

В. М. Мицура¹, Е. В. Воропаев¹, С. В. Жаворонок²,
О. В. Осипкина¹, Д. В. Терешков³

РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ И ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ДВУХ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНА ИНТЕРЛЕЙКИНА-28В ДЛЯ ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОТИВОВИРУСНОГО ЛЕЧЕНИЯ ХРОНИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА С

*УО «Гомельский государственный медицинский университет»¹,
УО «Белорусский государственный медицинский университет»²,
УЗ «Гомельская областная инфекционная клиническая больница»³*

Обследовано 237 пациентов с хроническим гепатитом С (ХГС) (63% мужчины; 57% с генотипом 1 вируса) в Гомеле и Минске. Методом ПЦР определялись единичные нуклеотидные полиморфизмы (SNP) гена интерлейкина-28В (ИЛ-28В) 39743165Т>G (rs8099917) и SNP 39738787С>Т (rs12979860). «Благоприятные» аллельные варианты SNP гена ИЛ-28В у пациентов с ХГС встречались реже, чем в популяции Европейского региона. У пациентов с генотипом 1 вируса гепатита С чаще встречаются мутантные аллели в обеих SNP. Установлено значение этих SNP для прогноза эффективности противовирусного лечения у пациентов с 1 генотипом ВГС. У пациентов с 1 генотипом ВГС данные поли-

морфизмы эффективно прогнозируют ответ на терапию как для схемы ИФН+РБВ, так и для схемы ПЭГ-ИФН+РБВ.

Ключевые слова: полиморфизм гена ИЛ-28В, хронический гепатит С, интерферонотерапия.

**V. M. Mitsura, E. V. Voropaev, S. V. Zhavoronok,
O. V. Osipkina, D. V. Tereshkov**

**DISTRIBUTION AND PROGNOSTIC VALUE
OF TWO INTERLEUKIN-28B GENE POLYMORPHISMS
TO EVALUATE THE EFFECTIVENESS OF ANTIVIRAL
TREATMENT OF CHRONIC HEPATITIS C**

The study involved 237 patients with chronic hepatitis C (CHC) (63% men, 57% with hepatitis C virus (HCV) genotype 1) in Gomel and Minsk. Single nucleotide polymorphisms (SNP) of the gene IL28B 39743165T>G (rs8099917) and SNP 39738787C>T (rs12979860) were determined by polymerase chain reaction. «Favorable» SNP allelic variants of IL28B gene in patients with CHC were less common vs. European population. In patients with HCV genotype 1, mutant alleles in both SNPs were more common vs. those with other genotypes. Both SNPs are good predictors of antiviral treatment effectiveness in patients with genotype 1 HCV. In those with genotype 1 HCV the SNPs effectively predict response to therapy for both IFN + RBV schemes and schemes for PEG-IFN + RBV.

Key words: IL28B gene polymorphism, chronic hepatitis C, interferon therapy.

В большинстве развитых стран стандартом помощи пациентам с хроническим гепатитом С (ХГС) признана комбинированная терапия пегилированным интерфероном альфа и рибавирином (ПЭГ-ИФН+РБВ). Критерием ее эффективности считается достижение стойкого вирусологического ответа (СВО), т. е. негативный результат обследования на РНК вируса гепатита С (ВГС) спустя 6 месяцев после окончания терапии. Эффективность лечения в настоящее время достигает 54–56% в общем, составляя 40–50% для пациентов с генотипом 1 ВГС и 70–80% среди пациентов с генотипами 2/3 ВГС. Особое внимание уделяется прогнозированию результатов лечения у пациентов с генотипом 1 ВГС, т. к. они хуже отвечают на лечение [2]. Полиморфизм гена интерлейкина 28В (ИЛ-28В) активно изучается в последние годы. Было показано, что единичные нуклеотидные замены (SNP) в гене ИЛ-28В коррелировали с ответом на лечение пациентов препаратами ПЭГ-ИФН+РБВ. Наибольшую прогностическую ценность для пациентов с генотипом 1 ВГС имеют SNP: 39743165T>G (rs8099917) и 39738787C>T (rs12979860) [4, 6]. На их основе предложены подходы к персонализированной терапии [7]. У лиц молодого возраста с прогностически благоприятными вариантами полиморфизмов ИЛ-28В и отсутствием выраженного фиброза и стеатоза печени предполагается возможность успешного использования не только ПЭГ-ИФН, но и препаратов «стандартного» («короткого») интерферона (ИФН) и РБВ [1].

Цель исследования: определить распространенность и прогностическое значение двух полиморфизмов гена ИЛ-28В для оценки эффективности противовирусной терапии ХГС с учетом генотипа ВГС и вида препаратов ИФН.

Материалы и методы. Всего полиморфизмы гена ИЛ-28В изучены у 237 пациентов с ХГС (мужчины составляли 63,3%, средний возраст 41,7 лет, geno-

тип 1 ВГС был у 57%) из г. Гомеля и г. Минска. Результаты лечения препаратами ИФН и РБВ (СВО) оценивались у 119 пациентов (65% мужчин, средний возраст 41,1 лет, генотип 1 ВГС у 71,4%). Получали стандартный ИФН и РБВ (ИФН+РБВ) 61 пациент, ПЭГ-ИФН+РБВ – 58 пациентов.

Для выявления SNP 39743165T>G (rs8099917) и SNP 39738787C>T (rs12979860) гена ИЛ-28В (классификация NCBI) использовали метод ПЦР-ПДРФ (полиморфизм длин рестриционных фрагментов). В качестве материала для исследований использовалась ДНК, выделенная из лейкоцитов периферической крови. Детекцию продуктов ПЦР проводили с помощью гель-электрофореза, достоверность полученных данных подтверждена с помощью мелтинга (плавления) рестриционных фрагментов. Для сравнения частоты выбранных вариантов полиморфизма гена ИЛ-28В с популяцией Европейского региона были взяты частоты полиморфизмов из базы данных GenBank NCBI.

Результаты и обсуждение. Определена частота встречаемости SNP 39743165T>G гена ИЛ-28В у 237 пациентов, в сравнении с исследованием HarMap-CEU ss44192664 из базы данных GenBank, включавшим 226 лиц в Европейском регионе [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=8099917]. Результаты приведены в таблице 1.

Частота носительства мутантного аллеля G составила в нашем исследовании 25,5%, в популяции HarMap-CEU ss44192664 – 15%, различие статистически значимо ($\chi^2 = 15,7$, $p = 0,0001$). Это можно объяснить спецификой эксперимента – в нашем исследовании обследованы пациенты с ХГС, в то время как существуют данные о том, аллель G чаще встречается у пациентов с хронизацией инфекции по сравнению с реконвалесцентами [5].

Анализ SNP 39738787C>T проводился у 234 пациентов (в трех образцах наблюдали ингибирование

❑ Оригинальные научные публикации

ПЦР). В качестве группы сравнения была взята группа обследованных европейцев (642 человека) из исследования зарубежных авторов [3]. Результат представлен в таблице 2.

Частота аллеля С, который ассоциируется с более частым самопроизвольным выздоровлением от инфекции в группе сравнения из Европы составляет 72,3%, в нашем исследовании у пациентов с ХГС – 60,9% ($\chi^2 = 20,8$; $p < 0,0001$).

Сравнивались результаты исследования частот SNP 39743165T>G и 39738787C>T. Совпадение «благоприятных» генотипов ТТ и СС соответственно было у 79 чел. (33,8%), гетерозиготных вариантов ТG и СТ – у 82 чел. (35,0%). Остальные варианты встречались реже (для SNP 39743165T>G и 39738787C>T соответственно): ТТ+СТ у 16,7%, ТG+ТТ – у 5,6%, ТТ+ТТ – у 3,4%, GГ+ТТ – у 3,4%, GГ+СТ – у 1,7%, ТG+СС – у 0,4% пациентов.

Проанализированы генотипы вируса ВГС (1 или не 1) у лиц с различными вариантами гена ИЛ-28В у 221 пациента. Представляется интересным, что у лиц с различными генотипами вируса частота вариантов SNP гена ИЛ-28В различается, причем у пациентов с 1 генотипом ВГС чаще встречаются мутантные аллели SNP 39743165T>G, чем у лиц с иными генотипами (57,1% и 33,7%; $\chi^2 = 12,0$, $p = 0,0005$), как и для SNP 39738787C>T (76,8% и 53,2%; $\chi^2 = 13,5$, $p = 0,0002$).

На противовирусную терапию ответили 30,6% из 85 пациентов с 1 генотипом ВГС и 70,5% из 34 пациентов с генотипами ВГС 2/3. На терапию ИФН+РБВ

ответили 23,3% из 43 пациентов с 1 генотипом ВГС и 66,7% из 18 – с генотипами 2/3. В то же время на курс лечения ПЭГ-ИФН+РБВ ответили 38,1% из 42 лиц с генотипом 1 ВГС и 75% из 16 – с генотипами ВГС 2/3.

Проанализирована частота ответа на лечение у пациентов с ХГС с различными аллельными вариантами SNP гена ИЛ-28В в зависимости от генотипа ВГС: 1 генотип и 2/3 генотипы (таблица 3).

Частота ответа на лечение в группе пациентов с 1 генотипом ВГС имела четкую зависимость от аллельных вариантов SNP 39743165T>G. Она была выше у лиц с вариантом ТТ – 53,1%, ниже – при варианте ТG (19,6%, $p < 0,05$ в сравнении с вариантом ТТ) и не встречалась у лиц с вариантом GГ (0%). Шанс ответа при варианте ТТ был выше, чем при вариантах ТG и GГ (ОШ = 5,5; 95% ДИ 2,0–15,0). Среди пациентов с генотипами 2 или 3 статистически значимых различий не было выявлено (ОШ = 1,3; 95% ДИ 0,3–5,8).

Аллельные варианты SNP 39738787C>T также отражали эффективность лечения ХГС у лиц с 1 генотипом ВГС. Аллельный вариант СС соответствовал частоте СВО 84,6%, что в 4 раза выше, чем при гетерозиготном варианте СТ (21,8%), а при гомозиготном носительстве мутантного аллеля ТТ частота СВО равна 0%. Шанс ответа на лечение при варианте СС намного выше, чем при иных вариантах (ОШ = 26,7; 95% ДИ 6,1–116,6). Среди пациентов с генотипами 2 или 3 аллельные варианты SNP 39738787C>T видимо не влияли на эффективность лечения (ОШ = 1,8; 95% ДИ 0,4–8,1).

Таблица 1. Частоты генотипов и аллелей по SNP 39743165T>G гена ИЛ-28В в группе пациентов и контрольной группе из базы данных GenBank

Группа	Частоты генотипов(%, 95% ДИ)			Частоты аллелей (%, 95% ДИ)	
	ТТ	ТG	GГ	Т	G
Пациенты с ХГС (Гомель, Минск; n = 237)	54,0 (47,7–60,2)	40,9 (34,9–47,3)	5,1 (2,8–8,7)	74,5 (70,4–78,2)	25,5 (21,8–29,6)
Европейская популяция (n = 226)	72,6 (66,4–78,0)	24,8 (19,6–30,8)	2,7 (1,1–5,8)	85,0 (81,4–88,0)	15,0 (12,0–18,7)

Таблица 2. Частоты генотипов и аллелей по SNP 39738787C>T гена ИЛ-28В в группе пациентов и группе сравнения

Группа	Частоты генотипов (%, 95% ДИ)			Частоты аллелей (%, 95% ДИ)	
	СС	СТ	ТТ	С	Т
Пациенты с ХГС (n = 234)	34,2 (28,4–40,5)	53,4 (47,0–59,7)	12,4 (8,7–17,3)	60,9 (56,4–65,2)	39,1 (34,8–43,6)
Группа сравнения (n = 642)	52,4 (48,5–56,2)	39,7 (36,0–43,6)	7,9 (6,1–10,3)	72,3 (69,7–74,6)	27,7 (25,4–30,2)

Таблица 3. Частота ответа на противовирусное лечение у пациентов с ХГС с различными аллельными вариантами SNP гена ИЛ-28В в зависимости от генотипа ВГС

SNP генов ИЛ-28В	Варианты генотипов	Ответ, % (95% ДИ) пациенты с генотипом 1 ВГС (n = 85)	Ответ, % (95% ДИ) пациенты с генотипами 2/3 ВГС (n = 34)
39743165T>G (rs8099917)	ТТ	17/32 (53,1%; 36,5–69,1)	16/22 (72,7%; 51,6–87,1)
	ТG	9/46 (19,6%; 10,4–33,4)	7/11 (63,6%; 35,2–85,0)
	GГ	0/7 (0%; 0–40,4)	1/1 (100%; 16,8–100)
39738787C>T (rs12979860)	СС	14/16 (84,6%; 62,7–97,8)	11/14 (78,6%; 51,7–93,2)
	СТ	12/55 (21,8%; 12,8–34,5)	11/17 (64,7%; 41,2–82,8)
	ТТ	0/14 (0%; 0–25,2)	2/3 (66,7%; 20,2–94,4)

Таблица 4. Эффективность лечения пациентов с 1 генотипом ВГС с различными аллельными вариантами SNP гена ИЛ-28В в зависимости от вида применяемой терапии

SNP генов ИЛ-28В	Варианты генотипов	Ответ, %; 95% ДИ ИФН+РБВ (n = 43)	Ответ, %; 95% ДИ ПЭГ-ИФН+РБВ (n = 42)
39743165Т>G (rs8099917)	ТТ	8/15 (53,3%; 30,1–75,2)	9/17 (52,9%; 31,0–73,8)
	TG	2/22 (9,1%; 1,3–29,0)	7/24 (29,2%; 14,7–49,4)
	GG	0/6 (0%; 0–44,3)	0/1 (0%; 0–83,3)
39738787С>Т (rs12979860)	СС	7/9 (77,8%; 44,3–94,7)	7/7 (100%; 59,6–100)
	СТ	3/25 (12,0%; 3,3–30,8)	9/30 (30,0%; 16,5–48,0)
	ТТ	0/9 (0%; 0–34,5)	0/5 (0%; 0–48,9)

Учитывая, что при генотипах ВГС 2/3 полиморфизмы ИЛ-28В не отражают эффективность лечения, в дальнейшем нами сравнивалась эффективность лечения только пациентов с 1 генотипом ВГС в зависимости от вида применяемой терапии (ИФН+РБВ или ПЭГ-ИФН+РБВ, таблица 4).

В целом для пациентов с 1 генотипом ВГС терапия ПЭГ-ИФН+РБВ была более результативной (СВО 38,1%; 25,0–53,2), чем применение ИФН+РБВ (СВО 23,3%; 13,0–37,9). «Благоприятный» вариант полиморфизма 39743165Т>G соответствует частоте СВО более 50%, даже при использовании «стандартного» ИФН+РБВ. При гетерозиготном варианте TG эффективнее применять схемы на основе ПЭГ-ИФН+РБВ (СВО 29,2% против 9,1% в группе ИФН+РБВ). Шанс ответа на лечение был выше у пациентов с 1 генотипом ВГС и вариантом ТТ при использовании схемы ИФН+РБВ (ОШ = 12,0; 95% ДИ 2,4–61,1) и у пациентов, получавших ПЭГ-ИФН+РБВ, хотя у них он не достигал статистической значимости (ОШ = 2,9; 95% ДИ 0,8–10,5).

Полиморфизм 39738787С>Т также четко отражал результативность противовирусного лечения, причем значения СВО были выше у лиц, получавших ПЭГ-ИФН+РБВ. Максимальная эффективность схем терапии соответствовала аллельному варианту СС (77,8% для схемы ИФН+РБВ и 100% для схемы ПЭГ-ИФН+РБВ), при гетерозиготном варианте СТ – частота СВО в 3,3–6,5 раз ниже (12% и 30% соответственно). Шанс ответа на терапию был значительно выше у лиц с вариантом СС по сравнению с иными вариантами: как для схемы ИФН+РБВ (ОШ = 27,0; 95% ДИ 4,4–164,6), так и для схемы ПЭГ-ИФН+РБВ (ОШ = 41,8; 95% ДИ 2,2–805,2).

Была проанализирована эффективность терапии при сочетании различных аллельных вариантов SNP 39743165Т>G и SNP 39738787С>Т у лиц с 1 генотипом ВГС. Наилучшие результаты лечения (СВО 87,5%; 62,7–97,8) соответствовали сочетанию «благоприятных» вариантов ТТ и СС, соответственно. При сочетании гетерозиготных вариантов (TG и СТ) СВО составил 22,5% (95% ДИ 12,1–37,7). Сочетание ТТ (SNP 39743165Т>G) и СТ (SNP 39738787С>Т) приводит к СВО в 23,1% случаев (95% ДИ 7,5–50,9). Остальные варианты (соответственно ТТ+ТТ, TG+ТТ, GG+СТ, GG+ТТ) были малочисленны, СВО не был достигнут ни у одного из 14 пациентов.

Таким образом, среди пациентов с хронической ВГС-инфекцией частота носительства мутантных аллелей G (SNP 39743165Т>G) и T (SNP 39738787С>Т)

выше, чем в Европейской популяции, что подтверждает роль «благоприятных» аллелей в элиминации вируса при острой инфекции. У пациентов с 1 генотипом ВГС чаще встречаются мутантные аллели в исследованных SNP гена ИЛ-28В, что способствует уменьшению вероятности ответа на терапию. Установлено значение полиморфизмов гена ИЛ-28В: SNP 39743165Т>G (rs8099917) и SNP 39738787С>Т (rs12979860) для прогноза эффективности противовирусного лечения у пациентов с 1 генотипом ВГС. Обследование на эти два SNP гена ИЛ-28В можно рекомендовать перед началом лечения всем пациентам с генотипом 1 ВГС. Для лиц с генотипами 2 или 3 прогностическое значение данных полиморфизмов не установлено. У пациентов с 1 генотипом ВГС данные полиморфизмы эффективно прогнозируют ответ на терапию как для схемы ИФН+РБВ, так и для схемы ПЭГ-ИФН+РБВ. Поэтому при невозможности использования схем с ПЭГ-ИФН+РБВ у лиц с «благоприятными» аллельными вариантами полиморфизмов можно прогнозировать высокую эффективность лечения и «стандартными» интерферонами.

Литература

1. Влияние генетических полиморфизмов гена IL28B на эффективность противовирусной терапии хронического гепатита С стандартным интерфероном- α / А. В. Лапшин [и др.] // Росс. журн. гастроэнтерол. – 2013. – Т. 23, № 1. – С. 23–29.
2. EASL Clinical Practice Guidelines: Management of hepatitis C virus infection // J. Hepatol. – 2011. – Vol. 55. – P. 245–264.
3. Genetic variation in IL28B and spontaneous clearance of hepatitis C virus / D. L. Thomas [et al.] // Nature. – 2009. – Vol. 461. – P. 798–801.
4. Genetic variation in IL28B predicts hepatitis C treatment-induced viral clearance / D. Ge [et al.] // Nature. – 2009. – Vol. 461. – P. 399–401.
5. Hepatitis, C pharmacogenetics: State of the art in / N. H. Afdhal [et al.] // Hepatology. – 2011. – Vol. 53, № 1. – P. 336–345.
6. Interleukin-28B polymorphism improves viral kinetics and is the strongest pretreatment predictor of sustained virologic response in genotype 1 hepatitis C virus / A. J. Thompson [et al.] // Gastroenterology. – 2010. – Vol. 139. – P. 120–129.
7. Slev, P. Host genomics and HCV personalized medicine / P. Slev // Ann. Clin. Lab. Sci. – 2012. – Vol. 42, № 4. – P. 363–369.

Поступила 20.06.2014