

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВАРИАНТА ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА ИНТЕРЛЕЙКИНА 28В КАК ПРЕДИКТОРА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОТИВОВИРУСНОЙ ТЕРАПИИ ХРОНИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА С

ВИЛЬДАН ХАЙРУЛЛАЕВИЧ ФАЗЫЛОВ, докт. мед. наук, профессор, зав. кафедрой инфекционных болезней ГБОУ ВПО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России, тел.8-917-254-89-97, e-mail: vildan47@rambler.ru

СВЕТЛАНА ВАСИЛЬЕВНА ТКАЧЕВА, канд. мед. наук, доцент кафедры инфекционных болезней ГБОУ ВПО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России, тел.8-917-269-05-15, e-mail: tkacheva-kgmu@mail.ru

ЭЛЬВИРА РАВИЛЕВНА МАНАПОВА, канд. мед. наук, ассистент кафедры инфекционных болезней ГБОУ ВПО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России, тел.8-917-294-66-63, e-mail: eelveram@rambler.ru

ЮЛИЯ МИХАЙЛОВНА СОЗИНОВА, канд. мед. наук, ассистент кафедры инфекционных болезней ГБОУ ВПО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России, тел.8-917-226-00-83, e-mail: sozin131@mail.ru

Реферат. Введение. Индукционный метод введения стандартных интерферонов- α (ИФН- α) в комбинации с рибавирином больным хроническим вирусным гепатитом С (ХГС) хотя и не относится к современным международным стандартам, часто используется в практической медицине. В последние годы ведется поиск предикторов эффективности противовирусной терапии (ПВТ). Полиморфизм rs12979860 и rs8099917 генов интерлейкина 28В (ИЛ-28В) оказывает существенное влияние на частоту достижения стойкого вирусологического ответа (СВО) при лечении пегилированными интерферонами. **Цель** данного исследования — оценить эффективность индукционного метода введения стандартных интерферонов при проведении комбинированной противовирусной терапии ХГС с учетом генотипа ИЛ-28В. **Материал и методы исследования.** Под наблюдением находилось 89 больных с ХГС, получавших ПВТ стандартными ИФН- α в индукционном режиме в сочетании с рибавирином, длительностью 24—48 нед. Выявление полиморфизма единичных нуклеотидов (ПЕН) в локусах rs12979860 и rs8099917 гена ИЛ-28В проводилось у 29 больных с помощью набора реагентов «АмплиСенс Геноскрин-IL28В-FL». **Результаты.** СВО на 24-й нед диспансерного наблюдения достигнут у 70,8% пролеченных пациентов. Генотипы CC rs12979860 и TT rs8099917 гена ИЛ-28В в группе больных, ответивших на лечение, зарегистрированы у 40 и 60% пациентов соответственно. У больных с 1-м генотипом ВГС (HCV-1) максимальная частота вирусологического ответа зарегистрирована среди пациентов, имеющих генотипы CC rs12979860 и TT rs8099917 (СВО — 83,3 и 54,5% соответственно). **Заключение.** Предиктором эффективности индукционного метода применения стандартных ИФН- α в сочетании с рибавирином для противовирусного лечения ХГС у пациентов с HCV-1 являются генотипы CC rs12979860 и TT rs8099917 по ИЛ-28В.

Ключевые слова: гепатит С, ген ИЛ-28В, противовирусная терапия, интерферон- α , рибавирин.

THE IDENTIFICATION OF OPTIONS INTERLEUKIN 28B GENE POLYMORPHISM AS A PREDICTOR OF EFFECTIVE ANTIVIRAL THERAPY FOR CHRONIC HEPATITIS C

VILDAN KH. FAZULOV, SVETLANA V. TKACHEVA, ELVIRA R. MANAPOVA, JULIA M. SOZINOVA

Abstract. The induction method for introducing of standard interferon- α (IFN- α) in combination with ribavirin in patients with chronic hepatitis C (CHC), although it does not apply to current international standards, is often used in the practice of medicine. The search of predictors antiviral therapy is conducted in recent years. Polymorphism rs12979860 and rs8099917 gene interleukin-28B (IL-28B) has a significant effect on the frequency of achieving sustained virological response (SVR) in the treatment with pegylated interferon. The aim of this study — to evaluate the effectiveness of the inductive method of introduction of IFN- α during combination antiviral therapy of CHC based on the patient's IL-28B genotyping. **Material and methods.** We observed 89 patients with CHC treated with IFN- α in the induction mode in combination with ribavirin, lasting 24–48 weeks. Identification of single nucleotide polymorphisms (PEN) in rs12979860 and rs8099917 locus gene IL-28B was conducted in 29 patients using the «AmpliSens Genoscreen — IL 28V-FL» reagent kit in the viral hepatitis laboratory of the molecular diagnostic department. **Results.** SVR at week 24 of follow-up was achieved in 70,8% of treated patients. Genotypes rs12979860 CC and rs8099917 TT of IL-28B gene in a group of patients responding to treatment reported in 40 and 60%, respectively. In patients with HCV genotype 1 (HCV-1) the maximum frequency of virologic response rates were reported for patients with rs12979860 CC and rs8099917 TT (SVR — 83,3 and 54,5% respectively). **Conclusion.** Predictor of efficiency the inductive method of the use IFN- α with ribavirin for antiviral treatment CHC in patients with HCV-1 genotypes are CC rs12979860 and rs8099917 TT by IL-28B.

Key words: hepatitis C, the gene IL-28B, antiviral therapy, interferon- α , ribavirin.

Комбинированная противовирусная терапия (ПВТ) хронического гепатита С (ХГС) пегилированными интерферонами- α (ПегИФН- α) и рибавирином (РИБ) остается стандартом лечения моноинфицированных наивных пациентов, но является дорогостоящей и малодоступной [1, 2]. Индукционное введение стандартных ИФН- α , хотя и не относится к современным международным стандартам, но часто и не без успеха используется в практической медицине [3, 4]. В ежедневной схеме лечения стандартными ИФН- α сохраняется оптимальный баланс между противовирусной активностью и длительностью периода их полувыведения. Проведенные исследования показывают удовлетворительную переносимость приема индукционных доз стандартных ИФН- α , а при возникновении побочных реакций — возможность модификации доз, а также сопоставимость результатов по достижению стойкого вирусологического ответа (СВО) при использовании ПегИФН- α [3]. В последние годы ведется поиск предикторов эффективности ПВТ. Наряду с вирусной нагрузкой, генотипом вируса, стадией фиброза все большее внимание клиницистов привлекает возможность персонализированного подхода к лечению заболевания, основанного на проведении генотипирования самого хозяина и, таким образом, определения предрасположенности к исходу терапии. Полиморфизм rs12979860 и rs8099917 генов интерлейкина 28В (ИЛ-28В) оказывает существенное влияние на частоту достижения устойчивого вирусологического ответа. У пациентов белой расы — носителей генотипа СС (т.е. гомозиготы по аллели С) регистрируется 2-кратная разница (95%, ДИ 1,8–2,3) в частоте достижения СВО по сравнению с носителями генотипов СТ и ТТ полиморфизма rs12979860 гена ИЛ-28В [5]. Данные пилотного ретроспективного исследования в группе больных ХГС в России [6] также продемонстрировали предварительные результаты, свидетельствующие о существенном значении вариантов полиморфизма гена ИЛ-28В как rs12979860, так и rs8099917 в достижении СВО в результате ПВТ.

Цель исследования — оценить эффективность индукционного метода введения стандартных интерферонов при проведении комбинированной противовирусной терапии ХГС с учетом генотипирования пациента по ИЛ-28В.

Материал и методы. Под наблюдением находилось 89 больных (53% женщин и 47% мужчин) ХГС в возрасте (30,4 \pm 1,1) года, ранее не получавшие ПВТ, с длительностью инфицирования (4,7 \pm 0,49) года; средний ИМТ составил (24,12 \pm 0,12) кг/м². Исходные показатели активности HCV-инфекции определялись высокой вирусной нагрузкой (РНК HCV > 400 000 МЕ/мл) у 55 (62%) больных, 1-м генотипом (HCV-1) у 50 (56,1%) пациентов и уровнем аланинаминотрансферазы (АлАТ), который составил (68,6 \pm 7,90) Ед/л [у мужчин — (81,85 \pm 13,07) Ед/л; у женщин — (51,32 \pm 7,99) Ед/л при N=(22,61 \pm 1,26) и (19,23 \pm 1,27) Ед/л соответственно].

Пациенты получали ПВТ отечественными препаратами: α -ИФН2b индукционным методом по 5 млн ЕД/сут в течение 12 нед, затем по 3 млн ЕД/сут до окончания лечения в сочетании с рибавирином (дозы зависели от массы тела: 800—1200 мг/сут). Длительность ПВТ составляла 24—48 нед в зависимости от генотипа HCV. В случае отсутствия вирусологического ответа на 24-й нед лечения у больных HCV-1 терапия отменялась.

Диагноз ХГС устанавливался на основании эпидемиологических, клинико-лабораторных данных и подтверждался выявлением специфических маркеров инфицирования HCV методом ИФА; детекцией РНК-HCV (с генотипированием) с чувствительностью качественного метода ПЦР — 111,1 МЕ/мл и количественного — 275 МЕ/мл. Всем пациентам как в ходе подготовки к терапии, так и на ее фоне (4, 12, 24, 48 нед ПВТ), а также через 24 нед после ее окончания проводился следующий комплекс исследований: общепринятые методы (определение спектра антител к HCV в ИФА, функциональные пробы печени, протеинограмма, общий анализ крови, общий анализ мочи и т.д.); ПЦР-детекция РНК-HCV; оценка функции щитовидной железы (определение гормонов: ТТГ, Т4 свобод., Т3 свобод., аТПО и ультразвуковое исследование); анализ крови на аутоантитела (ANA, AMA, ASMA, LKM); УЗИ органов гепатобилиарной зоны; пункционная биопсия или фибросканирование печени. Выявление полиморфизма единичных нуклеотидов (ПЕН) в локусах rs12979860 и rs8099917 гена ИЛ-28В проводилось с помощью набора реагентов «АмплиСенс Геноскрин-ИЛ28В-FL» (лаборатория вирусных гепатитов отделения молекулярной диагностики ЦНИИЭ, Москва, зав. В.П. Чуланов).

В исследование не включались лица с аутоиммунными и другими хроническими декомпенсированными системными заболеваниями; пациенты с микст-гепатитами; с циррозом печени, а также имеющие степень фиброза больше F3 (по результатам пункционной биопсии печени или фиброзластометрии по шкале METAVIR); больные с алкогольной болезнью или принимающие алкоголь, психоактивные вещества (ПАВ); с нейтропенией <1500 кл/мкл, тромбоцитопенией <90 тыс. кл/мкл, низкой концентрацией гемоглобина для женщин — <120 г/л, для мужчин <130 г/л, а также беременные и кормящие женщины; мужчины, имеющие беременных половых партнеров.

Статистическую обработку данных проводили с использованием «MS Excel-2003».

Результаты и их обсуждение. Быстрый вирусологический ответ (БВО) на 4-й нед ПВТ получен у 71 (80%) больного, ранний вирусологический ответ (РВО) на 12-й нед лечения — у 80 (90%), стойкий вирусологический ответ (СВО) на 24-й нед диспансерного наблюдения достигнут у 63 (70,8%) пациентов: у 26 (52,9%) больных с 1-м генотипом и у 37 (95,8%) с 2-м и 3-м генотипами HCV. Динамика биохимической активности до и во время лечения оценивалась по показателям АлАТ. До начала терапии 85,7% (n=76) больных имели повышенные показатели АлАТ: 58,3% — до 3N; 16,6% — от 3 до 5N; 8,3% — свыше 5N. На 4-й нед лечения показатели АлАТ в пределах здоровых лиц зафиксированы у 42,9%, повышенные (до 3N) — у 50% пациентов, у 1 — свыше 5N. На 24-й нед ПВТ нормальный уровень АлАТ имели 78,6% (n=70) больных, на 48-й нед терапии у 95% пациентов с 1-м генотипом уровень АлАТ был в пределах нормы. К 24-й нед диспансерного наблюдения все пациенты, достигшие СВО, имели показатели АлАТ в пределах уровня здоровых лиц.

У 29 пациентов, включенных в исследование, проводилось определение полиморфизма гена ИЛ-28В в локусах rs12979860 и rs8099917. Из них у 20 (69%) больных (1-я группа) получен СВО, 9 (31%) пациентов не ответили на ПВТ (2-я группа). Распределение по генотипам HCV: в 1-й группе преобладали пациенты со 2-м и 3-м генотипами — 12 (60%); во 2-й группе — с

Частота достижения вирусологического ответа в зависимости от полиморфизма генотипов rs12979860 и rs8099917 гена ИЛ-28В и генотипов HCV

Вирусологический ответ (ВО) на ПВТ	rs12979860				rs8099917			
	CC		CT		TT		TG	
	1-й генотип, n=6	2-й и 3-й генотипы, n=4	1-й генотип, n=9	2-й и 3-й генотипы, n=10	1-й генотип, n=11	2-й и 3-й генотипы, n=8	1-й генотип, n=3	2-й и 3-й генотипы, n=7
БВО, n=19	4 (66,7%)	3 (75%)	2 (22,2%)	10 (100%)	6 (54,5%)	6 (75%)	1 (33,3%)	6 (85,7%)
РВО, n=26	6 (100%)	3 (75%)	7 (77,8%)	10 (100%)	11 (100%)	6 (75%)	2 (66,7%)	7 (100%)
ВО, 24-я нед., n=23	6 (100%)	3 (75%)	5 (55,6%)	9 (90%)	9 (81,8%)	5 (62,5%)	2 (66,7%)	7 (100%)
ВО, 48-я нед., n=11	6 (100%)	—	5 (55,6%)	—	9 (81,8%)	—	2 (66,7%)	—
СВО, n=20	5 (83,3%)	3 (75%)	4 (44,4%)	8 (80%)	6 (54,5%)	6 (75%)	2 (66,7%)	6 (85,7%)

1-м генотипом — 7 (77,8%). При анализе распределения больных по генотипам ИЛ-28 оказалось, что благоприятные варианты генотипов CC полиморфизма rs12979860 и TT полиморфизма rs8099917 в 1-й группе зарегистрированы у 8 (40%) и 12 (60%) пациентов, а во 2-й — у 2 (22,2%) и 7 (77,8%) больных соответственно. Генотипы CT полиморфизма rs12979860 и TG полиморфизма rs8099917 встречались у 60 и 40% пациентов, ответивших на терапию; 77,8 и 22,2% больных — «не ответивших». Необходимо отметить отсутствие у обследованных пациентов генотипов TT rs12979860, TG rs8099917 и TT rs12979860, GG rs8099917, которые являются самыми неблагоприятными при прогнозировании эффективности ПВТ и возможности спонтанной ремиссии инфекции.

Частота достижения БВО, РВО, ВО на 24-й и 48-й нед ПВТ, СВО в зависимости от полиморфизма генотипов rs12979860 и rs8099917 гена ИЛ-28В и генотипов HCV представлена в *таблице*. Максимальная частота вирусологического ответа получена у пациентов с HCV-1, имеющих генотипы CC rs12979860 и TT rs8099917 ИЛ-28В (БВО — 66,7 и 54,5%; РВО — 100 и 100%; СВО — 83,3 и 54,5% соответственно).

Заключение. На основании вышеизложенного, индукционный метод применения стандартных α -ИФН2b в сочетании с рибавирином для противовирусной терапии ХГС является эффективным: СВО получен у 70,8% пациентов (у 52,9% больных с 1-м генотипом и 95,8% с 2-м и 3-м генотипами) с достижением биохимического ответа у 100% больных, ответивших на лечение, к 24-й нед диспансерного наблюдения. Наиболее эффективной терапия была у пациентов с HCV-1 при благоприятных генотипах CC rs12979860 и TT rs8099917 по ИЛ-28В. Необходимо подчеркнуть, что данные о ПЕН rs12979860 и rs8099917 не могут быть инструментом решения вопроса о назначении ПВТ или отказе от ее проведения, они позволяют лишь более точно определить шанс больного на излечение от ХГС при использовании конкретной схемы терапии. Результаты исследований генотипов по ИЛ-28 в сочетании с финансовой доступностью отечественных препаратов при индукционном методе ПВТ снижают экономические затраты на лечение больных ХГС.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Абдурахманов, Д.Т.* Противовирусная терапия хронического гепатита С: этапы развития / Д.Т. Абдурахманов // Клиническая гепатология. — 2009. — № 2. — С. 26—33.
2. *Моисеев, С.В.* Лечение хронического гепатита С: результаты рандомизированных контролируемых исследований / С.В. Моисеев // Инфекционные болезни. — 2010. — Т. 8, № 3. — С. 52—57.
3. *Еналеева, Д.Ш.* Хронические вирусные гепатиты В, С и D / Д.Ш. Еналеева, В.Х. Фазылов, А.С. Созинов. — М.: Медпресс-информ. — 2011. — 463 с.
4. *Никитин, И.Г.* Человеческий лейкоцитарный альфа-интерферон в комбинированной терапии больных хроническим гепатитом С, инфицированных не 1-м генотипом вируса / И.Г. Никитин, Л.М. Гогова, И.Е. Байкова [и др.] // Клинические перспективы гастроэнтерологии и гепатологии. — 2009. — № 1. — С. 33—37.
5. Genetic factors and hepatitis C virus infection / A.J. Thompson // Gastroenterology. — 2012. — Vol. 142. — P. 1335—1339.
6. *Козина, А.Н.* Возможности персонализированного подхода к лечению гепатита С на основании разработанных генетических тестов определения варианта полиморфизма гена ИЛ-28 / А.Н. Козина, Д.Д. Абрамов, Е.А. Климова [и др.] // Лечащий врач. — 2011. — № 10. — С. 39—43.

REFERENCES

1. *Abdurahmanov, D.T.* Protivovirusnaya terapiya hronicheskogo gepatita S: etapy razvitiya / D.T. Abdurahmanov // Klinicheskaya gepatologiya. — 2009. — № 2. — S. 26—33.
2. *Moiseev, S.V.* Lechenie hronicheskogo gepatita S: rezul'taty randomizirovannykh kontroliruemyyh issledovaniy / S.V. Moiseev // Infektsionnye bolezni. — 2010. — T. 8, № 3. — S. 52—57.
3. *Enaleeva, D.Sh.* Hronicheskie virusnye gepatity V, S i D / D.Sh. Enaleeva, V.H. Fazylov, A.S. Sozinov. — M.: Medpress-inform. — 2011. — 463 s.
4. *Nikitin, I.G.* Chelovecheskii leikocitarniy al'fa-interferon v kombinirovannoi terapii bol'nykh hronicheskim gepatitom S, infitsirovannykh ne 1-m genotipom virusa / I.G. Nikitin, L.M. Gogova, I.E. Baikova [i dr.] // Klinicheskie perspektivy gastroenterologii i gepatologii. — 2009. — № 1. — S. 33—37.
5. Genetic factors and hepatitis C virus infection / A.J. Thompson // Gastroenterology. — 2012. — Vol. 142. — P. 1335—1339.
6. *Kozina, A.N.* Vozmozhnosti personifitsirovannogo podhoda k lecheniyu gepatita S na osnovanii razrabotannykh genicheskikh testov opredeleniya varianta polimorfizma gena IL-28 / A.N. Kozina, D.D. Abramov, E.A. Klimova [i dr.] // Lechaschii vrach. — 2011. — № 10. — S. 39—43.