

скрининга НС тест криогемолиза и ЕМА, применяемые вместе. Показатели теста ЕМА коррелировали также с тяжестью болезни [5]. В диагностике НС также могут использоваться индекс ретикулоциты/незрелые формы эритроцитов, количество эритроцитов-микроцитов и индекс микроциты/гипохромные эритроциты. Комбинация этих тестов имеет прогностическую ценность положительного результата 75 % и прогностическую ценность отрицательного результата 100 % [4].

Хотя возможно определить генетический базис НС в каждой данной семье (то есть установить дефектный белок), это обычно не является необходимым в клиническом ведении. Генетический анализ — это научное исследование и может быть полезен в очень необычных случаях. К перспективным направлениям изучения НС относятся: определение молекулярной основы генетических дефектов заболевания; разработка точных, чувствительных и специфичных диагностических лабораторных тестов для выявления заболевания.

Заключение

Таким образом, в результате анализа данных исследования установлено, что у детей Гомельской области с наследственными гемолитическими анемиями преобладает НС (61,5 %). Частота встречаемости НС в Гомельской области Республики Беларусь составляет 1 случай на 11468 детей до 18 лет, что в 2,3 раза ниже ожидаемой частоты. Это может быть обусловлено двумя причинами: во-первых, легкие формы этой патологии могут долгое время не выявляться; во-вторых, у 20–25 % пациентов диагностический тест на осмотическую резистентность может быть отрицательным. В таких случаях следует обращать внимание на семейный анамнез и наличие ретикулоцитоза при исследовании показателей периферической крови. В последние годы в мире разработаны новые методы диагностики НС, которые необходимо внедрять и в нашей республике.

ЛИТЕРАТУРА

1. Перепись населения – 2009. Численность и размещение населения Республики Беларусь / Национальный статистический комитет Республики Беларусь http://belstat.gov.by/homep/gu/perepic/2009/vihod_tables/2.1-3.pdf (дата доступа 18.01.2011).
2. Практическое руководство по детским болезням. Т.IV. Гематология/онкология детского возраста / под ред. А. Г. Румянцев, Е. В. Самочатовой. — М.: ИД МЕДПРАКТИКА-М, 2004. — 792 с.
3. Современные представления о наследственном микросфероцитозе / А. Г. Максимов [и др.] // Вестник гематологии. — 2009. — Т. V, № 3. — С. 36–44.
4. Additional erythrocytic and reticulocytic parameters helpful for diagnosis of hereditary spherocytosis: results of a multicentre study / F. Mullier [et al.] // Ann Hematol. — 2011. — Vol. 90. — P. 759–768.
5. A prospective study to assess the predictive value for hereditary spherocytosis using five laboratory tests (cryohemolysis test, eosin-5'-maleimide flow cytometry, osmotic fragility test, autohemolysis test, and SDS-PAGE) on 50 hereditary spherocytosis families in Argentina / R. L. Crisp [et al.] // Ann. Hematol. — 2011. — Vol. 90. — P. 625–634.

УДК 616.36-002.2+616.36-004

ЗНАЧЕНИЕ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНА IL-28В ДЛЯ ПРОГНОЗА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОТИВОВИРУСНОГО ЛЕЧЕНИЯ ХРОНИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА С

Мицура В. М., Воропаев Е. В., Осипкина О. В., Ковалева Т. А.

Учреждение образования

«Гомельский государственный медицинский университет»

г. Гомель, Республика Беларусь

Учреждение образования

«Витебская областная инфекционная клиническая больница»

г. Витебск, Республика Беларусь

Введение

Комбинированная терапия пегилированным интерфероном альфа и рибавирином (PegIFN/RBV) является во многих странах стандартом помощи пациентам с хроническим гепатитом С (ХГС). Текущая стратегия лечения ХГС состоит в том, чтобы индивидуализи-

ровать продолжительность лечения, основываясь на генотипе и вирусологическом ответе в процессе лечения. Эффективность противовирусного лечения у пациентов с 1 генотипом вируса гепатита С в 1,5–2 раза ниже, чем у пациентов с генотипами HCV 2 или 3.

Генетические факторы организма человека влияют на эффективность лечения ХГС, так как имеются этнические различия в ответе на лечение. Недавние исследования генома человека исследовали эту проблему и продемонстрировали убедительные доказательства, что единичные нуклеотидные полиморфизмы (SNP) в гене интерлейкина-28В (IL28В) значительно коррелировали со СВО, при лечении пациентов PegIFN/RBV [1, 4]. Три из этих SNP имеют более высокую прогностическую ценность благоприятного ответа на лечение у HCV-инфицированных пациентов с 1 генотипом HCV: rs12979860, rs12980275 и rs8099917 [3, 5]. Однако то, какой SNP больше всего влиял бы на СВО, все еще окончательно не определено.

Хотя прочная ассоциация между полиморфизмом IL28В и СВО была подтверждена, основные механизмы все еще неясны. Было найдено, что генотип IL28В связан с дифференцированной экспрессией внутрипеченочных стимулируемых интерфероном генов у больных с ХГС. Кроме того, сывороточные уровни IL-28А/В были значительно выше у больных ХГС с «благоприятным» аллелем генотипа IL28В. Все эти признаки указывают на прямой антивирусный и иммуно-опосредованный эффекты IL28В, которые могут зависеть от этих полиморфизмов [2].

Начиная с открытия прочной ассоциации между SNP в зоне IL28В и способом лечения ХГС, был предложен персонифицированный подход, основанный на этих SNP [2]. Предполагается, что генотипирование rs12979860 и, возможно, других полиморфизмов — подходящая цель для генетического тестирования перед лечением для пациентов с хронической инфекцией HCV генотипа 1. Проспективные контролируемые исследования необходимы, чтобы оценить влияние различных SNPs гена IL28В на исход лечения пациентов с ХГС.

Материалы и методы

С целью изучения распространенности и клинического значения мутаций в гене IL-28b было обследовано 86 пациентов с хронической HCV-инфекцией. Из них было 56 (65,1 %) мужчин и 30 (34,9 %) женщин в возрасте от 16 до 75 лет (средний возраст $35,6 \pm 1,7$ лет). У 17 (19,8 %) пациентов имелись признаки цирроза печени.

Для выявления точечных мутаций SNP 39743165T > G (rs8099917) и SNP 39738787C > T (rs12979860) гена IL-28В (классификация NCBI) использовали метод ПЦР-ПДРФ с применением технологии миссматч-праймеров. Используемые праймеры были синтезированы по нашему заказу фирмой «Primetech» (Беларусь). В качестве материала для исследования использовалась ДНК, выделенная из лейкоцитов периферической крови. Для расчета 95 % доверительного интервала (95 % ДИ) в оценке долей использован откорректированный метод Вальда.

Результаты и их обсуждение

С целью анализа частоты встречаемости SNP 39743165T > G по классификации NCBI rs8099917 гена IL-28b обследовано 86 больных ХГС. Генотип ТТ был выявлен у 49 пациентов, что составило 57 %; генотип ТG — у 31 (36 %), и генотип GG — у 6 пациентов (7 %). Для сравнения частоты носительства мутантного аллеля с литературными данными нами проанализирована база данных GenBank, найдено исследование 226 лиц в Европейском регионе. Генотип ТТ выявлен у 72,6 %, ТG — у 24,8 %, GG — у 2,7 %. Результат представлен в таблице 1.

Частота носительства мутантного аллеля (гомозиготное GG и гетерозиготное носительство ТG) составила в нашем исследовании 43 %, по данным GenBank — 27,5 %, различие статистически значимо ($\chi^2 = 6,99$, $p = 0,008$).

Таблица 1 — Частоты генотипов и аллелей по SNP 39743165T > G (rs8099917) гена IL-28b в группе пациентов и группе из базы данных GenBank

Группа	Общее число обследованных	Частоты генотипов (%)			Частоты аллелей (%)	
		T/T	T/G	G/G	T	G
Группа пациентов	86	57	36	7	75	25
Группа из базы данных GenBank	226	72,6	24,8	2,7	85	15

Это можно объяснить спецификой исследованных пациентов — в нашем исследовании обследованы пациенты с хроническими формами HCV-инфекции, в то время как существуют данные о том, что SNP rs8099917 аллель G чаще встречается у пациентов с хронизацией инфекции по сравнению с реконвалесцентами [1, 4].

Анализ SNP 39738787C>T (rs12979860) проводился у 84 пациентов (в двух образцах наблюдали ингибирование ПЦР). Генотип CC был выявлен у 34 пациентов, что составило 40,5 %; генотип CT — у 38 (45,2 %), и генотип TT — у 12 (14,3 %) пациентов. Так как в GenBank отсутствует информация о частоте генотипов в европейской популяции, то в качестве группы сравнения была взята группа обследованных европейцев (642 человека) из исследования зарубежных коллег [1]. Результат представлен в таблице 2.

Таблица 2 — Частоты генотипов и аллелей по SNP 39738787C > T (rs12979860) гена IL-28b в группе пациентов и группе сравнения

Группа	Общее число обследованных	Частоты генотипов (%)			Частоты аллелей (%)	
		C/C	C/T	T/T	C	T
Группа пациентов	84	40,5	45,2	14,3	63,1	36,9
Группа сравнения	642	52,4	39,7	7,9	72,3	27,7

Частота аллеля C, который ассоциируется с более частым спонтанным клиренсом HCV (самопроизвольным выздоровлением от инфекции) в России составляет 61,4–64,1 % [1]. В группе сравнения — 72,3 %. В нашем исследовании — 63,1 %.

Проанализированы генотипы вируса HCV (1 или не 1) у лиц с различными вариантами гена IL-28b вне зависимости от назначенной терапии и ее эффективности у 73 пациентов. Представляется интересным, что у лиц с различными генотипами вируса частота различных вариантов SNP гена IL-28b различается, причем у пациентов с 1 генотипом HCV статистически чаще встречаются мутантные аллели в SNP rs8099917 ($\chi^2 = 3,90$, $p = 0,048$) и rs12979860 ($\chi^2 = 6,79$, $p = 0,009$).

Для исследования роли вариантов SNP гена IL-28b в эффективности противовирусного лечения ХГС обследовано 46 пациентов, которые получали препараты интерферона и рибавирина. Из них генотип 1 HCV имели 29 человек (63,0 %), генотип 2 или 3 — 17 (37,0 %) человек. Проанализированы результаты лечения препаратами интерферона (вирусологический ответ в конце курса лечения или стойкий вирусологический ответ, СВО) у 37 пациентов с ХГС, остальные продолжают лечение. На терапию ответили 15 пациентов, у 11 из которых был выявлен «благоприятный» вариант гена IL-28b в зоне rs8099917 (TT), 10 из которых имели также «благоприятный» вариант CC и 1 — CT в зоне rs12979860. У 4 пациентов был генотип GT в зоне rs8099917 и вариант CT в зоне rs12979860. Не ответили на терапию 22 пациента, из которых 10 в зоне rs8099917 имели генотип TT, 9 — генотип GT, 3 — генотип GG. В зоне rs12979860 гена IL-28b эти пациенты имели вариант CC в 4 случаях, CT — в 12 и TT — в 6 (таблица 3).

При сравнении частот «благоприятных» гомозиготных носительств TT и CC у ответивших и не ответивших на интерферонотерапию выявлено, что у ответивших на те-

рапию значимо чаще встречается генотип СС в зоне rs12979860 (66,7 %), чем у неответивших (18,2 %, $\chi^2 = 8,91$, $p = 0,003$).

Таблица 3 — Частота встречаемости различных вариантов гена IL-28b в зонах rs12979860 и rs8099917 у лиц, ответивших и не ответивших на лечение

Ответ на лечение	rs8099917 (n = 37)			rs12979860 (n = 37)			Всего
	ТТ	TG	GG	CC	CT	TT	
Ответ (всего/с генотипом HCV 1)	11 / 4	4 / 2	0	10 / 3	5 / 3	0	15/6
Неответ (всего/с генотипом HCV 1)	10 / 7	9 / 9	3 / 3	5 / 4	12 / 10	5 / 5	22/19

Частота генотипа ТТ в зоне rs8099917 была несколько выше у ответивших (73,3 %), чем у неответивших (44,4 %, статистически не значимо ($\chi^2 = 2,82$, $p = 0,093$). Ни у одного из ответивших на терапию пациентов не встречались гомозиготные варианты GG в зоне rs8099917 или ТТ в зоне rs12979860. Среди лиц, не ответивших на терапию, преобладали пациенты с генотипом 1 HCV (86,4 %), а среди ответивших их доля составила 40 % ($\chi^2 = 8,75$, $p = 0,003$).

Рассчитывалось отношение шансов (OR, 95 % ДИ) ответа на терапию у пациентов с «благоприятным» генотипом ТТ в зоне rs8099917 по сравнению с генотипами TG или GG. OR = 3,3 (0,80–13,64). Для генотипа СС в зоне rs12979860 по сравнению с генотипами СТ или ТТ, OR = 6,8 (1,57–29,43). Это доказывает большую прогностическую ценность определения SNP rs12979860 по сравнению с rs8099917.

Сравнение уровней АЛТ в группах с различными генотипами rs8099917 с помощью метода Манна-Уитни не выявило значимых различий между группами ($p = 0,309$). Выявлены более высокие значения АЛТ (Ме 110 Е/л, 25–75 % 69–159) в группе с генотипом СС в зоне rs12979860 по сравнению с генотипами СТ и ТТ (Ме 69,8 Е/л, 25–75 % 54,1–111), статистически значимые (тест Манна-Уитни $p = 0,045$). Возможно, это свидетельствует о более эффективном иммунном ответе у лиц с генотипом СС, сопровождающемся большей выраженностью синдрома цитолиза. Вирусная нагрузка HCV в этих группах значимо не различалась ($p = 0,703$).

Заключение

Впервые в популяции пациентов с хронической HCV-инфекцией в Гомельском регионе установлено, что гомозиготное носительство мутантного аллеля в зоне rs8099917 встречается у 7 %, гетерозиготное — у 36 %; в зоне rs12979860 — 14,3 и 45,2 % соответственно. Это выше, чем в общей популяции Европейского региона, что подтверждает роль «благоприятных» аллелей в элиминации вируса при острой инфекции. У пациентов с 1 генотипом HCV чаще встречаются мутантные аллели в SNP rs8099917 ($\chi^2 = 3,90$, $p = 0,048$) и rs12979860 ($\chi^2 = 6,79$, $p = 0,009$), что уменьшает у них вероятность ответа на терапию. У ответивших на терапию по сравнению с не-ответившими значимо чаще встречается генотип СС в зоне rs12979860 (66,7 и 18,2 %, $\chi^2 = 8,91$, $p = 0,003$); шанс ответа на терапию у них также в 6,8 раз выше. Тестирование SNP гена IL-28b (в большей степени rs12979860) позволяет точнее прогнозировать ответ на интерферонотерапию у пациентов с ХГС, что особенно важно пациентам с генотипом 1 HCV. Выявлены более высокие значения АЛТ в группе с генотипом СС в зоне rs12979860 по сравнению с генотипами СТ и ТТ ($p = 0,045$). Возможно, это свидетельствует о более эффективном иммунном ответе у лиц с генотипом СС. Вирусная нагрузка HCV в этих группах значимо не различалась ($p = 0,703$).

ЛИТЕРАТУРА

1. Genetic variation in IL28B and spontaneous clearance of hepatitis C virus / D. L. Thomas [et al.] // Nature. — 2009. — Vol. 461. — P. 798–801.
2. Hepatitis C pharmacogenetics: State of the art in 2010 / N. H. Afdhal [et al.] // Hepatology. — 2011. — № 53. — P. 336–345.
3. IL28B is associated with response to chronic hepatitis C interferon-alpha and ribavirin therapy / Suppiah V [et al.] // Nat Genet. — 2009. — Vol. 41. — P. 1100–1104.

4. 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, № 3. — P. 331–336.

5. 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). — P. 18322.

УДК 616.72-002.775:611.018.23:612.396.192

**ПОКАЗАТЕЛИ СУТОЧНОГО ПОТРЕБЛЕНИЯ АМИНОКИСЛОТ,
ВХОДЯЩИХ В СОСТАВ КОЛЛАГЕНА, У ПАЦИЕНТОВ С ОСТЕОАРТРОЗОМ**

Морголь А. С., Янковская Л. В.

Учреждение образования

«Гродненский государственный медицинский университет»

Филиал УЗ «ГЦГП» поликлиника № 6

г. Гродно, Республика Беларусь

Введение

Остеоартроз — хроническое прогрессирующее заболевание, характерным признаком которого является наличие деструктивных изменений суставного хряща и субхондральной кости с развитием краевых остеофитов [1]. Заболевание представляет собой важную социально-экономическую проблему в связи с широким распространением, значительным ухудшением качества жизни больных из-за постоянного болевого синдрома, а также высокой инвалидизацией.

В основе заболевания лежит нарушение адаптации суставного хряща к механической нагрузке, прежде всего, смещение баланса обмена хрящевой ткани в сторону катаболических процессов [2]. Изменения суставного хряща при остеоартрозе могут быть обусловлены как генетическими, так и разнообразными средовыми факторами (перегрузками суставов, спортивными травмами, нарушением обмена веществ), то есть характеризуются мультифакториальностью [2].

Суставной хрящ состоит из клеток, встроенных в матрицу волокнистого коллагена в пределах сконцентрированного водного протеогликанового геля [3]. Целостность этой матрицы определяет биомеханические свойства суставного хряща. Протеогликаны обеспечивают каркас для коллагена и удерживают воду, увеличивая эластичность и сопротивление сжатию, которые необходимы, чтобы противодействовать физическому напряжению [2, 3]. Строительными блоками для всех протеогликанов являются аминокислоты, в то время как строительными блоками для коллагена являются аминокислоты.

Коллаген — фибриллярный белок, составляющий основу соединительной ткани организма (сухожилие, кость, хрящ, дерма, связки, зубы, кровеносные сосуды и т. п.) и обеспечивающий ее прочность и эластичность [4]. Коллаген усваивается организмом человека только в гидролизованном виде.

Молекула коллагена представляет собой правозакрученную спираль из трех α -цепей. Такое образование известно под названием тропоколлаген. Один виток спирали α -цепи содержит три аминокислотных остатка. Для первичной структуры белка характерно высокое содержание глицина, низкое содержание серосодержащих аминокислот и отсутствие триптофана [4]. Коллаген относится к тем немногим белкам животного происхождения, которые содержат остатки нестандартных аминокислот: около 21 % от общего числа остатков приходится на 3-гидроксипролин, 4-гидроксипролин и 5-гидроксилизин. Каждая из α -цепей состоит из триад аминокислот [4]. В триадах третья аминокислота всегда глицин, вторая — пролин или лизин, первая — любая другая аминокислота, кроме трех перечисленных.

Обменные процессы несulfатированных (гиалуроновая кислота, хондроитин) и sulfатированных (хондроитин-сulfат, кератансulfат) гликозаминогликанов, а также применение препаратов на их основе у пациентов с остеоартрозом в настоящее время широко изучены. В связи с вышеизложенным, определенный интерес представ-