

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](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	ТТ	
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  $\alpha$ -цепей. Такое образование известно под названием тропоколлаген. Один виток спирали  $\alpha$ -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  $\alpha$ -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-sulfат, кератан-sulfат) гликозаминогликанов, а также применение препаратов на их основе у пациентов с остеоартрозом в настоящее время широко изучены. В связи с вышеизложенным, определенный интерес представ-