Ледипасвир/Софосбувир эмчилгээнд хамрагдсан архаг С хепатиттай Монгол өвчтөнүүдэд Вирусын эсрэг шууд үйлдэлтэй эмийн тэсвэржилтийг судалсан судалгаа

О.Баатархүү,[3,4], Ж.Амарсанаа [2,4], Д.Энхтуяа[2,4], Н.Наранзул[1,4], Т.Хосбаяр[5,6], Б.Энхтүвшин[5], Shih-Jer Hsu[7], Tai-Chung Tseng[7,8], Jia-Horng Kao[7,8,9]

[1]АШУҮИС-ийн АУС-ийн Халдварт өвчин судлалын тэнхим, [2] "Хаппи Веритас" Элэгний оношилгоо эмчилгээний төв, [3]Монголын Анагаах Ухааны Академи, [4]Монголын Элэгний эмгэг судлалын холбоо, [5]АШУҮИС-ийн Эмнэлзүйн лабораторийн тэнхим, [6]АШУҮИС-ийн Эмнэлзүйн молекул оношилгооны төв, [7]Тайваний Үндэсний Их Сургуулийн эмнэлэгийн Дотрын тасаг, [8]Тайваний Үндэсний Их Сургуулийн эмнэлгийн Элэг судлалын төв, [9]Тайваний Үндэсний Их Сургуулийн АУС

Цахим шуудан: baatarkhuu@mnums.edu.mn.

Утас: 99094624

Түлхүүр үг:

архаг С вирус хепатит, тэсвэржилттэй холбоотой нуклеотидын солигдол, ледипасвир, софосбувир, Монгол улс

Товч утга

Үндэслэл: Дэлхий дахинд вирусын эсрэг шууд үйлдэлтэй эм (ВЭШҮЭ)-ийг эмчилгээнд нэвтрүүлснээр эмчилгээний дараах вирусын тогтвортой хариу урвал (ВТХУ)-ын хувь харьцангуй өндөр байна. ХСВ-ийн 1б генотипийн архаг халдвартай өвчтнүүдэд Y93H цэгэн мутацийн улмаас тухайн генд кодлогдож буй уургийн 93 дахь амин хүчил тирозин (Y) нь гистидин (H) болж өөрчлөгдөж, вирус ледипасвир эмэнд >1000 дахин тэсвэртэй болдог болох нь тогтоогдсон нь бидний судалгааны ажлыг хийх үндэслэл болж байна.

Зорилго: Монгол улсад LDV/SOF эмчилгээнд хамрагдсан архаг С вируст хепатиттай өвчтөнүүдэд ВЭШҮЭ-ийн тэсвэржилтийг судлах

Арга, аргачлал: Судалгаанд хамрагдсан өвчтөнүүд ледипасвир 90 мг болон софосбувир 400 мг (Gilead Sciences, Foster City, CA,USA) агуулсан нийлмэл найрлагатай шахмал эмийг өдөрт 1 ширхэгээр 12 долоо хоног ууж хэрэглэсэн. Эмчилгээний өмнө хүн ам зүйн болон эмнэлзүйн дараах мэдээллийг цуглууллаа. Эмчилгээний өмнөх, эмчилгээний дараах ийлдсийн дээжид ХСВ-ийн РНХ-ийн идэвхжилийг тодорхойлсон. Вирусын идэвхжилийг LLOQ буюу тоон үзүүлэлтээр тодорхойлох доод хязгаар-20 ОУН/мл бүхий БХ-ПГУ шинжилгээний аргаар хийж гүйцэтгэв (Sunsure Co., Ltd., China). Генийн полиморфизмыг илрүүлэхийн зорилгоор тухайн генийн хэсгийг үүрэн-ПГУ-аар олшруулж, олширсон бүтээгдэхүүний нуклеотидын дарааллыг Illumina MiSeq багажаар (Illumina, Hayward, CA, USA) тодорхойллоо. Үүрэн-ПГУ шинжилгээний эхний үе шатанд KOD -Plus-полимераз (Toyobo, Osaka, Japan), NS5A-F18 болон NS5A-R546 праймер ашиглалаа.

Үр дүн: Судалгаанд хамрагдсан архаг С вируст хепатиттай 120 өвчтөний 31 (33.0%) нь эрэгтэй, дундаж нас 51.0 байв. Тэднээс 87 (92.6%) өвчтөнд эмчилгээний өмнө аланин аминтрансфераза (АЛАТ) ≧40 U/L, тромбоцит эсийн дундаж хэмжээ 206.8 k/μL, FIB-4 оноо 1.92 байв. ХСВ-ийн РНХ-ийн түвшин 7.15 log10 IU/mL. Y93H полиморфизм бүхий вирусын эзлэх хувь 74 (78.7%) өвчтөнд <1%, 7 (7.4%) өвчтөнд

1–15%, 2 (2.1%) өвчтөнд 15–50%, 11 (11.7%) өвчтөнд ≥50% байлаа. LDV/SOF эмчилгээг 12 долоо хоног үргэлжлүүлсний дараа эмийн эмчилгээний үр дүнг үнэлэхэд 90.4% буюу 85 өвчтөнд вирусын тогтвортой хариу урвал илэрсэн. ХСВ-ийн эмчилгээний дараа ВТХУ илэрсэн 85 өвчтөнд Y93H полиморфизмтай вирусын эзлэх хувь <1% байсан байна. Харин эмчилгээ үр дүнгүй 9 тохиолдлын 8-д Y93H полиморфизм бүхий вирусын эзлэх хувь >90% байлаа. ХСВ-ийн геномын NS5A генийн хэсэгт Y93H полиморфизм бүхий вирусын эзлэх хувь <1%, 1–15%, ≥15% байхад эмчилгээний ВТХУ илрээгүй буюу эмчилгээ үр дүнгүй болсон хувь 0%, 14.3%, 61.5% тус тус байлаа.

Дүгнэлт: Архаг С вируст хепатиттай, 1б генотиптэй Монгол өвчтөнүүдэд LDV/SOF эмчилгээний дараах ВТХУ- 90.4% байна. Эмчилгээ үр дүнгүй өвчтөнүүдэд ХСВ-ийн геномын NS5A генийн хэсэгт Y93H полиморфизм 90%-иас дээш илэрч байна.

Үндэслэл: Монгол улс нь Азийн улс орнууд төдийгүй дэлхий дахинаа ХСВ-ийн халдварын өндөр тархалттай орны нэг бөгөөд Монголын улсын нийт хүн амын дунд ХСВ-ийн халдвар 11-15.6% тархалттай байдгаас 1б генотип давамгай (98,8%) тохиолддог.[1, 3, 4, 5]

Дэлхий дахинд вирусын эсрэг шууд үйлдэлтэй эм (ВЭШҮЭ)-ийг эмчилгээнд нэвтрүүлснээр эмчилгээний дараах вирусын тогтвортой хариу урвал (ВТХУ)-ын хувь харьцангуй өндөр байна. ВЭШҮЭ нь эмчилгээний үр дүнд сөргөөр нөлөөлдөг вирусын геномд үүссэн нуклеотид солигдох цэгэн мутацийг “Тэсвэржилттэй холбоотой нуклеотидын солигдол” (resistance-associated substitutions,RASs) гэж нэрлэдэг. ВЭШҮЭ эмчилгээний явцад тэсвэржсэн вирус сонгогдон үлдэж улмаар давамгайлснаар эмчилгээ үр дүнгүй болдог. Иймд тэсвэржилттэй холбоотой нуклеотидын солигдол (ТХНС)-ыг эмчилгээний өмнө (baseline RASs) болон дараа (selected RASs) тодорхойлдог. ХСВ-ийн геномын NS5A болон NS3 хэсэгт тэсвэржилттэй холбоотой нуклеотидын солигдол үүсэх нь ВЭШҮЭ-ийн эмчилгээ үр дүнгүй болох шалтгаан болдог. Вирусын геномын NS5A хэсэгт үүсдэг тэсвэржилттэй холбоотой нуклеотидын солигдол олон төрөл байдаг боловч ХСВ-ийн 1б генотипийн архаг халдвартай өвчтнүүдэд Y93H цэгэн мутаци хамгийн түгээмэл тохиолддог. Энэ мутацийн улмаас тухайн генд кодлогдож буй уургийн 93 дахь амин хүчил тирозин (Y) нь гистидин (H) болж өөрчлөгдөж, вирус ледипасвир эмэнд >1000 дахин тэсвэртэй болдог болох нь тогтоогдсон нь[6, 7] бидний судалгааны ажлыг хийх үндэслэл болж байна.

Зорилго: Монгол улсад LDV/SOF эмчилгээнд хамрагдсан архаг С вируст хепатиттай өвчтөнүүдэд ВЭШҮЭ-ийн тэсвэржилтийг судлах

Арга, аргачлал: Судалгаанд 2016 оны 1-р сараас 2019 оны 12-р сар хүртэлх хугацаанд АШУҮИС болон Хаппи Веритас элэгний эмнэлэгт эмчилгээнд хамрагдсан архаг С вируст хепатиттай өвчтөнүүдийг хамруулав.

Судалгаанд хамруулах шалгуур: Судалгаанд 18-75 насны, ХСВ-ийн 1б генотипийн халдвартай, өмнө нь ВЭШҮЭ-ийн эмчилгээ хийлгэж байгаагүй өвчтөн

Судалгаанаас хасах шалгуур: Элэгний хавдар эсвэл бусад эрхтэний хавдартай, бөөрний үйл ажиллагааны дутмагшилтай (ТШХ <30 мл/мин/1.73м^2), эмнэлзүйн шинж тэмдэг бүхий зүрхний дутагдалтай, ээнэгшилгүй элэгний эмгэгтэй (Child-Pugh C), эпилепси, хяналтгүй чихрийн шижин, бамбай булчирхайн үйл ажиллагааны алдагдалтай эсвэл 6 сараас бага хугацаанд амьдрах магадлалтай хавсарсан хүнд өвчтэй хүмүүс

Судалгаанд хамрагдсан өвчтөнүүд ледипасвир 90 мг болон софосбувир 400 мг (Gilead Sciences, Foster City, CA,USA) агуулсан нийлмэл найрлагатай шахмал эмийг өдөрт 1 ширхэгээр 12 долоо хоног ууж хэрэглэсэн. Энэхүү судалгаа нь Тайваны үндэсний их сургуулийн эмнэлэг болон ЭМЯ-ны Ёс зүйн хорооны зөвшөөрөлтэйгөөр

хийгдсэн ба судалгаанд оролцогчдоос бичгээр таниулсан зөвшөөрөл авсан болно.

Мэдээлэл цуглуулалт: Эмчилгээний өмнө хүн ам зүйн болон эмнэлзүйн дараах мэдээллийг цуглууллаа. Үүнд: ХСВ-ийн вирусын идэвхжил, биохимийн шинжилгээ, цусны дэлгэрэнгүй шинжилгээ, HBsAg, өмнө нь ХСВ-ийн эсрэг эмчилгээ хийлгэж байсан эсэх, элэгний хатуурлын эмнэлзүйн илрэлтэй эсэх. Эмчлэгч эмч элэгний хатуурал гэсэн оношийг эмнэлзүй, лабоарторийн шинжилгээнд үндэслэн тогтоож, элэгний фиброзын зэргийг 4 хүчин зүйлд суурилсан фиброзын зэрэг тооцоолуураар (FIB4) тооцсон.[8]

Эмчилгээний өмнөх, эмчилгээний дараах ийлдсийн дээжид ХСВ-ийн РНХ-ийн идэвхжилийг тодорхойлсон. Вирусын идэвхжилийг LLOQ буюу тоон үзүүлэлтээр тодорхойлох доод хязгаар-20 ОУН/мл бүхий БХ-ПГУ шинжилгээний аргаар хийж гүйцэтгэв (Sunsure Co., Ltd., China). LDV/SOF эмчилгээний үр дүнг эмчилгээ дууссанаас хойш 12 дахь долоо хоногт ХСВ-ийн РНХ<20 IU/mL-ээс доош тодорхойлогдсон буюу вирусын тогтвортой хариу урвал (SVR12) үүссэн өвчтнүүдийн хувиар тодорхойлсон. Ийлдсийг судалгаанд хэрэглэх хүртэл −80°C –д хадгалав.

ХСВ-ийн геномын NS5A хэсгийн Y93H полиморфизмын шинжилгээ:

Уг полиморфизмыг илрүүлэхийн зорилгоор тухайн генийн хэсгийг үүрэн-ПГУ-аар олшруулж, олширсон бүтээгдэхүүний нуклеотидын дарааллыг Illumina MiSeq багажаар (Illumina, Hayward, CA, USA) тодорхойллоо. Үүрэн-ПГУ шинжилгээний эхний үе шатанд KOD -Plus-полимераз (Toyobo, Osaka, Japan), NS5A-F18 болон NS5A-R546 праймер ашиглалаа. ПГУ шинжилгээний дараагийн шатанд 5′ төгсгөлдөө өвөрмөц адаптор бүхий ХСВ-д өвөрмөц хос праймерүүдийг ашиглав. (NS5A-F196 праймер: 5′-TCGTCGGCAGCGTCN8, NS5A-R396 праймер: 5′- GTCTCGTGGGCTCGG).

ХСВ-ийн геномын NS5A генийн хэсгийг 2 шаттай ПГУ-аар олшруулсаны дараа гурав дахь ПГУ-аар Nextera Index (Illumina, Hayward, CA, USA) цомог ашиглан төгсгөл хэсэгт нь 2 адапторыг холбон нийлэгжүүллээ. Гурав дахь ПГУ шинжилгээнд Phusion high-fidelity DNA polymerase (Thermo, Pittsburgh, PA, USA) фермент ашиглалаа (хүснэгт 2). ПГУ-ын олширсон бүтээгдэхүүнийг AMPure SPRI beads (SPRIselect reagent, Beckman Coulter, Indianapolis, IN, USA) цомог ашиглан цэвэршүүллээ. ПГУ-аар олширсон бүтээгдэхүүний хэмжээг Quant-iT™ dsDNA high sensitivity assay (Life Technologies, Eugene, OR, USA) цомгоор тодорхойлов.

Нуклеотидын дарааллыг MiSeq нуклеотидын дараалал тогтоох (NGS) багажаар тодорхойллоо. Нуклейн хүчлийн сангийн тоон үзүүлэлтийг KAPA library quantification kit (KAPA Biosystems, Wilmington, MA, USA) цомгоор тодорхойлсон. Олширсон бүтээгдэхүүний чанарыг Agilent DNA 1000 цомог ашиглан Agilent Bioanalyzer 2100 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) аппаратаар шалгав. Бүх сорьцыг Illumina MiSeq нуклеотидын дараалал тогтоох багажаар 2 Ч 300 base pairs (bps) тодорхойллоо. 15–20%-ийн PhiX хяналтын ДНХ болгон ашиглалаа. Нуклеотидын дараалал тогтоох шинжилгээгээр 209 хос нуклеотид урттай фрагментууд үүсгэн шинжилсэн ба 209 хос нуклеотид хэмжээнээс богино хэмжээтэй хэрчим үүссэн эсвэл чанарын шаардлага хангахгүй нуклейн хүчлийн дараалал >50% (чанарын оноо <20) үед шинжилгээнд анализ хийх боломжгүй гэж үзлээ. Чанарын шаардлага хангасан нуклеотидын дарааллын үр дүнг ХСВ-ийн лавлагаа дараалалтай харьцуулан BLAST-программаар анализ хийв (BBAP).[9]

Үр дүн: Судалгаанд архаг С вирус хепатиттай 120 өвчтөн хамрагдсанаас 94 өвчтөнд мутацийн анализ бүрэн хийгдлээ. Судалгаанд хамрагдсан архаг С вирус хепатиттай 120 өвчтөний 31 (33.0%) нь эрэгтэй, дундаж нас 51.0 байв. Тэднээс 87 (92.6%) өвчтөнд эмчилгээний өмнө аланин аминтрансфераза (АЛАТ) ≧40 U/L, тромбоцит эсийн дундаж хэмжээ 206.8 k/μL, FIB-4 оноо 1.92 байв (Хүснэгт 1).

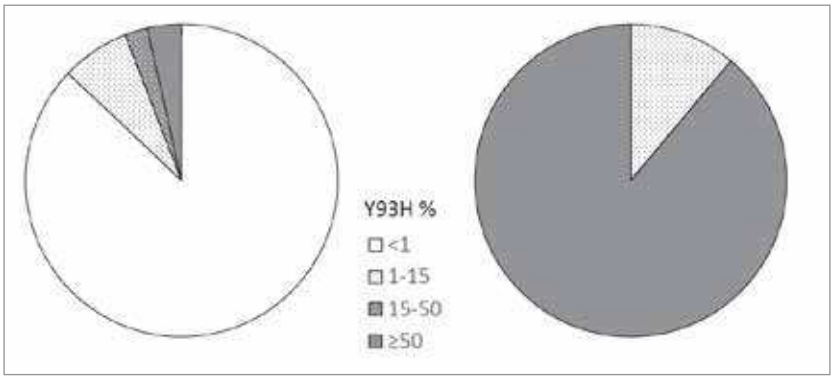
Судалгаанд хамрагдсан 1 (1.1%) өвчтөн

өмнө нь интерферон эмчилгээ хийлгэж байсан ба элэгний хатуурал болон элэгний хорт хавдар оноштой өвчтөн байгаагүй. ХСВ-ийн РНХ-ийн түвшин 7.15 log10 IU/mL. Y93H полиморфизм бүхий вирусын эзлэх хувь 74 (78.7%) өвчтөнд <1%, 7 (7.4%) өвчтөнд 1–15%, 2 (2.1%) өвчтөнд 15–50%, 11 (11.7%) өвчтөнд ≥50% байлаа. Судалгаанд хамрагдсан 6 (6.4%) өвчтөнд ХВВ-ийн хавсарсан халдвар илэрсэн. LDV/SOF эмчилгээг 12 долоо хоног үргэлжлүүлсний дараа эмийн эмчилгээний үр дүнг үнэлэхэд 90.4% буюу 85 өвчтөнд вирусын тогтвортой хариу урвал илэрсэн.

Хүснэгт 1. ХСВ-ийн архаг халдвартай 1б генотиптэй өвчтөнүүдийн эмчилгээний өмнөх үзүүлэлт

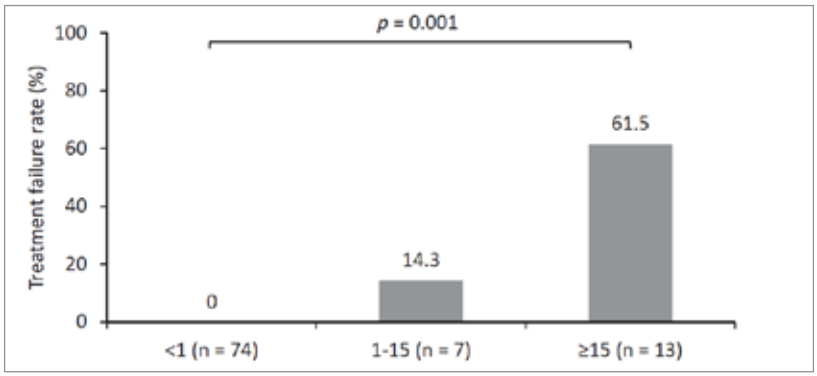
Үзүүлэлт	
Хүйс: эрэгтэй	31 (33.0)
Нас, жилээр	51.0 (21.0)
АСАТ хэмжээ, U/L	84.8 (27.6)
АЛАТ хэмжээ, U/L	85.3 (19.0)
Тромбоцит, k/μL	206.8 (43.0)
FIB-4	1.92 (1.04)
ИНФ эмчилгээ хийлгэж байсан	1 (1.1)
Цирроз	0 (0)
ХВВ-ийн хавсарсан халдвартай	6 (6.4)
ХСВ РНХ, log10 IU/мл	7.15 (0.70)
Y93H, log10%	−0.60 (−0.49)
Y93H, %	
<1	74 (78.7)
1–15	7 (7.5)
15–50	2 (2.1)
≥50	11 (11.7)

ХСВ-ийн эмчилгээний дараа ВТХУ илэрсэн 85 өвчтөнд Y93H полиморфизмтай вирусын эзлэх хувь <1% байсан байна (Зураг 1). Харин эмчилгээ үр дүнгүй 9 тохиолдлын 8-д Y93H полиморфизм бүхий вирусын эзлэх хувь >90% байлаа. Зөвхөн 1 тохиолдолд Y93H полиморфизм бүхий вирусын эзлэх хувь 4% тодорхойлогдсон байна (Зураг 1).



Зураг 1. Эмчилгээ үр дүнтэй болон үр дүнгүй өвчтнүүдийн дундах Y93H злэх хувь

ХСВ-ийн геномын NS5A генийн хэсэгт Y93H полиморфизм бүхий вирусын эзлэх хувь <1%, 1–15%, ≥15% байхад эмчилгээний ВТХУ илрээгүй буюу эмчилгээ үр дүнгүй болсон хувь 0%, 14.3%, 61.5% тус тус байлаа (p <0.05, Зураг.2).



Зураг 2. Y93H полиморфизмтай вирусын эзлэх хувийг эмчилгээ үр дүнгүй болсон тохиолдлын хувьтай харьцуулсан байдал

Эмчилгээний үр дүнд нөлөөлөх хүчин зүйл

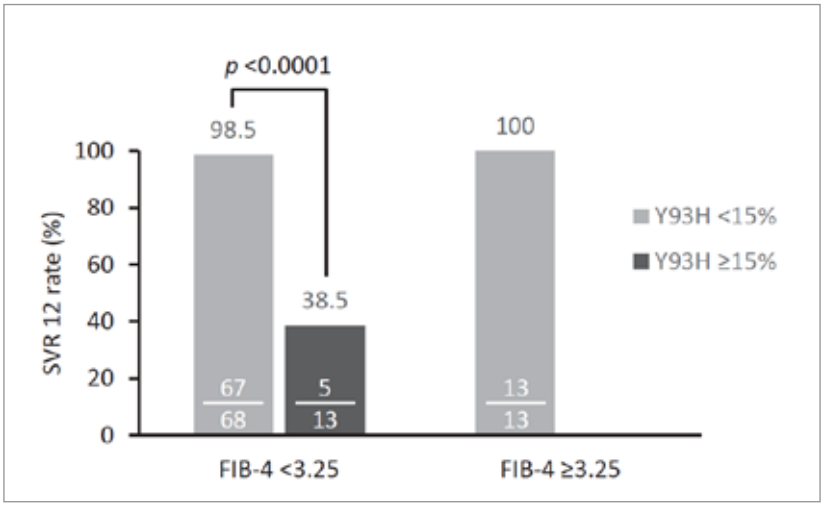
Нэг хүчин зүйлийн регрессийн шинжилгээгээр ахимаг нас, АЛАТ <40 U/mL, Y93H полиморфизмтай вирусын эзлэх хувь өндөр байх нь эмчилгээний үр дүнд сөргөөр нөлөөлж байна (Хүснэгт 2). ХСВ-ийн геномын NS5A генийн хэсэгт Y93H полиморфизмтай вирусын эзлэх хувь 1 log10 нэмэгдэхэд OR 15.43 дахин ихсэж (95% confidence interval 2.88–82.70) байгаа буюу Y93H полиморфизмтай вирусын эзлэх хувь өндөр байх нь эмчилгээ үр дүнгүй болгох эрсдэлийг үүсгэж байна.

Олон хүчин зүйлийн регрессийн шинжилгээгээр зөвхөн Y93H полиморфизмтай вирусын эзлэх хувь өндөр байх нь эмчилгээ үр дүнгүй болоход нөлөөлж байна (p <0.05), АЛАТ, нас зэрэг нь мааралгүй хүчин зүйлс хэмээн дүгнэв. Фиброзын зэргийн FIB-4 оноо болон Y93H полиморфизмтай вирусын эзлэх хувиар өвчтөнүүдийг бүлэглэн, бүлэг тус бүрт ВТХУ12 илэрсэн эсэхтэй харьцуулахад FIB-4 оноо болон ВТХУ12 хооронд статистикийн үнэн магадтай хамаарал илэрсэнгүй (Зураг 3).

Хүснэгт 2. Эмчилгээ үр дүнд нөлөөлж буй хүчин зүйлийн регрессийн анализын үр дүн

	Crude OR (95% CI)	p-value	Adjusted OR (95% CI)	p-утга
Эр (ref. эм)	2.84 (0.70–11.43)	0.143	0.45 (0.01–22.32)	0.690
Нас, нэг жилээр нэмэгдэхэд	1.10 (1.02–1.17)	0.008	1.26 (0.97–1.42)	0.080
АЛАТ хэмжээ ≧40 U/L (ref. <40)	0.46 (0.08–0.26)	0.001	0.25 (0.00–16.41)	0.26
Тромбоцит, k/μL нэмэгдэх тутам	1.00 (0.98–1.02)	0.955	–	–
FIB-4 ≧1.90 (ref. <1.90)	0.75 (0.19–2.97)	0.677	–	–
ХСВ вирусын ачаалал, 1 log10 IU/мл нэмэгдэх тутам	0.76 (0.41–1.43)	0.397	–	–
Y93H, 1 log10% нэмэгдэх тутам	15.43 (2.88–82.70)	<0.001	65.29 (1.82–2337.50)	0.022

Фиброзын зэрэг FIB-4 <3.25 өвчтөнд ВТХУ илэрсэн хувь 88.9%, FIB-4 ≥3.25 бүхий өвчтөнд 100% байлаа (p = 0.3519). Харин FIB-4 <3.25 бүхий өвчтөнд Y93H ≥ мутацитай вирусын эзлэх хувь >15% байгаа тохиолдолд <15% бүлэгтэй харьцуулахад ВТХУ12 илрэх хувь (p < 0.0001) бага байлаа (Зураг 3).



Зураг 3. ВТХУ12 илрэх хувийг FIB-4 оноо ба Y93H полиморфизмийн эзлэх хувьтай харьцуулсан дүн

Хэлцэмж: Монгол улс нь С вируст хепатит болон элэгний хорт хавдрын тархалт өндөртэй улсад хамаардаг [4,10] бөгөөд хепатитийн С вирусын халдварын эмчилгээнд LDV/SOF-ыг 2016 оноос хэрэглэж эхэлсэн. Судалгаанд хамрагдсан ХСВ-ийн архаг халдвартай, 1б генотиптэй 94 өвчтөний 90.4%-д ВТХУ илэрсэн нь өмнө хийгдсэн судалгааны үр дүн (>97%)-ээс харьцангуй бага байна.[11, 12, 13] LDV/SOF эмчилгээний үр дүнд вирусын идэвхжил, фиброзын зэрэг (FIB-4) зэрэг суурь үзүүлэлт нөлөөгүй, харин хепатитийн С вирусын геномын NS5A хэсэгт үүссэн Y93H полиморфизм нөлөөлж байв.

LDV/SOF эмчилгээний өмнө С вирусын геномын NS5A хэсэгт үүссэн Y93H полиморфизм илэрсэн (босго хэмжээ-15%) тохиолдолд ВТХУ илрэх хувь 38.5% байсан бол эмчилгээний өмнө уг мутаци илрээгүй бол ВТХУ 98.8% байна. ХСВ-ийн вирусын геномын NS5A хэсэгт үүсдэг тэсвэржилттэй холбоотой нуклеотидын солигдол олон төрөл байдгаас ХСВ-ийн 1б генотиптэй архаг халдвартай өвчтөнд Y93H полиморфизм хамгийн түгээмэл тохиолддог. Энэ мутаци нь LDV –ийн эмчилгээний идэвхийг in vitro орчинд >1000 дахин бууруулдаг.[6,14] Zeuzem нарын ХСВ-ийн 1б генотиптэй халдвартай 5000 өвчтөнд хийсэн эмнэлзүйн туршилт судалгаагаар LDV/SOF эмчилгээний үр дүнд NS5A генийн хэсэгт үүссэн Y93H болон бусад мутациуд сөргөөр нөлөөлдөг болох нь тогтоогдсон.[7] Мөн Япон улсад хийгдсэн Ogawa нарын судалгааны үр дүнгээр ХСВ-ийн 1б генотипийн халдвартай, циррозтой, эмчилгээний өмнө геномын NS5A хэсэгт мутаци илэрсэн өвчтөнд ВТХУ 91%-д илэрсэн байв.[15] Kozuka нарын судалгаагаар ХСВ-ийн 1б генотипийн халдвартай 313 өвчтөнд LDV/SOF эмчилгээ хийхэд эмчилгээний өмнө вирус Y93H эсвэл L31M мутацитай байх нь эмчилгээний үр дүнд сөргөөр нөлөөлж байсан төдийгүй үүссэн мутацийн тоо 3-аас олон тохиолдолд ВТХУ 71%-д илэрч байв.6 Mawatari нарын судалгаагаар ХСВ-ийн геномын NS5A болон NS5B хэсэгт аль алинд нь мутаци байгаа тохиолдолд LDV/SOF эмчилгээ үр дүнгүй болж байгааг тогтоосон байна.[17] Эдгээр судалгааны үр дүнг нэгтгэн дүгнэхэд ХСВ-ийн 1б генотипийн халдвартай өвчтөнд 1) элэгний хатууралтай, 2) өмнөх эмчилгээ үр дүнгүй болсон тохиолдолд, эсвэл 3) вируст олон тооны мутаци илэрсэн тохиолдолд вирусын геномын NS5A хэсэгт үүссэн Y93H полиморфизмийн сөрөг нөлөөг харгалзан үзэх зайлшгүй шаардлагатай юм.

Бидний судалгаанд хамрагдсан эмчилгээний үр дүн илрээгүй 9 өвчтөний 8-д хепатитийн С вирусын Y93H полиморфизмтай омгийн эзлэх хувь >90% байлаа. Харин Y93H полиморфизмтай омгийн эзлэх хувь <15% тохиолдолд ВТХУ 98.9% (80/81), Y93H полиморфизмтай омгийн эзлэх хувь 15–50% байхад ВТХУ 100% (2/2), ≥50% байхад болон ВТХУ 27.3% (3/11) тус тус илэрсэн байна. Эдгээрээс нэгтгэн дүгнэхэд ХСВ-ийн 1б генотипийн халдвартай өвчтөнд Y93H

полиморфизмтай вирусын омгийн эзлэх хувь бага байгаа тохиолдолд LDV/SOF эмчилгээний үр дүн илүү сайн байна.

Mizokami нар ХСВ-ийн 1б генотипийн халдвартай Япон өвчтөнд (эмчилгээнд хамрагдаж байсан ба хамрагдаж байгаагүй) LDV/SOF ± RBV эмчилгээг 12 долоо хоногийн турш хийсэн ба судалгаанд хамрагдсан 330 өвчтөнөөс 63 өвчтөн Y93H полиморфизмтай вирусын халдвар авсан (босго хэмжээ-1%) байв. Тэднээс 17 өвчтөнд Y93H полиморфизмтай вирусын эзлэх хувь <15%, 17 өвчтөнд 15–50%, 29 өвчтөнд ≥50% тус тус байжээ. Мөн 11 өвчтөнд Y93H полиморфизм бүхий вирусын халдвар >99% илэрсэн байна. Y93H полиморфизмтай вирусын халдвартай 63 өвчтөнөөс 33 нь LDV/SOF, 30 өвчтөн LDV/SOF + RBV эмчилгээ хийлгэсэн байна. Эмчилгээнд хамрагдсаны дараа нэг өвчтөнөөс бусдад нь ВТХУ илэрсэн байна. LDV/SOF+RBV эмчилгээ хийлгэсэн нэг өвчтөнд эмчилгээний өмнө Y93H полиморфизмтай вирусын эзлэх >99% байсан ба эмчилгээ үр дүнгүй болсон байна.18 Zeuzem нарын судалгаагаар ХСВ-ийн 1б генотипийн халдвартай, интерферон эмчилгээ хийлгэж байсан өвчтөнд эмийн тэсвэржилт үүсгэдэг мутаци бүхий вирусын омгийн эзлэх хувь 0–15% байхад ВТХУ 98%, 15–50% байхад 100%, ≥50% байхад 85% тус тус тодорхойлогдсон байна. Мөн LDV-ийн тэсвэржилт үүсгэдэг мутаци (нуклеотидын солигдол) нь эмийн эмчилгээнд >100 дахин тэсвэртэй болгодог болох нь тогтоогдсон.[17] Хепатитийн С вирусын халдвартай Япон хүмүүст вирусын мутаци эмчилгээний үр дүнд үзүүлэх нөлөө дэлхийн бусад орны судлаачдын үр дүнгээс харьцангуй ялгаатай байгаа нь өвчтөний генийн онцлог эмчилгээний үр дүнд мөн адил нөлөөтэй байж болохыг харуулж байна. Жишээлбэл Akamatsu нар, Peiffer KH нарын судалгаагаар IFNL4 rs12979860 CC генийн хэв шинж бүхий өвчтөн Y93H полиморфизмтай хепатитийн С вирусын халдвартай тохиолдолд виүсийн идэвхжил өндөртэй байдаг нь тогтоогдсон.[19,20] Эрүүл Монгол хүмүүсийн дунд IFNL4 генийн хэв шинжийн тархалт Азийн бусад орны судлаачдын үр дүнтэй адил байна.[21]

Мөн бидний судалгааны үр дүнг өмнө дурдсан судлаачдын үр дүнтэй харьцуулахад судалгаанд оролцогсод харьцангуй залуу төдийгүй элэгний хатууралгүй, өмнө интерферон эмчилгээ хийлгэж байгаагүй онцлогтой. Судалгаанд хамрагдсан хепатитийн С вирусын халдвартай өвчтөнд вирусын Y93H полиморфизмийн тархалтыг 15% болон түүнээс дээш босго хэмжээгээр тооцон үзэхэд өмнө дурдсан бусад орны судалгааны үр дүнтэй ижил төстэй байна.[7,8,22, 23, 24] Гэвч бидний судалгаагаар вирусын идэвхжил дунджаар 7.15 log10 IU/mL байгаа нь Zeuzem нар (6.4 log10 IU/mL) болон Mizokami нар (6.6 log10 IU/mL)-ын судалгаанаас бага зэрэг өндөр үзүүлэлт юм. Элэгний хатууралгүй, өмнө нь эмчилгээ хийлгэж байгаагүй 1б генотипийн хепатитийн С вирусын халдвартай өвчтөнд вирусын идэвхжил өндөр байх, геномын NS5A хэсгийн мутаци илрэх үед 8 долоо хоногийн эмчилгээний дэглэм үр дүн муутай байдаг.[6]

Судалгааны ажлын хязгаарлагдмал талыг дурдахад энэ судалгааны ажил нь 1б генотипийн хепатитийн С вирусын геномын NS5A хэсгийн мутацийн төрлүүдээс зөвхөн Y93H цэгэн мутацийг судалсан бөгөөд эмийн тэсвэржилтэд нөлөөлдөг геномын NS5B хэсгийн мутацийг тодорхойлоогүй юм. ХСВ-ийн 1б генотипийн халдвартай өвчтөнд вирусын геномын NS5A хэсэгт үүсдэг мутацийн олон төрлүүдээс Y93H полиморфизм хамгийн түгээмэл тохиолддог бөгөөд LDV/SOF эмчилгээний үр дүнд илэрхий нөлөөтэй16,17,28,34 Мөн элэгний хатуурал болон элэгний хавдар нь ВЭШҮЭ –ийн эмчилгээний үр дүнд сөргөөр нөлөөлдөг хүчин зүйл боловч оношилогооны арга болон тандалтын онцлогоос хамааран энэ судалгаанд дутуу дүгнэгдсэн байж болох юм.[25]

Дүгнэлт: Архаг С вирустхепатиттай, 1б генотиптэй Монгол өвчтөнүүдэд LDV/SOF эмчилгээний дараах ВТХУ- 90.4% (n=85) байна. Эмчилгээ үр дүнгүй өвчтөнүүдэд ХСВ-ийн геномын NS5A генийн хэсэгт Y93H полиморфизм 90%-иас дээш илэрч байна. ХСВ-ийн халдвартай, 1б генотип бүхий өвчтөнд LDV/SOF эмчилгээний дараах ВТХУ Y93H полиморфизм илрээгүй тохиолдолд өндөр байна. Харин Y93H полиморфизм бүхий омог давамгайлан илрэх үед эмчилгээний үр дүнд сөрөг нөлөөтэй байна.

Ном зүй

1. *Polaris Observatory HCV Collaborators. Global prevalence and genotype distribution of hepatitis C virus infection in 2015: a modelling study. Lancet Gastroenterol Hepatol 2017; 2: 161e76.*
2. *Kao JH. Hepatitis C virus infection in Taiwan: past, present, and future. J Formos Med Assoc 2016; 115:65e6.*
3. *Baatarkhuu O, Batzaya M, Brandon S, Estes C, Chiang B, Amarsanaa J, et al. Disease burden of chronic hepatitis C virus infection in Mongolia: potential impact of attaining World Health Organization (WHO) 2030 goals. In: Proceedings from the 24th annual meeting of the Korean Association for the Study of the Liver; June 14-June 16, 2018; Incheon, South Korea; 2018. Abstract PE-051.*
4. *Baatarkhuu O, Kim DY, Ahn SH, Nymadawa P, Dahgwahdorj Y, Shagdarsuren M, et al. Prevalence and genotype distribution of hepatitis C virus among apparently healthy individuals in Mongolia: a population-based nationwide study. Liver Int 2008; 28:1389e95.*
5. *Baatarkhuu O, Gerelchimeg T, Munkh-Orshikh D, Batsukh B, Sarangua G, Amarsanaa J. Epidemiology, genotype distribution, prognosis, control, and management of viral hepatitis B, C, D, and hepatocellular carcinoma in Mongolia. Euroasian J Hepato-Gastroenterol 2018; 8:57e62.*
6. *Sarrazin C, Dvory-Sobol H, Svarovskaia ES, Doehle BP, Pang PS, Chuang SM, et al. Prevalence of resistance-associated substitutions in HCV NS5A, NS5B, or NS3 and outcomes of treatment with ledipasvir and sofosbuvir. Gastroenterology 2016; 151:501e512 e1.*
7. *Zeuzem S, Mizokami M, Pianko S, Mangia A, Han KH, Martin R, et al. NS5A resistance-associated substitutions in patients with genotype 1 hepatitis C virus: prevalence and effect on treatment outcome. J Hepatol 2017; 66:910e8.*
8. *Vallet-Pichard A, Mallet V, Nalpas B, Verkarre V, Nalpas A, Dhalluin-Venier V, et al. FIB-4: an inexpensive and accurate marker of fibrosis in HCV infection. Comparison with liver biopsy and fibrotest. Hepatology 2007; 46:32e6.*
9. *Lin YY, Hsieh CH, Chen JH, Lu X, Kao JH, Chen PJ, et al. De novo assembly of highly polymorphic metagenomic data using in situ generated reference sequences and a novel BLAST-based assembly pipeline. BMC Bioinf 2017; 18:223.*
10. *International Agency for Research on Cancer. Estimated age-standardized incidence rates (World) in 2018, liver, both sexes, all ages. Available from: http://gco.iarc.fr/today/ online-analysis-map. [Accessed 3 September 2019].*
11. *Baatarkhuu O, Naranzul N, Enkhtuya D, Saruul B, Gantuul C, Gegeebadrakh B, et al. Efficacy and safety of ledipasvir/sofosbuvir in 5052 Mongolian patients infected with hepatitis C virus genotype 1: real-life data from multi-center prospective cohort. Hepatol Int 2019; 13(Suppl 1):S87.*
12. *Nemekhbaatar L, Oidov B, Palam L, Davaadorj T, Damba E, Jenskhan A, et al. Outcome of HCV treatment using ledipasvir/sofosbuvir combination in Mongolian population. Hepatol Int 2017; 11(Suppl 1):S159.*
13. *Naranzul N, Baatarkhuu O. Sofosbuvir and ledipasvir fixed-dose combination without ribavirin in treatment-naive patients with hepatitis C virus infection in Mongolia. Hepatol Int 2018; 12(Suppl 2):S497.*
14. *Cheng G, Tian Y, Doehle B, Peng B, Corsa A, Lee YJ, et al. In vitro antiviral activity and resistance profile characterization of the hepatitis C virus NS5A inhibitor ledipasvir. Antimicrob Agents Chemother 2016; 60:1847e53.*
15. *Ogawa E, Furusyo N, Nomura H, Dohmen K, Higashi N, Takahashi K, et al. NS5A resistance-associated variants undermine the effectiveness of ledipasvir and sofosbuvir for cirrhotic patients infected with HCV genotype 1b. J Gastroenterol 2017; 52:845e54.*
16. *Kozuka R, Hai H, Motoyama H, Hagihara A, Fujii H, UchidaKobayashi S, et al. The presence of multiple NS5A RASs is associated with the outcome of sofosbuvir and ledipasvir therapy in NS5A inhibitor-naive patients with chronic HCV genotype 1b infection in a real-world cohort. J Viral Hepat 2018; 25:535e42.*
17. *Mawatari S, Oda K, Tabu K, Ijuin S, Kumagai K, Fujisaki K, et al. The co-existence of NS5A and NS5B resistance-associated substitutions is associated with virologic failure in Hepatitis C Virus genotype 1 patients treated with sofosbuvir and ledipasvir. PLoS One 2018; 13:e0198642.*
18. *Mizokami M, Dvory-Sobol H, Izumi N, Nishiguchi S, Doehle B, Svarovskaia ES, et al. Resistance analyses of Japanese hepatitis C-infected patients receiving sofosbuvir or ledipasvir/sofosbuvir containing regimens in phase 3 studies. J Viral Hepat 2016; 23:780e8.*
19. *Akamatsu S, Hayes CN, Ochi H, Uchida T, Kan H, Murakami E, et al. Association between variants in the interferon lambda 4 locus and substitutions in the hepatitis C virus non-structural protein 5A. J Hepatol 2015; 63:554e63.*
20. *Peiffer KH, Sommer L, Susser S, Vermehren J, Herrmann E, Doring M, et al. Interferon lambda 4 genotypes and resistance-associated variants in patients infected with hepatitis C virus genotypes 1 and 3. Hepatology 2016; 63:63e73.*
21. *Malov IV, Malov SI, Savilov ED, Gantulga D, Stepanenko LA, Ogarkov OB, et al. Population polymorphism of IFNL3 and IFNL4 genes of type 3 interferon associated with spontaneous clearance of hepatitis C virus in representatives of Caucasian and Mongoloid races. Bull Exp Biol Med 2016; 161:404e7. 22. Wang Y, Rao HY, Xie XW, Wei L. Direct-acting antiviral agents resistance-associated polymorphisms in Chinese treatment-naive patients infected with genotype 1b hepatitis C virus. Chin Med J 2015; 128:2625e31.*
23. *Ikeda H, Watanabe T, Okuse C, Matsumoto N, Ishii T, Yamada N, et al. Impact of resistance-associated variant dominancy on treatment in patients with HCV genotype 1b receiving daclatasvir/asunaprevir. J Med Virol 2017; 89:99e105.*
24. *Huang CF, Hung CH, Cheng PN, Bair MJ, Huang YH, Kao JH, et al. An open-label, randomized, active control trial of 8 versus 12 weeks of elbasvir/grazoprevir for treatment-naive chronic hepatitis C genotype 1b patients with mild fibrosis (EGALITE): impact of baseline viral loads and NS5A resistanceassociated substitution. J Infect Dis 2019; 220:557e66.*
25. *Ji F, Yeo YH, Wei MT, Ogawa E, Enomoto M, Lee DH, et al. Sustained virologic response to direct-acting antiviral therapy in patients with chronic hepatitis C and hepatocellular carcinoma: a systematic review and meta-analysis. J Hepatol 2019; 71:473e85*

Resistance-associated substitution and LEDIPASVIR/SOFOSBUVIR therapy in Mongolian chronic hepatitis C patients

Baatarkhuu O[1,3,4], Amarsanaa J[2,4], Enkhtuya D[2,4], Naranzul N[1,4], Khosbayar T[5,6], Enkhtuvshin B[5], Shih-Jer Hsu[7], Tai-Chung Tseng[7,8], Jia-Horng Kao[7,8,9]

[1]Department of Infectious diseases, MNUMS, [2]"Happy Veritas" Liver Diagnostic Center, [3]MAMS, 4MASLD, [5]Department of Laboratory, MNUMS, [6]AClinical Molecular Diagnostic Center, MNUMS, [7]NTU, [8]Liver ResearchCenter, NTU, 9SOM-NTU

Email: baatarkhuu@mnums.edu.mn. Mobile: 99094624

Background: Mongolia has the highest prevalence of hepatitis C virus (HCV) infection worldwide. Ledipasvir/sofosbuvir (LDV/SOF) was introduced to Mongolia since 2016 for HCV eradication. It has been reported that HCV resistance-associated substitutions (RASs) would affect the effectiveness of LDV/SOF in western chronic hepatitis C (CHC) patients.

Aim: To investigate the effectiveness of LDV/SOF and the impact of RAS on the treatment outcome in Mongolian CHC patients

Materials and Methods: Patients with genotype (GT) 1b HCV infection were prospectively enrolled in Mongolia and treated with LDV/SOF for 12 weeks. The proportion of pre-treatment NS5A Y93H RAS in viral quasispecies was measured with next-generation sequencing. The endpoint of LDV/SOF effectiveness was sustained virological response at post-treatment week 12 (SVR12).

Results: A total of 94 CHC patients were evaluated. The baseline Y93H proportion was <1% in 74 patients, 1–15% in 7, 15–50% in 2, and ≥50% in 11. All patients completed 12-week LDV/SOF treatment and the SVR rate was 90.4%. The rate of failure to achieve SVR12 for patients with Y93H < 1%, 1–15%, and ≥15% were 0%, 14.3%, and 61.5%, respectively (p for trend = 0.001). In univariable analysis, older age, baseline alanine transaminase level <40 U/mL, and a higher proportion of Y93H were associated with treatment failure. In multivariable analysis, only a higher proportion of Y93H was associated with treatment failure (p = 0.022).

Conclusion: LDV/SOF therapy achieves a high SVR rate in Mongolian CHC GT1b patients without baseline Y93H RAS. A higher proportion of Y93H may severely undermine the effectiveness of LDV/SOF.

Keywords: Chronic hepatitis C, Resistance-associated substitution, Ledipasvir,Sofosbuvir, Mongolia