образом, у пациентов, включенных в группу исследования, выявлено значительное преобладание D генотипа ВГВ – 62/74 (83,8%). Несмотря на то, что генотип вируса не влияет на эффективность лечения аналогами нуклеозидов (нуклеотидов), сравниваемые группы были однородны и по данному показателю.

Оценка кумулятивных вероятностей достижения авиремии ($\% \pm SE$) (стандартная ошибка) в процессе противовирусного лечения для групп пациентов, получающих ламивудин и тенофовир, представлена на рисунке 1.

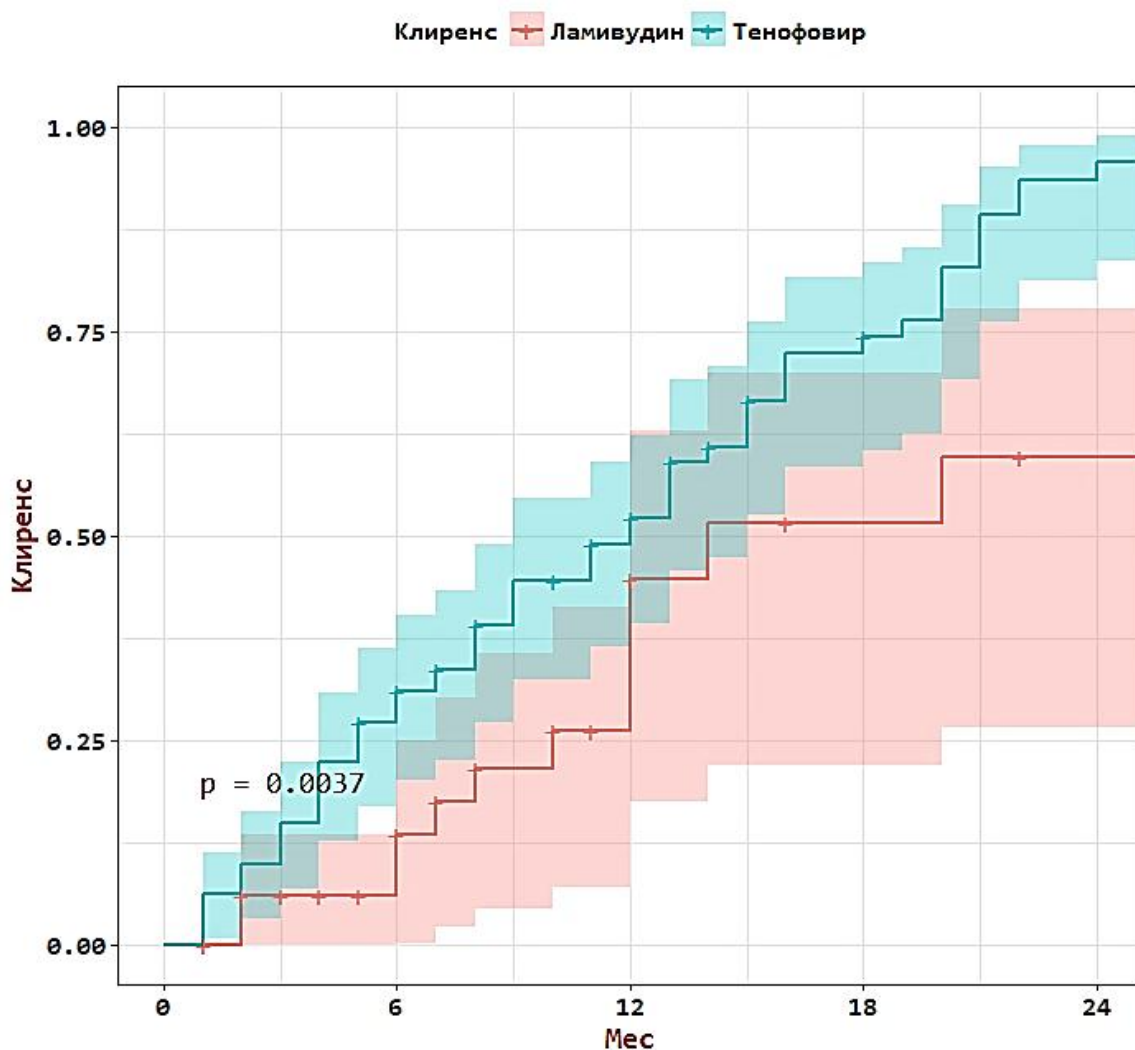


Рисунок 1. – Кривая Каплан–Мейер для оценки различий между ламивудином и тенофовиром в кумулятивной вероятности достижения вирусологического ответа в группах с лечением ламивудином (n=35) и тенофовиром (n=81)

Кумулятивная доля пациентов, достигших авиремии к 24 месяцу противовирусного лечения ($\% \pm SE$) тенофовиром, составила $95,7 \pm 3,3 \%$, при лечении ламивудином – $59,6 \pm 13,1 \%$. Таким образом, тенофовир был более эффективен по сравнению ламивудином для достижения авиремии во время противовирусного лечения ($p=0,004$). При этом после 12 месяцев

противовирусного лечения авиремия достигнута у $52,1 \pm 5,9$ % пациентов с лечением тенофовиром, а у пациентов с лечением ламивудином – у $44,6 \pm 11,7$ %.

Достижение сероконверсии с лабораторным подтверждением исчезновения HBeAg выявлено у 2/11 (18,2%) пациентов, получавших лечение ламивудином, и у 11/16 (68,8%) лечившихся тенофовиром ($p < 0,001$).

Среди пациентов, получавших лечение ламивудином, у 13/35 (37,1%) достигнута авиремия. В дальнейшем у 9/13 (69,2%) был зарегистрирован вирусологический прорыв. У 5/22 (22,7%) пациентов, которые не достигли авиремии, вирусная нагрузка увеличилась более чем в 10 раз от минимальной зарегистрированной, несмотря на проводимое противовирусное лечение (вирусологический прорыв у пациентов, не достигших авиремии). Время до наступления вирусологического прорыва в группе пациентов, получавших ламивудин, без достижения авиремии составило 11 (10; 22) месяцев от начала лечения, а для пациентов с первичным клиренсом вирусной нагрузки – 10 (6; 12) месяцев от начала лечения. У пациентов, получавших тенофовир, не выявлено вирусологических прорывов в течение всего срока наблюдения.

Анализ возможных факторов, влияющих на вероятность вирусологического прорыва у пациентов, получающих лечение ламивудином (с помощью регрессионной модели Кокса–Маркова), выявил, что наличие цирроза печени повышало вероятность развития вирусологического прорыва у пациентов с уже достигнутым клиренсом вирусной нагрузки ($p = 0,014$). Возраст пациентов влиял на вероятность вирусологического прорыва как у лиц с отсутствием вирусологического ответа, так и у пациентов, достигших клиренса вирусной нагрузки. С помощью лог-ранк критерия установлено, что среди пациентов в возрасте до 43 лет ($n = 14$) вирусологический прорыв был отмечен у 2 пациентов, среди пациентов старше 43 лет ($n = 21$) – у 12 пациентов ($p = 0,02$).

Прогнозирование эффективности лечения пациентов с ВГС инфекцией генотипа 1 интерферон-содержащими лекарственными средствами

Были выявлены статистически значимые различия в распределении частот генотипов ОНП rs12979860 IL28B между группами с выздоровлением (УВО) и неэффективностью лечения (объединенная группа пациентов с полным или частичным неответом, вирусологическим прорывом и рецидивом заболевания) ($p = 0,0001$). Такие различия свидетельствуют, что вероятность неудачного результата лечения при генотипе СС в 8 раз ниже таковой при наличии другого генотипа (ОШ 0,12, 95% ДИ 0,04-0,39). При генотипе ТТ

вероятность неблагоприятного исхода лечения почти в 5 раз выше, чем при наличии хотя бы одного аллеля С (ОШ 4,89, 95% ДИ 1,34-17,79).

В результате статистического анализа среди новых потенциальных предикторов (CCR5Δ32, -308G/A TNFα, -403G/A CCL5) не было выявлено ни одного однонуклеотидного полиморфизма, способного по аналогии с rs12979860 IL28B самостоятельно прогнозировать эффективность лечения. Тем не менее, два из трех потенциальных предикторов – -308G/A TNFα и -403G/A CCL5 – продемонстрировали способность к детализации прогнозирования эффективности лечения, особенно у пациентов с генотипом СТ rs12979860 IL28B.

Методом многофакторной логистической регрессии установлено, что женский пол повышает шансы достижения НВО в 3,67 раза (95% ДИ 1,50-9,66) по сравнению с мужским. Использование в качестве противовирусного лечения пегилированных форм интерферона (ИФН) достоверно увеличивает шансы достижения НВО по сравнению с короткоживущими формами ИФН ($p=0,002$). Учитывая, что генотип ТТ IL28B является самым неблагоприятным, он принят за референтный уровень, по отношению к которому рассчитывались шансы успеха лечения. Выявлено, что наличие генотипа СС IL28B повышает шансы достижения НВО в 29,04 раза (95% ДИ 6,42-182,60) по сравнению с IL28B ТТ. Наличие генотипа СТ IL28B в сочетании с генотипом GA или AA CCL5 повышает шансы достижения НВО в 4,16 раз (95% ДИ 1,18-16,01) по сравнению с генотипом ТТ IL28B. В случае наличия генотипа СТ IL28B в сочетании с генотипом GG CCL5 шансы достижения НВО по сравнению с ТТ IL28B не изменяются (ОШ 1,02, 95% ДИ 0,35-3,06), что необходимо использовать для прогнозирования ответа на противовирусное лечение среди пациентов с СТ генотипом IL28B.

При сравнении характеристик производительности полученной прогностической модели с характеристиками производительности модели, основанной на использовании исключительно генотипов IL28B, выявлено, что чувствительность модели в предсказании ответа на противовирусное лечение хронической ВГС инфекции, основанной только на генотипах IL28B, составляет лишь 0,37 (95% ДИ 0,25-0,50), а диагностическая точность – 0,66 (95% ДИ 0,57-0,74). Таким образом, модель, основанная только на генотипах IL28B, не позволяет в полной мере прогнозировать вероятность клинического успеха на старте противовирусного лечения хронической ВГС инфекции и значительно уступает модели, предлагаемой в работе: чувствительность разработанной модели – 0,75 (0,63-0,85), диагностическая точность – 0,74 (0,65-0,81).

С учетом того, что в группе пациентов с НВО достигается либо выздоровление (УВО), либо развивается рецидив заболевания, с целью

прогнозирования окончательных результатов противовирусного лечения хронической ВГС инфекции была создана вторая прогностическая модель, включавшая дополнительное исследование генотипов по полиморфизму (-308)G/A гена TNF α (рисунок 2).

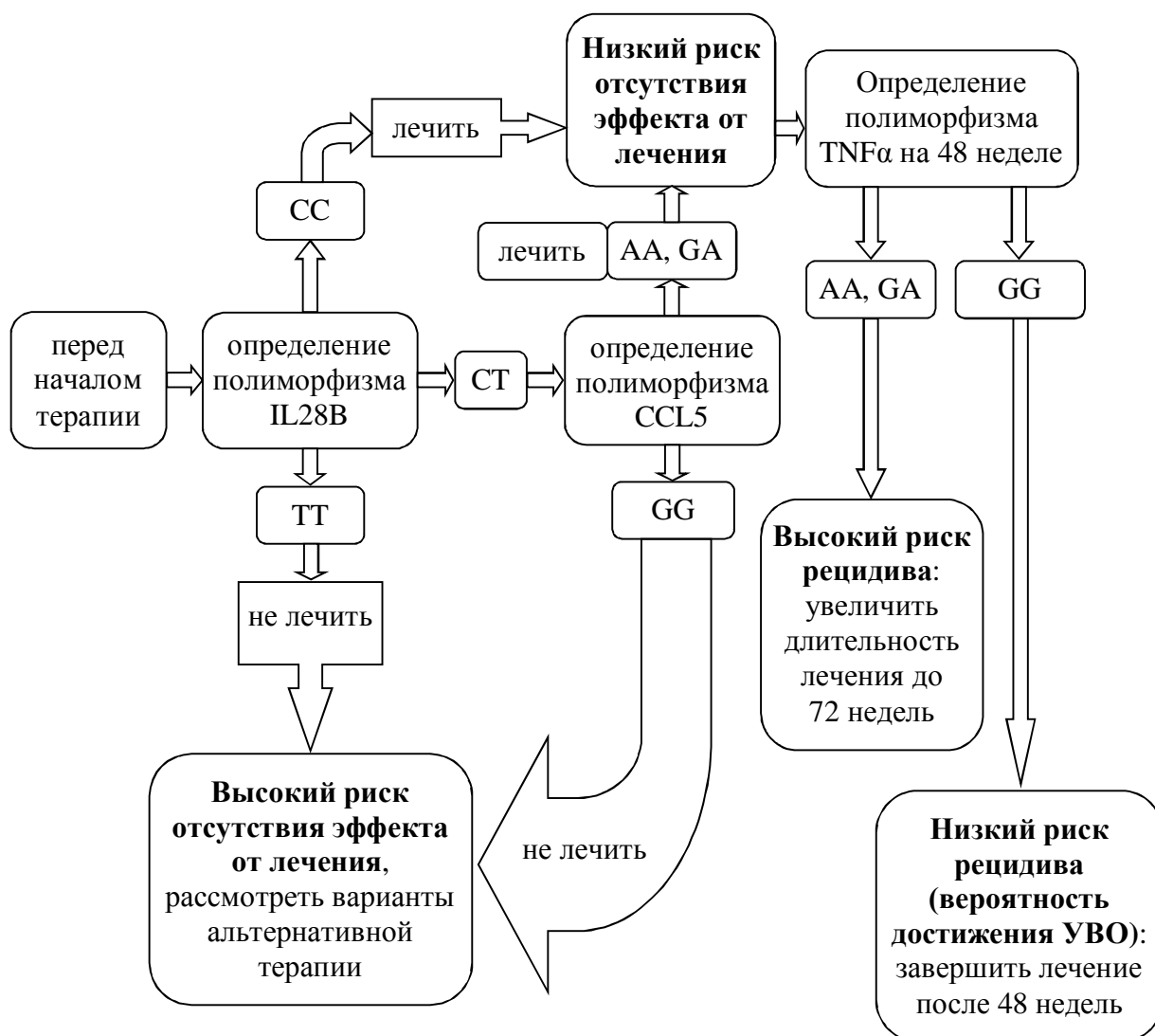


Рисунок 2. – Оценка риска неэффективности лечения хронической ВГС инфекции интерферон-содержащими лекарственными средствами

Наибольшие различия в частотах аллелей по полиморфизму TNF α (-308)G/A наблюдались среди пациентов, достигших УВО, и пациентов с рецидивом. Рецидив был зафиксирован у 30,8% носителей генотипа GA, в то время как среди пациентов с генотипом GG рецидив наблюдался лишь у 5,5% ($p=0,0021$).

Наличие генотипа AA или GA гена TNF α по сравнению с генотипом GG является независимым предиктором наступления рецидива после достижения НВО, увеличивая шанс неблагоприятного исхода в 7,9 раз (95% ДИ 1,8-42,5).

Результаты исследований внедрены в практическое здравоохранение в виде инструкции по применению Министерства здравоохранения Республики Беларусь «Метод оценки риска неэффективности лечения хронического вирусного гепатита С 1 генотипа интерферон-содержащими лекарственными средствами».

Лечение пациентов с ВГС инфекцией

В соответствии с критериями исключения в сравнительный анализ не вошли 99/823 (12,0%) пациентов.

Результаты лечения пациентов, получавших трехкомпонентное лечение (ПЕГ ИФН + рибавирин + боцепревир) (n=10), анализировались отдельно в связи с тем, что в схему их лечения входил как ПЕГ ИФН, так и боцепревир (первый ингибитор протеазы, относящийся к ЛСППД). В данной группе было представлено 9 мужчин, 1 женщина. У всех пациентов был выявлен генотип 1 ВГС. Из всех пациентов с доступной оценкой подгенотипа ВГС был диагностирован подгенотип 1b. В данной группе преобладали пациенты с продвинутыми стадиями фиброза печени: F3-F4 – 7/10 (70%). Неэффективное противовирусное лечение интерферон-содержащими ЛС в анамнезе имелось у 4/10 (40%) пациентов. Медиана вирусной нагрузки до начала противовирусного лечения составила 2100000 (507500; 2810000) МЕ/мл. Анемия перед началом противовирусного лечения выявлена у 1/10 пациента. Устойчивый вирусологический ответ (УВО12, УВО24) достигнут у 5/10 (50%) пациентов.

Количество пациентов, получавших лечение интерфероном в сочетании с рибавирином, а также пациентов, получавших лечение безинтерфероновыми схемами, составило 714/823 (86,8%) человек. Среди пациентов, получавших лечение интерферон-содержащими лекарственными средствами, количество мужчин составило 68/144 (47,2%), женщин – 76/144 (52,8%); в группе с лечением ЛСППД – мужчин 231/570 (40,5%), женщин 339/570 (59,5%). Предыдущее неэффективное лечение интерфероном в анамнезе имели 11/144 (7,6%) и 69/570 (12,1%) пациентов. Уровень вирусной нагрузки более 1500000 МЕ/мл (10% усеченное среднее) на момент инициации лечения у пациентов с лечением интерферон-содержащими лекарственными средствами и ЛСППД составил 42/143 (29,4%) и 207/566 (36,6%), соответственно. Уровень АЛТ (верхних границ нормы) составил 0,91 (0,58; 1,69) и 0,95 (0,65; 1,63) для сравниваемых групп соответственно. Уровень гемоглобина менее 110 г/л до начала лечения был выявлен у 12/536 (2,2%) пациентов, впоследствии получавших ЛСППД. По всем вышеперечисленным показателям указанные группы пациентов были однородны и сопоставимы.

Оценка УВО12/УВО24 была доступна у 531/570 (93,2%) пациентов, получавших противовирусное лечение ЛСППД.

Среди пациентов, получавших лечение интерферон-содержащими схемами, УВО достигнут у 41,7% (60/144), в то время как среди пациентов, получавших лечение безинтерфероновыми схемами, УВО составил 97,4% (517/531). Отношение шансов достижения УВО12/УВО24 против отсутствия достижения УВО12/УВО24 для лечения ЛСППД по сравнению с лечением интерферон-содержащими схемами составило 51,7 (95% ДИ 27,65-96,66).

Среди пациентов с генотипом 1 ВГС, получавших лечение OBV/PTV/r + DSV ± RBV (омбитасвир/паритапревир/ритонавир + дасабувир ± рибавирин), УВО достигли 100% (31/31); получавших лечение SOF + DCV ± RBV (софосбувир + даклатасвир ± рибавирин), УВО достигли 100% (75/75); получавших лечение SOF/LDV ± RBV (софосбувир/ледипасвир ± рибавирин), УВО достигли 98,1% (304/310). При статистическом сравнении полученных результатов лечения представленными безинтерфероновыми схемами значимых различий в частоте достижения УВО у пациентов с генотипом 1 ВГС выявлено не было ($p=0,751$).

Среди пациентов с генотипами 1 и 2, получавших лечение SOF + DCV ± RBV, УВО достигнут у 100% (75/75 и 19/19 для пациентов с генотипами 1 и 2 ВГС соответственно). Среди пациентов с генотипом 3, получавших лечение SOF + DCV ± RBV, УВО достигнут у 94,0% (78/83). Несмотря на то, что неэффективность противовирусного лечения наблюдалась у 5 пациентов с генотипом 3 ВГС, получавших схему SOF + DCV ± RBV, при анализе результатов противовирусного лечения (достижение УВО12/УВО24) в зависимости от генотипа ВГС статистически значимые различия не были выявлены ($p=0,08$). Таким образом, вероятность достижения УВО у пациентов, получавших лечение схемой SOF + DCV ± RBV, не зависела от генотипа вируса.

Молекулярно-генетическая характеристика ВГС, выявленного у пациентов с различными формами гемофилии

Филогенетический анализ был проведен у 23 пациентов. Для построения филогенетического дерева каждая полученная последовательность сравнивалась с 50 референс-последовательностями из международной базы данных GenBank. В результате проведенных исследований с использованием компьютерных программ было установлено, что 15/23 (65,2%) образцов относились к подгенотипу 1b, 5/23 (21,8%) – к подгенотипу 3a и 3/23 (13,0%) – к рекомбинантной форме 2k_1b.

Все образцы подгенотипа 1b можно было отнести к восьми отдельным кластерам с разными источниками происхождения. Кластеры 1 и 2 включали по четыре образца. К первому кластеру относились три образца из города

Минска – G3_Mn, G6_Mn, HCV_183_Gem_Mn и последовательности ВГС, полученные от пациента из Брестской области – HCV_195_Gem_Br. Все белорусские образцы кластрировались вместе с референс-последовательностями из США, Швеции, Южной Кореи и Японии, а также с ранее описанными последовательностями из города Минска, и имели общий источник происхождения в прошлом с узлом поддержки, равным 0,962. В то же время, между собой образцы не были связаны и находились в разных группах. Внутри кластера 2, включающего в основном белорусские последовательности, а также образцы из США, были выделены две отдельные группы. Первая группа включала три белорусских последовательности – HCV_181_Gem_Mn, G8_Mn, HCV_198_Gem_Br, которые кластрировались с ранее описанными и внесенными в международную базу данных образцами из Беларуси и имели узел поддержки, равный 0,969, указывающий на общий источник происхождения вирусов. Ко второй группе относилась только одна последовательность образца HCV_184_Gem_Mn, которая находилась в одном кладе с последовательностью из США и Беларуси с узлом поддержки, равным 0,982.

Нуклеотидные последовательности HCV_194_Gem_Br, HCV_196_Gem_Br и HCV_277_Gem_Gom, определенные как рекомбинантная форма 2k/1b, относились к одному большому кластеру, сформированному вместе с нуклеотидными референс-последовательностями из Голландии, Кипра, Японии, Австралии, Франции, Швеции и ранее описанными образцами из Беларуси. Узел поддержки кластера равнялся 1,0, поскольку формирование рекомбинантной формы RF_2k/1b и распространение ее в популяции людей произошло относительно недавно. Нуклеотидная последовательность HCV_277_Gem_Gom из Гомеля формировала клад с референс-образцом MF180270 из Гомельской области с величиной узла поддержки, равным 0,999; еще более близкие нуклеотидные последовательности имели образцы HCV_194_Gem_Br, HCV_196_Gem_Br, которые находились в одном кладе с узлом поддержки, равным 1,0, что указывает на единое происхождение вируса, изолированного от пациентов (рисунок 3).

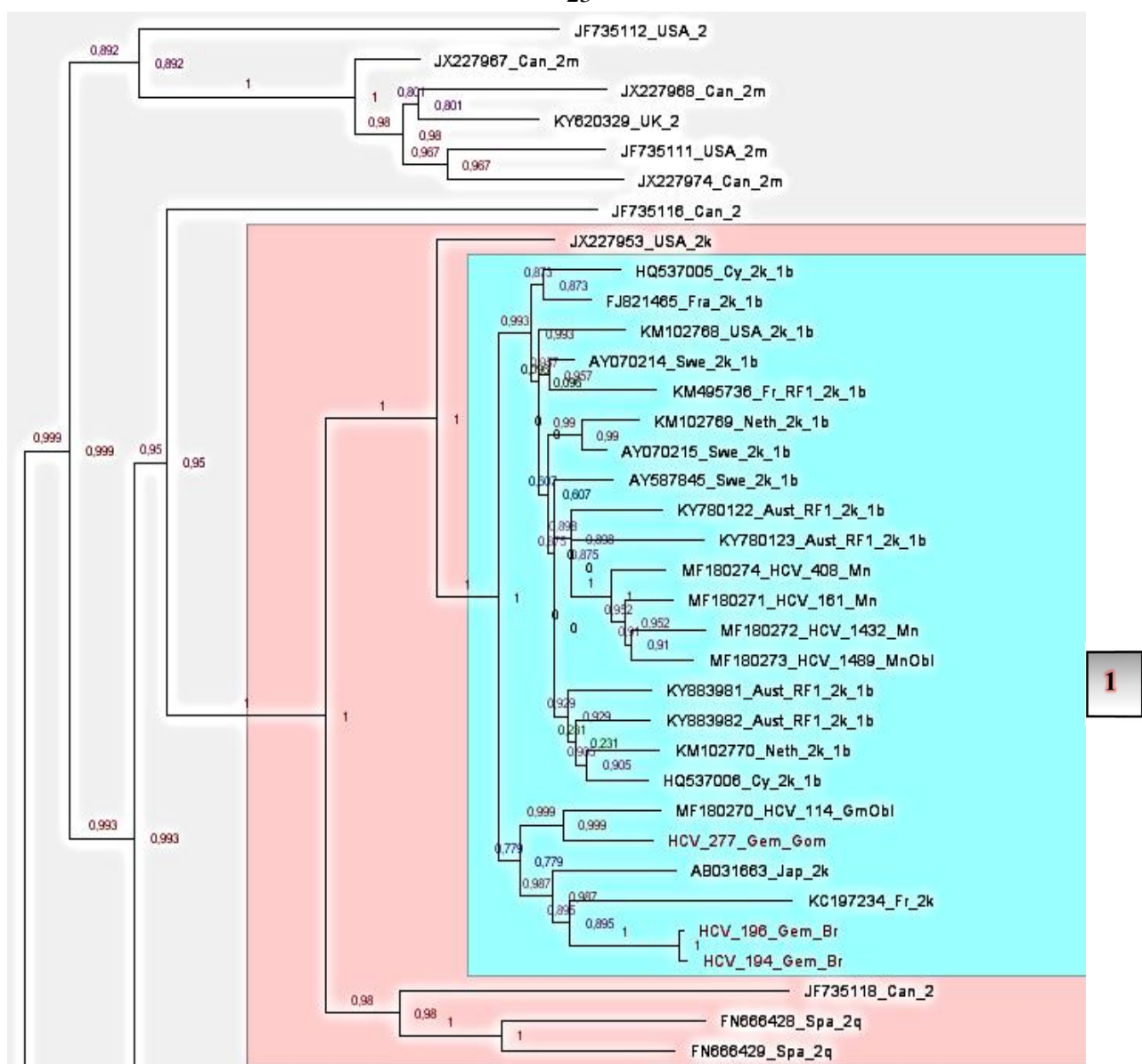


Рисунок 3. – Филогенетическое дерево нуклеотидных последовательностей генома ВГС рекомбинантной формы 2k/1b по участку core/E1, изолированного от пациентов с различными формами гемофилии

Нежелательные явления при лечении пациентов с ВГС инфекцией

Применение ЛСППД позволило расширить доступ к лечению ВГС за счёт пациентов более старшего возраста, а также пациентов с продвинутыми стадиями фиброза (циррозом) печени, в том числе у пациентов с анемией и тромбоцитопенией.

Частота выявления любого из нежелательных явлений составила 95,8% (137/143) для пациентов с лечением IFN + RBV; 50,0% (16/32) – для пациентов с лечением OBV/PTV/r + DSV ± RBV; 39,9% (225/564) – для пациентов, лечившихся схемами SOF/LDV ± RBV или SOF + DCV ± RBV. При сравнении частоты развития любых нежелательных явлений в зависимости от схемы лечения выявлены статистически значимые различия между группами

с лечением IFN + RBV и OBV/PTV/r + DSV ± RBV ($p < 0,001$), а также между группами IFN + RBV и SOF/LDV ± RBV или SOF + DCV ± RBV ($p < 0,001$). При сравнении частоты развития нежелательных явлений между группами с лечением OBV/PTV/r + DSV ± RBV и SOF/LDV ± RBV или SOF + DCV ± RBV статистически значимые различия не выявлены ($p = 0,271$).

На основании проведенного анализа соответствий наиболее часто выявляемыми нежелательными явлениями у пациентов с лечением SOF/LDV ± RBV или SOF + DCV ± RBV были слабость – 8,3% (47/564), головная боль – 2,5% (14/564), сонливость – 1,2% (7/564), снижение внимания – 0,4% (2/564) и головокружение – 0,9% (5/564).

Частота развития анемии у пациентов, получавших лечение IFN + RBV, составила 72,1% (93/129), OBV/PTV/r + DSV ± RBV – 24,1% (7/29), SOF/LDV ± RBV или SOF + DCV ± RBV – 11,0% (53/482). При оценке влияния рибавирина на частоту развития анемии у пациентов, лечившихся схемами SOF/LDV ± RBV или SOF + DCV ± RBV, выявлены статистически значимые различия. Так, анемия развивалась чаще у пациентов с наличием рибавирина в схеме лечения, 44,2% (34/77) против 4,7% (19/405) ($p < 0,001$) – относительный риск развития анемии при включении в схему рибавирина выше в 11,3 раза (95% ДИ 6,4-19,9).

Количество пациентов с вновь возникшей анемией в контрольных точках противовирусного лечения в зависимости от наличия рибавирина в схеме представлено в таблице 1.

Таблица 1. – Развитие анемии в процессе лечения у пациентов, получающих лечение схемами SOF/LDV ± RBV или SOF + DCV ± RBV, абс. (%)

Контрольная точка лечения (неделя)	С рибавирином, n=34	Без рибавирина, n=19	Всего пациентов с развившейся анемией, n=53
2	11 (20,8)	7 (13,2)	18 (34,0)
4	17 (32,1)	5 (9,4)	22 (41,5)
8	4 (7,6)	5 (9,4)	9 (17,0)
12	1 (1,9)	1 (1,9)	2 (3,8)
16*	1 (1,9)	1 (1,9)	2 (3,8)

Примечание – * контрольная точка для пациентов, получавших лечение в течение 24 недель

Анемия чаще развивалась в течение первого месяца использования SOF/LDV ± RBV или SOF + DCV ± RBV – 75,5% (40/53), как у пациентов, принимающих рибавирин, так и без него.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основные научные результаты диссертации

1. Тенофовир более эффективен по сравнению ламивудином при лечении пациентов с ВГВ инфекцией для достижения авиремии ($p=0,004$) [2, 3, 7, 8, 15]. Кумулятивная доля пациентов, достигших авиремии к 24 месяцу противовирусного лечения ($\% \pm SE$) тенофовиром, составила $95,7 \pm 3,3\%$, а при лечении ламивудином – $59,6 \pm 13,1\%$. Кумулятивная вероятность достижения авиремии после 12 месяцев противовирусного лечения тенофовиром составляет $52,1 \pm 5,9\%$. У пациентов, получавших лечение тенофовиром, HBeAg-сероконверсия наблюдалась чаще, чем у пациентов, лечившихся ламивудином ($p<0,001$). При лечении ламивудином возраст влиял на возможность вирусологического прорыва как у пациентов с отсутствием вирусологического ответа, так и у лиц, достигших клиренса вирусной нагрузки. Пороговый возраст составил 43 года ($p=0,02$). Наличие у пациентов цирроза печени на момент инициации противовирусного лечения ламивудином повышало вероятность развития вирусологического прорыва у пациентов с достигнутой авиремией ($p=0,014$) [11, 18, 29, 30, 34, 35, 39, 41, 45, 47].

2. При лечении пациентов с ВГС генотипа 1 интерферон-содержащими лекарственными средствами наличие генотипа СТ IL28В в сочетании с генотипом GA или AA CCL5 по сравнению с генотипом TT IL28В повышает шансы успеха лечения в 4,16 раз (95% ДИ 1,18-16,01). Наличие генотипа СТ IL28В в сочетании с генотипом GG CCL5 не изменяет шансы успеха лечения. При сравнении характеристик производительности полученной прогностической модели с характеристиками производительности модели прогноза, основанной на использовании исключительно генотипов IL28В, выявлено, что последняя существенно уступит аналогичным характеристикам разработанной модели: чувствительность 0,75 (95% ДИ 0,63-0,85) против 0,37 (95% ДИ 0,25-0,50), диагностическая точность 0,74 (95% ДИ 0,65-0,81) против 0,66 (95% ДИ 0,57-0,74) [9, 10, 12-14, 16, 21, 26, 38, 40, 42, 49, 51].

3. У пациентов с непосредственным вирусологическим ответом при лечении интерферон-содержащими лекарственными средствами наличие полиморфизма TNF α (-308)G/A является независимым предиктором рецидива заболевания. Рецидив заболевания наблюдался у 30,8% носителей генотипа GA, в то время как среди пациентов с генотипом GG рецидив наблюдался лишь у 5,5% ($p=0,0021$). Риск рецидива более чем в 7 раз выше для пациентов с генотипом GA по сравнению с генотипом GG (95% ДИ 2,7-28,34) [17, 21, 37, 49].

4. Среди пациентов с генотипом 1 ВГС, получавших лечение интерферон-содержащими схемами, устойчивого вирусологического ответа достигли 41,7% (60/144) [5, 6, 19, 32, 33, 36, 46], в то время как среди пациентов, получавших лечение безинтерфероновыми схемами, – 97,4% (517/531) ($p < 0,001$). У пациентов с генотипом 1 ВГС, получавших лечение лекарственными средствами прямого противовирусного действия, не выявлено статистически значимых различий в частоте достижения устойчивого вирусологического ответа в зависимости от схемы лечения ($p = 0,751$) [20, 22-25, 28, 43, 44]. Результаты противовирусного лечения у пациентов со схемой софосбувир + даклатасвир ± рибавирин, не зависят от генотипа ВГС ($p = 0,08$) [14, 27, 28, 45, 48, 50, 52].

5. В результате филогенетического анализа нуклеотидных последовательностей вируса гепатита С, выделенных от пациентов с гемофилией, обнаружены общие нуклеотидные последовательности вирусов: с подгенотипом 1b (в образцах HCV_181_Gem_Mn, G8_Mn, HCV_198_Gem_Br из Минска и Бреста) с узлом поддержки, равным 0,969, а также с рекомбинантной формой вируса 2k/1b (в образцах HCV_277_Gem_Gom, MF180270 из Гомеля и Гомельской области и HCV_194_Gem_Br, HCV_196_Gem_Br из Бреста) с узлами поддержки 0,999 и 1,0, что указывает на их единое происхождение [1,4].

6. Кумулятивная частота нежелательных явлений для пациентов, получавших лечение интерферон-содержащими лекарственными средствами, составила 95,8% (137/143). У пациентов, получавших лекарственные средства прямого противовирусного действия, нежелательные явления развивались в 39,9-50,0% случаев и зависели от применяемой схемы. Ни у одного из пациентов, получающих лечение схемами софосбувир/ледипасвир ± рибавирин или софосбувир + даклатасвир ± рибавирин, нежелательные явления не носили жизнеугрожающий характер и проявлялись: слабостью – 8,3% (47/564), головной болью – 2,5% (14/564), сонливостью – 1,2% (7/564), снижением внимания – 0,4% (2/564), головокружением – 0,9% (5/564). У пациентов, получавших схемы софосбувир/ледипасвир ± рибавирин или софосбувир + даклатасвир ± рибавирин, частота развития анемии составила 11,0% (53/482), причем у 75,5% (40/53) из них анемия развивалась в течение первого месяца лечения. Относительный риск развития анемии при включении рибавирина был выше в 11,3 раза (95% ДИ 6,4-19,9) [31].

Рекомендации по практическому использованию результатов

1. С целью предупреждения развития лекарственной резистентности у всех пациентов, получающих ламивудин более 6 месяцев, должна быть произведена замена лекарственного средства на тенофовир; отсутствие достижения авиремии у пациентов с хронической ВГВ инфекцией в срок до 24 месяцев не говорит об отсутствии клинической эффективности тенофовира – у таких пациентов противовирусное лечение должно быть продолжено [47, 52].

2. Определение генетических полиморфизмов TNF α (-308)G/A, а также CCL5 в сочетании с полиморфизмом IL28B является предиктором эффективности лечения интерферон-содержащими лекарственными средствами в сочетании с рибавирином у пациентов с генотипом 1 ВГС инфекции. Генотип GA или AA CCL5 в сочетании с генотипом CT IL28B является предиктором достижения непосредственного вирусологического ответа [51], а генотип GA TNF α (-308)G/A – предиктором рецидива заболевания. Предложенный метод [49] может быть использован при выборе противовирусного лечения у пациентов с ВГС генотипа 1 при развитии резистентности к лекарственным средствам прямого противовирусного действия.

3. Лекарственные средства прямого противовирусного действия, в том числе отечественного производства, являются высокоэффективными для лечения пациентов с ВГС инфекцией вне зависимости от используемой схемы. Они могут быть использованы для реализации, декларируемой ВОЗ стратегии элиминации ВГС инфекции, в том числе с использованием первой в Республике Беларусь пангенотипной схемы софосбувир + даклатасвир \pm рибавирин [48, 50, 52].

4. Выявленные нуклеотидные последовательности ВГС у пациентов с гемофилией могут быть использованы в качестве референс-образцов с оценкой их кластерной общности при проведении филогенетического анализа вирусов, выделенных от других пациентов с ВГС инфекцией. Генетическая общность вирусов гепатита С, эффективность противовирусного лечения лекарственными средствами прямого противовирусного действия позволяют считать пациентов с гемофилией приоритетной группой при планировании элиминации ВГС инфекции [52].

5. При проведении противовирусного лечения лекарственными средствами прямого противовирусного действия следует учитывать частоту (39,9-50,0% в зависимости от схемы) развивающихся нежелательных явлений. Эти нежелательные явления (слабость, головная боль, сонливость, снижение внимания и головокружение) не требуют прекращения лечения и не утяжеляют состояние пациентов. Включение в схемы противовирусного лечения рибавирина значительно увеличивает вероятность развития анемии (в 11,3

раза), которая у 75,5% пациентов отмечается во время первого месяца лечения, что обуславливает необходимость мониторинга содержания эритроцитов и гемоглобина в периферической крови [52].

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ СОИСКАТЕЛЯ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ**Статьи в научных журналах**

1. Гепатиты у больных гемофилией в Республике Беларусь / Э. В. Дашкевич, В. А. Змачинский, Д. Е. Данилов, Ю. В. Ольховик // Медицина. – 2010. – № 2. – С. 53–55.
2. Данилов, Д. Е. Лечение хронического вирусного гепатита В / Д. Е. Данилов, И. А. Карпов // В мире вирусных гепатитов. – 2012. – № 3-4. – С. 23–28.
3. Данилов, Д. Е. Тактика ведения пациентов с хроническим вирусным гепатитом В / Д. Е. Данилов, И. А. Карпов // Здоровоохранение. – 2012. – № 5. – С. 63–66.
4. Данилов, Д. Е. Вирусный гепатит С у пациентов с гемофилией / Д. Е. Данилов, В. Ф. Еремин, И. А. Карпов // Мед. журнал. – 2013. – № 2. – С. 79–81.
5. Данилов, Д. Е. Диагностика и лечение пациентов с хроническим вирусным гепатитом С / Д. Е. Данилов, И. А. Карпов, М. Г. Козаченко // Здоровоохранение. – 2013. – № 6. – С. 44–49.
6. Данилов, Д. Е. Оценка эффективности стандартной этиотропной терапии хронического вирусного гепатита С / Д. Е. Данилов, И. О. Стома, И. В. Кашпей // Рецепт (Recipe). – 2013. – № 5. – С. 112–118.
7. Данилов, Д. Е. Сравнение эффективности ламивудина и тенофовира в лечении хронического вирусного гепатита В / Д. Е. Данилов // Рецепт (Recipe). – 2014. – № 4. – С. 58–68.
8. Данилов, Д. Е. Хронический вирусный гепатит В: современная терапевтическая тактика / Д. Е. Данилов, Д. В. Литвинчук, И. А. Грибок // Клин. инфектология и паразитология. – 2014. – Спец. вып. в Беларуси. – С. 123–138.
9. Роль полиморфизма ss469415590 в качестве генетического предиктора эффективности терапии у пациентов с хроническим вирусным гепатитом С 1-го генотипа / Д. Е. Данилов, О. Г. Давыденко, И. А. Карпов, О. Д. Левданский, В. С. Панкратов, Н. В. Соловей, М. С. Родькин, Д. В. Литвинчук, А. В. Около-Кулак, А. В. Троян // Клин. инфектология и паразитология. – 2015. – № 2. – С. 72–77.
10. Влияние однонуклеотидного полиморфизма гена IL28B на эффективность терапии ПЕГ-ИФН/Рибавирином пациентов с 1 генотипом хронического вирусного гепатита С / Д. Е. Данилов, Д. В. Литвинчук, О. Д. Левданский, И. А. Карпов, О. Г. Давыденко, Н. Г. Даниленко, В. С. Панкратов, Н. В. Соловей, М. С. Родькин // Мед. журнал. – 2015. – № 4. – С. 60–63.

11. Treatment of Chronic Hepatitis B in Belarus: Tenofovir vs Lamivudine / D. E. Danilau, V. F. Eremin, I. A. Karpov, E. L. Gasich, D. V. Litvinchuk, I. A. Gribok, A. S. Nemira // Blood. – 2015. – Vol. 20, № 2. – P. 75–84.

12. Роль однонуклеотидных полиморфизмов в эффективности этиотропной терапии хронического вирусного гепатита С 1-го генотипа препаратами интерферона и рибавирином / Д. Е. Данилов, Д. В. Литвинчук, И. А. Карпов, Н. В. Соловей, О. Д. Левданский // Рецепт. – 2015. – № 5. – С. 52–61.

13. Полиморфизм генов IL28B и TNF- α среди коренного населения Беларуси, а также у пациентов с хроническим гепатитом С / О. Д. Левданский, М. С. Родькин, Д. Е. Данилов, В. С. Панкратов, А. В. Около-Кулак, А. В. Троян, И. А. Карпов, О. Г. Давыденко // Молекулярная и прикладная генетика. – 2016. – Т. 20. – С. 80–86.

14. Результаты и перспективы лечения хронического вирусного гепатита С / С. В. Жаворонок, В. Р. Гутмане, Д. И. Стратиенко, О. В. Солдатенко, Т. М. Барьяш, Т. В. Зновец, В. М. Мицура, В. Е. Воропаев, И. А. Карпов, Д. Е. Данилов, Е. Н. Яговдик, С. О. Вельгин // Мед. журнал. – 2016. – № 3. – С. 66–70.

15. Карпов, И. А. Лечение парентеральных вирусных гепатитов по результатам участия в 25-й Международной конференции Азиатско-Тихоокеанской Ассоциации по изучению заболеваний печени / И. А. Карпов, Д. Е. Данилов // Военная медицина. – 2016. – № 3. – С. 155–158.

16. Дополнительные предикторы эффективности лечения хронического вирусного гепатита С 1 генотипа (достижения непосредственного вирусологического ответа) с помощью препаратов интерферона / Д. Е. Данилов, Д. В. Литвинчук, О. В. Красько, О. Д. Левданский, Н. В. Соловей, И. А. Карпов, О. Г. Давыденко, Н. Г. Даниленко, В. С. Панкратов, Л. А. Анисько, Т. М. Барьяш, О. В. Солдатенко, М. С. Родькин, А. В. Троян // Здравоохранение. – 2016. – № 7. – С. 10–18.

17. Дополнительные генетические предикторы эффективности лечения хронического вирусного гепатита С 1 генотипа (достижение устойчивого вирусологического ответа) с помощью препаратов интерферона / Д. Е. Данилов, Д. В. Литвинчук, О. В. Красько, О. Д. Левданский, Н. В. Соловей, И. А. Карпов, О. Г. Давыденко, Н. Г. Даниленко, В. С. Панкратов, Л. А. Анисько, Т. М. Барьяш, О. В. Солдатенко, М. С. Родькин, А. В. Троян // Здравоохранение. – 2016. – № 8. – С. 4–9.

18. Использование неинвазивных методов диагностики в инфекционной гепатологии / С. Э. Глазкова, И. А. Карпов, Д. Е. Данилов, М. Мунтеану // Мед. журнал. – 2016. – № 4. – С. 26–30.

19. Danilau, D. Administration of eltrombopag in patients with HCV-associated thrombocytopenia / D. Danilau // *Clin. Infect. Parasitol.* – 2016. – Vol. 5, № 3. – P. 284–289.

20. Клинический опыт применения в Республике Беларусь 3D-терапии в лечении хронического вирусного гепатита С 1-го генотипа / Д. Е. Данилов, Д. В. Литвинчук, Н. П. Малич, И. А. Карпов // *Рецепт.* – 2016. – № 6. – С. 675–682.

21. Association of TNF- α and CCL5 with response to interferon-based therapy in patients with HCV 1 genotype / D. Danilau, D. Litvinchuk, N. Solovey, O. Krasko, I. Karpov // *Clin. Exp. Hepatol.* – 2017. – Vol. 3, № 1. – P. 16–22.

22. Ombitasvir/paritaprevir/ritonavir + dasabuvir \pm ribavirin for treatment of chronic hepatitis C 1 genotype in the Republic of Belarus / D. Danilau, N. Malich, D. Litvinchuk, I. Karpov // *Clin. Exp. Hepatol.* – 2017. – Vol. 3, № 3. – P. 164–168.

23. Эволюция лечения хронического вирусного гепатита С / Д. Е. Данилов, Н. П. Малич, С. С. Мовчанский, Д. В. Литвинчук, И. А. Карпов // *Гепатология и гастроэнтерология.* – 2017. – № 1. – С. 28–31.

24. Данилов, Д. Е. Лечение хронического вирусного гепатита С ингибиторами протеазы первого поколения / Д. Е. Данилов, С. С. Мовчанский, И. А. Карпов // *Здравоохранение.* – 2017. – № 11. – С. 66–70.

25. Литвинчук, Д. В. Этиотропная терапия лекарственными средствами прямого противовирусного действия у пациентов с циррозом печени в исходе хронического гепатита С / Д. В. Литвинчук, Д. Е. Данилов, И. А. Карпов // *Гепатология и гастроэнтерология.* – 2017. – № 2. – С. 128–134.

26. Полиморфные локусы ss469415590 гена IFNL4 и rs12979860 гена IL-28B в роли генетических предикторов эффективности терапии белорусских пациентов с хроническим вирусным гепатитом С / М. С. Родькин, О. Д. Левданский, В. С. Панкратов, Д. Е. Данилов // *Молекулярная и прикладная генетика.* – 2017. – Т. 22. – С. 43–51.

27. Эффективность лечения хронического гепатита С лекарственными средствами прямого действия / Д. Е. Данилов, Д. В. Литвинчук, Д. А. Виноградова, А. В. Матвеев, И. А. Карпов // *Здравоохранение.* – 2018. – № 10. – С. 52–56.

28. Данилов, Д. Е. Лечение хронического гепатита С противовирусными схемами софосбувир/ледипасвир и софосбувир + даклатасвир / Д. Е. Данилов // *Клин. инфектология и паразитология.* – 2018. – № 4. – С. 489–496.

29. Данилов, Д. Е. Сравнение результатов лечения ламивудином и тенофовиром у пациентов с хроническим гепатитом В и циррозом печени в исходе хронического гепатита В / Д. Е. Данилов // *Рецепт.* – 2019. – № 1. – С. 51–63.

30. Данилов, Д. Е. Предикторы результатов лечения ламивудином и тенофовиром у пациентов с хроническим гепатитом В и циррозом печени в исходе хронического гепатита В / Д. Е. Данилов, О. В. Красько // Рецепт. – 2019. – № 2. – С. 233–244.

31. Данилов, Д. Е. Нежелательные явления противовирусного лечения у пациентов с ВГС инфекцией / Д. Е. Данилов, Д. В. Литвинчук // Здравоохранение. – 2019. – № 5. – С. 56–61.

Материалы съездов, конгрессов, конференций, тезисы докладов

32. Эффективность лечения хронического вирусного гепатита С препаратами интерферона в сочетании с рибавирином / Д. Е. Данилов, И. А. Карпов, И. В. Кашпей, Н. Н. Юровский, Т. М. Барьяш, О. В. Солдатенко // Актуальные вопросы гепатологии: экспериментальная гепатология, терапевтическая гепатология, хирургическая гепатология : материалы 10-го Междунар. симп. гепатологов Беларуси, Гродно, 26–27 сент. 2013 г. / редкол. : В. М. Цыркунов (отв. ред.) [и др.]. – Гродно, 2013. – С 30–32.

33. Эффективность стандартной терапии хронического вирусного гепатита С / Д. Е. Данилов, М. Г. Козаченко, И. В. Кашпей, Н. Н. Юровский, Т. М. Барьяш, О. В. Солдатенко // Клин. инфектология и паразитология. – 2013. – Прил. [Науч. материалы, посвящ. 100-летию Минской городской инфекционной больницы]. – С. 31–37.

34. HBV-инфекция: некоторые аспекты этиотропной терапии / Д. Е. Данилов, И. А. Грибок, Д. В. Литвинчук, Н. В. Соловей, Н. Н. Юровский, Т. М. Барьяш, О. В. Солдатенко // Клин. инфектология и паразитология. – 2013. – Прил. [Науч. материалы, посвящ. 100-летию Минской городской инфекционной больницы]. – С. 38–50.

35. Данилов, Д. Е. HBV-инфекция: аспекты этиотропной терапии / Д. Е. Данилов, И. А. Карпов // Актуальные вопросы инфекционной патологии : материалы 6-го съезда инфекционистов Респ. Беларусь, Витебск, 29–30 мая 2014 г. / под ред. В. М. Семенова. – Витебск, 2014. – С. 65–66.

36. Данилов, Д. Е. Предикторы эффективности этиотропной терапии хронического гепатита С пегилированным интерфероном и рибавирином у пациентов с 1 генотипом / Д. Е. Данилов, Д. В. Литвинчук // Актуальные вопросы гепатологии : материалы 11-го Междунар. симпозиума гепатологов Беларуси, Гродно, 2 окт. 2015 г. / редкол. : В. М. Цыркунов (отв. ред.) [и др.]. – Гродно, 2015. – С 37–40.

37. Эффективность терапии вирусного гепатита: есть ли связь с полиморфными аллелями генов TNF α и IL-28B? / М. С. Родькин, О. Д. Левданский, В. С. Панкратов, Д. Е. Данилов, И. А. Карпов, Н. В. Соловей, Д. В. Литвинчук, А. Около-Кулак, А. В. Троян, О. Г. Давыденко // Генетика

и биотехнология XXI века: проблемы, достижения, перспективы : материалы II Междунар. науч. конф. к 50-летию ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси», Минск, 13–16 окт. 2015 г. / Ин-т генетики и цитологии НАН Беларуси ; редкол.: А. В. Кильчевский [и др.]. – Минск, 2015. – С. 243.

38. Предикторы эффективности этиотропной терапии хронического вирусного гепатита С ПЕГ-ИФН и рибавирином у пациентов с 1 генотипом / Д. Е. Данилов, Д. В. Литвинчук, Н. В. Соловей, О. Д. Левданский, В. С. Панкратов, М. С. Родькин // Респ. науч.-практ. конф. с междунар. участием, посвящ. 50-летию мед.-проф. факультета : сб. науч. тр. / редкол. : А. В. Сикорский [и др.]. – 2015. – С. 124–126.

39. Epidemiology of HBV in Belarus / I. Karpov, D. Danilau, I. Yurkevich, M. Kazachenko, I. Gribok // Blood. – 2015. – Vol. 20, № 2 [APASL Single Topic Conference: Focus on the Virus Hepatitis B, Erevan, Armenia, 3–6 Oct. 2015]. – P. 41.

40. The Effect of Polymorphisms in IL28B, TNF α , CCR4 and CCL5 Genes on the Chronic Hepatitis C Treatment Outcome / M. Rodzkin, N. Trayan, V. Pankratov, D. Danilau, O. Davydenko, I. Karpov // Conference for Young Scientists Institute of molecular biology and genetics, Kyiv, Ukraine, 21–25 Sep. 2015. – Kyiv, 2015. – P. 79.

41. Danilau, D. Comparative study of efficacy of lamivudine and tenofovir in treatment for chronic hepatitis B / D. Danilau, I. Karpov, D. Litvinchuk // Hepatol. Int. – 2016. – Vol. 10, № 1 [Abstracts of the 25th Annual Conference of APASL: Tokyo, Japan, Feb. 20–24, 2016]. – P. 245–246.

42. Genotype distribution in patients with chronic hepatitis C analysis using multifactor dimensionality reduction method / A. D. Liaudanski, M.S. Rodzkin, V. S. Pankratov, D. E. Danilau, I. A. Karpov, O. G. Davydenko // Systems biology BGRS\SB-2016 : Materials 10th International Conference on Bioinformatics of Genome Regulation and Structure, Novosibirsk, Russia, 29 Aug. – 2 Sept. 2016. – Novosibirsk, 2016. – P. 174.

43. Данилов, Д. Е. Хронический вирусный гепатит С: современная реальность / Д. Е. Данилов, И. А. Карпов // Семейный доктор. – 2016. – № 4. – С. 26–28.

44. Эффективность лечения хронического гепатита С лекарственными средствами прямого действия / Д. Е. Данилов, Д. В. Литвинчук, Д. А. Виноградова, А. В. Матвеев, И. А. Карпов // Мечниковские чтения – 2018. Актуальные проблемы парентеральных инфекций : материалы науч.-практ. конф. с междунар. участием, посвящ. 95-летию каф. инфекционных болезней Харьковского нац. мед. ун-та, Харьков, 17–18 мая 2018 г. / Харьк. нац. мед. ун-т ; редкол. : В. М. Козько [и др.]. – Харьков, 2018. – С 37–39.

Инструкции по применению

45. Алгоритм диспансерного наблюдения при вирусных гепатитах : инструкция по применению № 226-1212, утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 20.12.2012 / С. П. Лукашик, Е. Н. Яговдик-Тележная, Д. Е. Данилов, А. А. Ключарева, Н. М. Шавлов, М. Г. Козаченко, И.А. Грибок. – Минск, 2012. – 10 с.

46. Этиотропная терапия хронического вирусного гепатита С : инструкция по применению № 026-0313, утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 22.03.2013 / Д. Е. Данилов, И. А. Карпов, Е. Н. Яговдик-Тележная, И. А. Грибок, С. П. Лукашик. – Минск, 2013. – 13 с.

47. Метод лечения хронического вирусного гепатита В : инструкция по применению № 116-1114, утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 02.11.2014 / Д. Е. Данилов, И. А. Карпов, Д. В. Литвинчук, М. Г. Козаченко, И. А. Грибок. – Минск, 2014. – 19 с.

48. Данилов, Д. Е. Этиотропная терапия хронического вирусного гепатита С с применением лекарственных средств прямого действия : инструкция по применению № 048-0615, утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 17.06.2015 / Д. Е. Данилов, И. А. Карпов. – Минск, 2015. – 22 с.

49. Метод оценки риска неэффективности лечения хронического вирусного гепатита С 1 генотипа интерферон-содержащими лекарственными средствами : инструкция по применению № 027-0616, утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 30.06.2016 / Д. Е. Данилов, Н. В. Соловей, О. В. Красько, О. Д. Левданский, Д. В. Литвинчук, И. А. Карпов, О. Г. Давыденко, Н. Г. Даниленко, В. С. Панкратов, Л. А. Анисько, Т. М. Барьяш, О. В. Солдатенко, М. С. Родькин, А. В. Троян. – Минск, 2016. – 7 с.

50. Алгоритм лечения вирусного гепатита С лекарственными средствами прямого действия : инструкция по применению № 036-0517, утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 01.05.2017 / Д. Е. Данилов, С. П. Лукашик, И. А. Карпов, Д. В. Литвинчук. – Минск, 2017. – 18 с.

Патенты

51. Способ прогнозирования эффективности этиотропной терапии хронического вирусного гепатита С генотипа 1 пегилированным интерфероном и рибавирином : пат. № 21943 Респ. Беларусь : МПКА 61В 10/00 (2006.01) ; С 12Q 1/68 (2006.01) / Д. Е. Данилов, И. А. Карпов, Н. В. Соловей, Д. В. Литвинчук ; дата публ. : 28.02.2018.

Клинические протоколы

52. Диагностика и лечение пациентов (взрослое население) с хроническими вирусными гепатитами В и С : клин. протокол, утв. Постановлением М-ва здравоохранения Респ. Беларусь № 19 от 19.03.19 / И. А. Карпов, В. М. Семенов, В. М. Цыркунов, А. А. Ключарева, Е. Л. Красавцев, Д. Е. Данилов, С. П. Лукашик, Д. В. Литвинчук, Н. С. Ивкова, М. Г. Козаченко. – Минск, 2019. – 30 с.

РЭЗІЮМЭ**Данілаў Дзмітрый Яўгенавіч
Супрацьвіруснае лячэнне гепатытаў В і С, генетычныя прэдыктары
эфектыўнасці**

Ключавыя словы: гепатыт В, гепатыт С, аднануклеатыдны полімарфізм, генетычныя прэдыктары, лекавыя сродкі прамога супрацьвіруснага дзеяння, устойлівы вірусалагічны адказ, непажаданыя з’явы.

Мэта даследавання: усталяваць аптымальныя схемы супрацьвіруснага лячэння ў пацыентаў з хранічнай ВГВ і ВГС інфекцыяй, а таксама новыя генетычныя прэдыктары эфектыўнасці лячэння хранічнай ВГС інфекцыі.

Метады даследавання: клінічныя (ацэнка клінічнай сімптоматыкі і цяжкасці цяжэння захворвання), малекулярна-біялагічныя (выяўленне і колькаснае вызначэнне ДНК віруса гепатыту В і РНК віруса гепатыту С ва ўзорах плазмы крыві), генетычныя (генатыпаванне аднануклеатыдных палімарфізмаў чалавека; філагенетычны аналіз з выкарыстаннем рэферэнсных сіквенсаў для генатыпавання ВГС), статыстычныя (правядзенне статыстычнага аналізу атрыманых даных).

Атрыманыя вынікі і іх навізна. Упершыню праведзены параўнальны аналіз эфектыўнасці прымянення тэнафавіру і ламівудзіну ў пацыентаў з ВГВ інфекцыяй. Упершыню ў пацыентаў з ВГС інфекцыяй генатыпу 1 вызначаны генетычныя аднануклеатыдныя палімарфізмы ў якасці прэдыктараў эфектыўнасці лячэння. Упершыню праведзены філагенетычны аналіз ВГС, вылучанага ў пацыентаў з гемафіліяй у беларускай папуляцыі. Праведзены аналіз эфектыўнасці лекавых сродкаў прамога супрацьвіруснага дзеяння, у тым ліку айчыннай вытворчасці; ацэнена эфектыўнасць розных супрацьвірусных схем у пацыентаў з рознымі генатыпамі ВГС. Прааналізавана частата ўзнікнення непажаданых з’яў пры лячэнні ВГС інфекцыі, вызначаны асноўныя прычыны і тэрміны развіцця анеміі.

Рэкамендацыі па выкарыстанні: правядзенне супрацьвіруснага лячэння ВГС і ВГВ інфекцыі, выбар аптымальных супрацьвірусных схем, выкарыстанне генетычных прэдыктараў для павышэння эфектыўнасці супрацьвіруснага лячэння.

Галіна прымянення: інфекцыйныя хваробы, інфекцыйная гепаталогія, эпідэміялогія, гастрэнтэралогія.

РЕЗЮМЕ

Данилов Дмитрий Евгеньевич Противовирусное лечение гепатитов В и С, генетические предикторы эффективности

Ключевые слова: гепатит В, гепатит С, однонуклеотидный полиморфизм, генетические предикторы, лекарственные средства прямого противовирусного действия, устойчивый вирусологический ответ, нежелательные явления.

Цель исследования: установить оптимальные схемы противовирусного лечения у пациентов с хронической ВГВ и ВГС инфекцией, а также новые генетические предикторы эффективности лечения хронической ВГС инфекции.

Методы исследования: клинические (оценка клинической симптоматики и тяжести течения заболевания), молекулярно-биологические (выявление и количественное определение ДНК вируса гепатита В и РНК вируса гепатита С в образцах плазмы крови), генетические (генотипирование однонуклеотидных полиморфизмов человека; филогенетический анализ с использованием референсных сиквенсов для генотипирования ВГС), статистические (проведение статистического анализа полученных данных).

Полученные результаты и их новизна. Впервые проведен сравнительный анализ эффективности применения тенофовира и ламивудина у пациентов с ВГВ инфекцией. Впервые у пациентов с ВГС инфекцией генотипа 1 определены генетические однонуклеотидные полиморфизмы в качестве предикторов эффективности лечения. Впервые проведен филогенетический анализ ВГС, выделенного у пациентов с гемофилией в белорусской популяции. Проведен анализ эффективности лекарственных средств прямого противовирусного действия, в том числе отечественного производства: оценена эффективность различных противовирусных схем у пациентов с различными генотипами ВГС. Проанализирована частота возникновения нежелательных явлений при лечении ВГС инфекции, определены основные причины и сроки развития анемии.

Рекомендации по использованию: проведение противовирусного лечения ВГС и ВГВ инфекции, выбор оптимальных противовирусных схем, использование генетических предикторов для повышения эффективности противовирусного лечения.

Область применения: инфекционные болезни, инфекционная гепатология, эпидемиология, гастроэнтерология.

SUMMARY

Danilau Dzmitry Jaugenavich

Antiviral treatment for hepatitis B and hepatitis C, genetic predictors of treatment response

Keywords: hepatitis C, hepatitis B, single nucleotide polymorphism, genetic predictors, direct-acting antivirals, sustained virologic response, adverse events.

Aim of the study: identification of the optimal regimens of antiviral treatment in patients with HBV- and HCV-infection, and identification the novel genetic predictors of treatment efficacy of HCV infection.

Methods: clinical (assessment of clinical symptoms and disease severity), molecular-biological (detection and quantification of HCV RNA and HBV DNA in serum samples), genetic (genotyping of human single nucleotide polymorphisms; phylogenic analysis with the use of reference sequences for HCV genotyping), statistical (statistical analysis of obtained results).

Scientific results and their novelty. For the first time, comparative analysis of tenofovir and lamivudine efficacy in patients with HBV-infection was carried out. For the first time, novel single nucleotide polymorphisms were revealed as predictors of response to antiviral treatment in patients with HCV infection genotype 1. For the first time, the phylogenic analysis of HCV obtained from Belarusian patients with hemophilia was performed. The comparative efficacy analysis of DAA, including generics with domestic production, was performed: treatment efficacy depending on antiviral regimen and HCV genotype was evaluated. Analysis of the incidence of adverse events during the antiviral treatment for HCV was performed, the main cause of anemia and the time of its emergence was identified.

Recommendation for the practical use: antiviral treatment for HBV and HCV infection, selection of optimal antiviral regimens, the use of genetic predictors for improvement of the efficiency of antiviral treatment.

Field of application: infectious diseases, infectious hepatology, epidemiology, gastroenterology.

Подписано в печать 11.09.19. Формат 60×84/16. Бумага писчая «Хероx office».
Ризография. Гарнитура «Times».
Усл. печ. л. 2,32. Уч.-изд. л. 2,18. Тираж 60 экз. Заказ 545.

Издатель и полиграфическое исполнение: учреждение образования
«Белорусский государственный медицинский университет».
Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя,
распространителя печатных изданий № 1/187 от 18.02.2014.
Ул. Ленинградская, 6, 220006, Минск.