

УДК: **616.36-002.2+616.36-004**

Год издания: **2012**

Встречаемость полиморфизмов гена ИЛ-28В и значение для прогноза эффективности противовирусного лечения у пациентов с хроническим вирусным гепатитом С в Гомельской области

Мицура В.М., Воропаев Е.В., Осипкина О.В., Терешков Д.В.

Рубрики: 76.29.50, 76.35.33

Гомельский государственный медицинский университет

Тема НИР: «Молекулярно-генетические механизмы формирования предрасположенности и особенностей течения заболеваний желудочно-кишечного тракта, репродуктивной, сердечно-сосудистой и кроветворной систем»

Сроки выполнения НИР: 01.01.2011 г. — 31.12.2013 г.

Научный руководитель: канд. мед. наук Е.В. Воропаев

Источник финансирования: госбюджет.

Цель: определение частоты встречаемости полиморфизмов гена интерлейкина-28В (ИЛ-28В) и оценка их прогностической значимости при противовирусной терапии у пациентов с хроническим вирусным гепатитом С (ХВГС) в Гомельской области. ИЛ-28В является представителем интерферонов-лямбда, или интерферонов 3 типа, обладающих сильным противовирусным действием в отношении вируса гепатита С (ВГС). К настоящему времени доказано, что единичные нуклеотидные замены (ЕНЗ) в гене ИЛ-28В значительно коррелировали с ответом на лечение пациентов препаратами пегилированного интерферона и рибавирина (ПегИФН/РБВ). Два из этих ЕНЗ имеют более высокую прогностическую ценность благоприятного ответа на лечение у ВГС-инфицированных пациентов с генотипом 1 ВГС: rs12979860 и rs8099917. Однако окончательно не определен тип ЕНЗ, наиболее влияющий на эффективность лечения. Было установлено, что генотип ИЛ-28В связан с дифференцированной экспрессией внутрипеченочных стимулируемых интерфероном генов у пациентов с ХВГС. Кроме того, сывороточные уровни ИЛ-28В были значительно выше у лиц с ХВГС с «благоприятным» вариантом аллеля ИЛ-28В. Все эти признаки указывают на прямой антивирусный и иммуно-опосредованный эффекты ИЛ-28В, которые могут зависеть от этих полиморфизмов. Особое внимание уделяется прогнозированию результатов лечения у пациентов с генотипом 1 ВГС, т.к. они хуже отвечают на лечение ПегИФН/РБВ. Пациенты с «благоприятными» вариантами полиморфизмов ИЛ-28В имеют высокую вероятность ответа на терапию, и курс противовирусного лечения у них может быть сокращен. Изучение распространенности полиморфизмов гена IL28В в популяции пациентов с ХВГС в Беларуси еще не проводилось.

Было обследовано 104 пациента с ХВГС (65% мужчин и 35% женщин в возрасте от 16 до 75 лет, средний возраст $39,7 \pm 1,6$ года) в Гомельской областной инфекционной клинической больнице. Получали противовирусную терапию 69 пациентов с ХГС: 50 с использованием стандартного интерферона (ИФН) и РБВ, 19 — ПегИФН/РБВ. Эффект терапии оценен у 48 пациентов, т. к. некоторые пациенты еще продолжают лечение. Для выявления точечных мутаций ЕНЗ 39743165Т>G (rs8099917) и ЕНЗ 39738787С>Т (rs12979860) гена ИЛ-28В (классификация NCBI) использовали метод ПЦР-ПДРФ (полиморфизм длин рестрикционных фрагментов) с применением технологии мисматч-праймеров. В качестве материала для исследования использовалась ДНК, выделенная из лейкоцитов периферической крови. Используемые праймеры были синтезированы фирмой «Primetech» (Беларусь). Детекцию продуктов ПЦР проводили с помощью гель-электрофореза, достоверность полученных данных подтверждена с помощью мелтинга (плавления) рестрикционных фрагментов. Статистическая обработка полученных данных проводилась с помощью программы STATISTICA v.6.0. Использовались критерий χ^2 или точный критерий Фишера для сравнения частот в квадратах 2x2. Статистически значимой считалась 95% вероятность различий ($p < 0,05$).

Определена частота встречаемости ЕНЗ rs8099917 гена ИЛ-28В у 104 пациентов. Генотип ТТ («благоприятный») был выявлен у 52,9% пациентов, ТG — у 38,5%, GG

(«неблагоприятный») — у 8,7%. В Европейском регионе по данным GenBank частота носительства мутантного аллеля G (15%) была ниже, чем в нашем исследовании (28%), различие статистически значимо ($\chi^2 = 15,2$, $p = 0,0001$). У 102 пациентов проанализирована частота различных вариантов ЕНЗ rs12979860 гена ИЛ-28В. Генотип СС («благоприятный») был выявлен у 37,3% пациентов, генотип СТ — у 46,1%, ТТ («неблагоприятный») — у 16,7% пациентов. Частота мутантного аллеля Т в общей популяции Европейского региона составила 27,7%, в нашем исследовании — 39,7% ($\chi^2 = 12,0$; $p = 0,0005$). Вероятно, это связано с тем, что в наше исследование включены пациенты с ХВГС, у которых не произошло самопроизвольное выздоровление, ассоциирующееся с «благоприятными» вариантами ЕНЗ гена ИЛ-28В.

Проанализированы результаты лечения препаратами интерферона (вирусологический ответ в конце курса лечения или стойкий вирусологический ответ, СВО) у 48 пациентов с ХВГС. На терапию ответили 11 из 38 (29%) пациентов, получавших ИФН и РБВ, и 4 из 10 (40%) пациентов, получавших Пег-ИФН/РБВ. Учитывая, что частота СВО в этих двух группах различалась несущественно ($p = 0,70$, точный критерий Фишера), для дальнейшего анализа они были объединены. Ответ на терапию был ниже у лиц с 1 генотипом ВГС по сравнению с иными генотипами ($\chi^2 = 12,7$, $p = 0,0004$). При сравнении частот «благоприятных» гомозиготных носительств ТТ и СС у ответивших и неответивших на интерферонотерапию выявлено, что частота генотипа ТТ в зоне rs8099917 была выше у ответивших (80%), чем у неответивших (45,5%), статистически значимо ($p = 0,032$). Частота генотипа СС в зоне rs12979860 у ответивших (73,3%) была значительно выше, чем у неответивших (21,2%, $p = 0,001$). Ни у одного из ответивших на терапию пациентов не встречались гомозиготные «неблагоприятные» варианты GG в зоне rs8099917 или ТТ в зоне rs12979860. Рассчитывалось отношение шансов (ОШ) и его 95% доверительный интервал ответа на терапию у пациентов с «благоприятным» генотипом ТТ в зоне rs8099917 по сравнению с генотипами TG или GG, ОШ — 4,8 (1,1–20,2). Для генотипа СС в зоне rs12979860 по сравнению с генотипами СТ или ТТ, ОШ — 10,2 (2,5–42,1). Это доказывает несколько большую прогностическую ценность определения ЕНЗ rs12979860 по сравнению с rs8099917. Тестирование на полиморфизмы гена ИЛ-28В rs12979860 и rs8099917 можно рекомендовать перед началом противовирусного лечения всем пациентам с генотипом 1 ВГС в качестве прогностических факторов ответа на лечение.

Область применения: инфекционные болезни, лабораторная диагностика.

Рекомендации по использованию: прогноз эффективности лечения, подбор оптимальной схемы и длительности терапии.

Предложения по сотрудничеству: консультативная помощь при внедрении, совместные исследования по указанной тематике.