



**СПОСОБ ПРОГНОЗА ЭФФЕКТИВНОСТИ  
ИНТЕРФЕРОНОТЕРАПИИ ХРОНИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА С НА  
ОСНОВЕ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА ИЛ-28В**

(инструкция по применению)

**УЧРЕЖДЕНИЕ-РАЗРАБОТЧИК:**

Учреждение образования «Гомельский государственный медицинский университет», учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет», учреждение «Гомельская областная инфекционная клиническая больница»

**АВТОРЫ:**

к.м.н., доцент Мицура В.М.,

к.м.н. Воропаев Е.В.,

д.м.н., профессор Жаворонок С.В.,

Осипкина О.В.,

Терешков Д.В.

Гомель, Минск 2013

В настоящей инструкции по применению изложен метод прогнозирования эффективности интерферонотерапии хронического гепатита С, основанный на определении полиморфизма гена интерлейкина-28В. Настоящая инструкция по применению предназначена для врачей инфекционистов, врачей лабораторной диагностики, иных врачей-специалистов, оказывающих медицинскую помощь пациентам с хроническим гепатитом С.

### **Перечень необходимого оборудования, реактивов, препаратов, изделий медицинской техники и др.**

Определение полиморфизма гена интерлейкина-28В (ИЛ-28В) в зонах rs12979860 и rs8099917 проводится с помощью метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени (Real Time ПЦР), по методике ПЦР ПДРФ (полиморфизм длин рестрикционных фрагментов) или с помощью коммерческих наборов.

### **Показания к применению:**

Обследование пациентов с хроническим гепатитом С в инфекционном стационаре, показано всем пациентам с хроническим гепатитом С, (особенно с 1 генотипом вируса гепатита С) перед назначением противовирусного лечения или в первые 12 недель терапии.

### **Противопоказания**

отсутствуют.

### **Описание технологии используемого метода**

Определение полиморфизма гена ИЛ-28В в зонах rs12979860 и rs8099917 проводится с помощью метода ПЦР.

Аллельные варианты СС (rs12979860) и ТТ (rs8099917) расцениваются как прогностически благоприятные, их наличие соответствует высокой частоте устойчивого вирусологического ответа: 61% и 44% соответственно, для пациентов с генотипом 1 – 50% и 29% соответственно. Гетерозиготные варианты СТ (rs12979860) и ТГ (rs8099917) прогностически менее благоприятные, частота вирусологического ответа: 20% и 19%, для пациентов с генотипом 1 – по 7% соответственно. Прогностически неблагоприятными считаются

гомозиготные варианты TT (rs12979860) и GG (rs8099917), частота вирусологического ответа составляет 0% вне зависимости от генотипа вируса.

Отношение шансов (OR, 95% ДИ) ответа на терапию у пациентов с «благоприятным» генотипом CC в зоне rs12979860 по сравнению с генотипами CT или TT, OR = 10,2 (2,5–42,1). Для генотипа TT в зоне rs8099917 по сравнению с генотипами TG или GG, OR = 4,8 (1,1 – 20,2). Определение SNP rs12979860 имеет несколько большую прогностическую ценность по сравнению с rs8099917.

### **Перечень возможных осложнений или ошибок при выполнении и пути их устранения**

#### **Возможные ошибки при проведении ПЦР**

Использование методики ПЦР подразумевает строгое следование всем правилам по организации и проведению исследования в ПЦР-лаборатории, несоблюдение которых приводит к возникновению ошибок, которые становятся причиной ложноположительных и ложноотрицательных результатов. Особенно опасны ошибки, связанные с нарушением правил забора, хранения и транспортировки проб, контроль которых невозможно осуществить во время проведения ПЦР-анализа. Не рекомендуется в качестве антикоагулянта при заборе крови использовать гепарин, т.к. он ингибирует ПЦР. Хранение образцов крови производится в холодильной камере при 2-4<sup>0</sup>С не более 1 недели.

# **ОБОСНОВАНИЕ ЦЕЛЕСООБРАЗНОСТИ ПРАКТИЧЕСКОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СПОСОБА ПРОГНОЗА ЭФФЕКТИВНОСТИ ИНТЕРФЕРОНОТЕРАПИИ ХРОНИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА С НА ОСНОВЕ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНА ИНТЕРЛЕЙКИНА-28В**

Инфекция вирусом гепатита С (ВГС) представляет собой важную проблему современности. Распространенность ВГС-инфекции оценивается примерно в 3% мировой популяции, в Беларуси от 1% до 2% населения инфицировано этим вирусом. Вследствие высокого риска хронизации (60-80%) у большинства пациентов болезнь прогрессирует, зачастую приводя к циррозу печени и гепатоцеллюлярной карциноме.

Комбинированная терапия пегилированным интерфероном альфа и рибавирином (PegIFN/RBV) является во многих странах стандартом помощи пациентам с хроническим гепатитом С (ХГС) [1,2]. Результативность лечения оценивается как достижение стойкого вирусологического ответа (СВО), который определяется как отрицательный результат при исследовании РНК вируса методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) через 6 месяцев после завершения лечения. Ведущим предиктором эффективности лечения считается генотип вируса. Эффективность лечения в настоящее время достигает 54-56% в общем [1], составляя для пациентов с генотипом 1 ВГС 40–50% и 70-80% среди пациентов с генотипами 2/3 ВГС [3]. По нашим данным, среди пациентов с ХГС в Гомельской области преобладают лица с генотипом 1 ВГС (54%), генотипы 2 или 3 определены у 44%, у оставшихся определялись различные сочетания генотипов [4]. Предпринимаются попытки индивидуализировать продолжительность лечения, основываясь на генотипе вируса и вирусологическом ответе в

процессе лечения [1]. Особое внимание уделяется прогнозированию результатов лечения у пациентов с генотипом 1 ВГС, т.к. они хуже отвечают на PegIFN/RBV.

Как показали исследования последних лет, определенное влияние на результат лечения, а также возможность самостоятельного выздоровления при заражении ВГС оказывают генетические факторы, в частности, полиморфизм гена интерлейкина 28В (ИЛ-28В). Интерлейкин 28В является представителем интерферонов-лямбда, или интерферонов 3 типа, обладающих сильным противовирусным действием в отношении ВГС. Недавние исследования генома человека продемонстрировали убедительные доказательства, что единичные нуклеотидные замены (SNP) в гене ИЛ-28В значительно коррелировали с ответом на лечение пациентов препаратами PegIFN/RBV [5, 6,7,8,9,10]. Два из этих SNP имеют более высокую прогностическую ценность благоприятного ответа на лечение у ВГС-инфицированных пациентов с генотипом 1 ВГС: rs12979860 [7, 10] и rs8099917 [6, 8]. Однако окончательно не определен тип SNP, наиболее влияющий на СВО.

Хотя прочная ассоциация между полиморфизмом ИЛ-28В и СВО была подтверждена, основные механизмы все еще неясны. Было найдено, что генотип ИЛ-28В связан с дифференцированной экспрессией внутрипеченочных стимулируемых интерфероном генов у больных с ХГС [11]. Кроме того, сывороточные уровни ИЛ-28А/В были значительно выше у больных ХГС с «благоприятным» вариантом аллеля ИЛ-28В [12]. Все эти признаки указывают на прямой противовирусный и иммуноопосредованный эффекты ИЛ-28В, которые могут зависеть от этих полиморфизмов.

Выявлено, что частота «благоприятного» аллеля С в участке rs12979860 гена ИЛ-28В была самой высокой у азиатов и самой низкой у афроамериканцев, с чем и связывают более низкую эффективность интерферонотерапии у последних, т.к. частота распространенности СС генотипа rs12979860 коррелирует с вероятностью достижения СВО в каждой популяции [7]. Аллель С в rs12979860 ассоциируется с повышенной вирусной нагрузкой [7], со спонтанным клиренсом ВГС [10] и с вирусологическим ответом во время лечения [9, 13]. В работе Chun-Yen Lin и соавт. (2011) изучено 10 различных полиморфизмов (SNP) гена ИЛ-28В [14]. Демонстрируется, что rs12979860 - самый сильный предиктор SNP для вирусологического ответа у больных ХГС с генотипом 1 ВГС при лечении PegIFN/RBV. Кроме того, С аллель rs12979860 при лечении PegIFN/RBV является предиктором быстрого снижения вирусной нагрузки и достижения быстрого вирусологического ответа на 4 неделях лечения [14].

Другим наиболее часто изучаемым вариантом полиморфизма был rs8099917, отражающий СВО у пациентов с генотипом 1 ВГС [6,8,10]. Показано, что гомозиготное носительство GG в rs8099917 ассоциировалось с более низкой экспрессией мРНК ИЛ-28 в мононуклеарных клетках периферической крови (МПК) [8], хотя другие исследователи не выявили различий в экспрессии мРНК ИЛ-28В после стратификации относительно rs12979860 генотипа в МПК [7]. В работе H.Abe и соавт. (2011) показан парадоксально более низкий уровень экспрессии ИЛ-28В в клетках печени у пациентов с генотипом rs8099917 ТТ по сравнению с генотипами TG или GG, в МПК такой закономерности выявлено не было. У пациентов, ответивших на комбинированную терапию (PegIFN/RBV) выявлен более низкий уровень мРНК ИЛ-28В [15].

Начиная с открытия прочной ассоциации между SNP в зоне ИЛ-28В и способом лечения ХГС, был предложен персонифицированный подход, основанный на этих SNP. По мнению Afdhal N.H. и др. [16], хотя генотипирование ИЛ-28В является очень хорошим предиктором СВО у ВГС инфицированных пациентов с генотипом 1, его способность прогнозирования у каждого отдельного пациента является совсем не абсолютной. Поэтому, генотипирование ИЛ-28В не должно быть единственным фактором при выборе стратегии и продолжительности лечения. Пока еще недостаточно данных, чтобы разработать клинические рекомендации, основанные на этих SNP [16].

Необходимы проспективные контролируемые исследования, чтобы оценить влияние различных SNPs гена ИЛ-28В на исход лечения пациентов с ХГС. Предполагается, что генотипирование rs12979860 и rs8099917 перед началом противовирусного лечения позволит выбрать оптимальную продолжительность лечения у пациентов с 1 генотипом ВГС.

### **Литература**

1. Diagnosis, management and treatment of hepatitis C: An update / G.G. Marc [et al.] // *Hepatology*. - 2009. - V. 49. - P. 1335–1374.
2. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection / M.W. Fried [et al.] // *N Engl J Med*. - 2002. - V.347. -P. 975–982.
3. Pawlotsky, J.-M. Therapy of hepatitis C: From empiricism to eradication // *Hepatology*. – 2006. – Vol. 43, Issue S1. – P. S207–S220.
4. Генотипы и нуклеотидная последовательность локуса NS3 вируса гепатита С, их влияние на эффективность интерферонотерапии /В.М. Мицура, Е.В.Воропаев, О.Ю.Баранов, С.В.Жаворонок // *ARS medica* – 2009. — № 8 (18). — С. 68—74.

5. Genetic variation in IL28B and spontaneous clearance of hepatitis C virus / D.L. Thomas [et al.] // *Nature*. - 2009. - V. 461. - P. 798–801.
6. Genetic Variation in IL28B Is Associated With Chronic Hepatitis C and Treatment Failure: A Genome-Wide Association Study / A. Rauch [et al.] // *Gastroenterology*. -2010. - V. 138. - P. 1338–1345.
7. Genetic variation in IL28B predicts hepatitis C treatment-induced viral clearance / D. Ge, J.Fellay [et al.] // *Nature*. - 2009. - V. 461. - P. 399–401.
8. Genome-wide association of IL28B with response to pegylated interferon-[alpha] and ribavirin therapy for chronic hepatitis C / Y. Tanaka [et al.] // *Nat Genet*. - 2009. - V. 41. - P. 1105–1109.
9. 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. - V. 139. - P. 120–129 e118.
10. Potential role for Interleukin-28B genotype in treatment decision-making in recent hepatitis C virus infection / J.Grebely [et al.] // *Hepatology* - 2010. - V. 52. - P. 1216–1224.
11. IL28B genotype is associated with differential expression of intrahepatic interferon-stimulated genes in patients with chronic hepatitis C / T.J.Urban [et al.] // *Hepatology*. - 2010. - V. 52. - P. 1888–1896.
12. Interferon-lambda serum levels in hepatitis C / B. Langhans [et al.] // *Journal of Hepatology*. - 2011. - V. 54(5). - P. 859-65.
13. IL28B polymorphism is associated with both side effects and clearance of hepatitis C during interferon-alpha therapy / F.E. Lotrich [et al.] // *Journal of Interferon & Cytokine Research*. – 2011. – Vol. 31, No 3. – P.331-336.
14. IL28B SNP rs12979860 Is a Critical Predictor for On-Treatment and Sustained Virologic Response in Patients with Hepatitis C Virus Genotype-

- 1 Infection / Chun-Yen Lin [et al.] // PLoS ONE. –2011. – Vol. 6(3): e18322.
15. IL28B variation affects expression of interferon stimulated genes and Peg-Interferon and ribavirin therapy / H.Abe [et al.] // Journal of Hepatology. – 2011. – Vol. 54, N 6. – P.1094–1101.
16. Hepatitis C pharmacogenetics: State of the art in 2010 / N.H. Afdhal [et al.] // Hepatology. – 2011. – Vol. 53. – P. 336–345.