

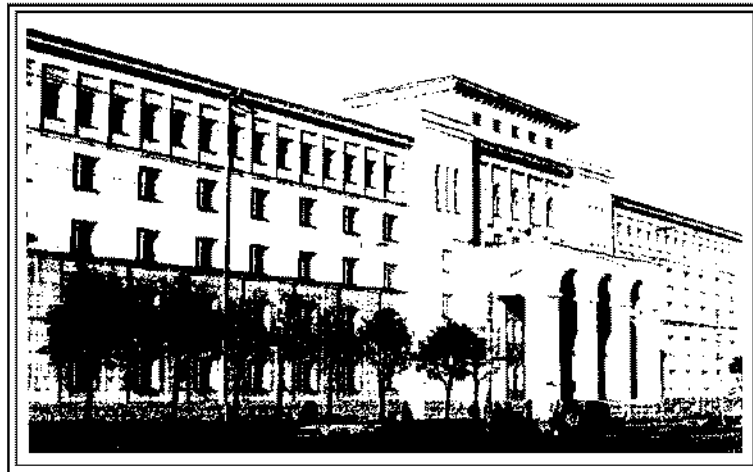
ISSN 2225-6016

ВЕСТНИК

*Смоленской государственной
медицинской академии*

Том 14, №4

2015



УДК 615.036

ФАРМАКОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ И БЕЗОПАСНОСТИ ПРОТИВОВИРУСНОЙ ТЕРАПИИ ХРОНИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА С© Лобанова О.Л.¹, Рафальский В.В.², Храмов М.М.²¹Медико-санитарная часть №67 ФСИН России, Россия, 214018, Смоленск, ул. Кирова, 43а²Смоленский государственный медицинский университет, Россия, 214019, Смоленск, ул. Крупской, 28

Резюме: Целью исследования являлась оценка корреляции между отдельными полиморфизмами генов интерлейкинов и показателями эффективности и безопасности противовирусной терапии у пациентов с хроническим гепатитом С.

В исследование включали пациентов, закончивших стандартную комбинированную терапию хронического гепатита С пегилированными интерферонами в сочетании с рибавирином. Доза пегилированного интерферона $\alpha 2$ составляла 1,5мкг/кг/нед, пегилированного интерферона $\alpha 2a$ – 180 мкг/нед подкожно, доза рибавирина от 800 до 1600 мг в сутки перорально. Курс лечения составлял 48 нед. у пациентов с 1 генотипом и 24 нед. у пациентов с 2 и 3 генотипом. Генетические полиморфизмы определяли методом MALDITOF минисеквенирования.

Стойкий вирусологический ответ регистрировался достоверно реже при выявлении аллельного варианта T/T IL-28B rs12979860, а нейтропения возникала достоверно чаще в случае определения гомозиготных вариантов (T/T) гена rs12979860 IL-28B. Нейтропения достоверно реже выявлялась у пациентов гомозиготных (T/T) по аллелю IL-28B rs8099917 при 1 генотипе вируса гепатита С.

По итогам исследования высказано предположение, что генетические полиморфизмы интерлейкинов могут использоваться для прогнозирования исходов противовирусной терапии у пациентов с хроническим гепатитом С.

Ключевые слова: хронический гепатит С, интерлейкин-28В, интерлейкин-1, предикторы терапии, генетические полиморфизмы, нежелательные лекарственные реакции

PHARMACOGENETIC APPROACH TO PREDICT EFFICACY AND SAFETY OF ANTIVIRAL THERAPY IN CHRONIC HEPATITIS CLobanova O.L.¹, V.V. Rafalsky V.V.², Hramcov M.M.²¹Medical and sanitary part № 67 of Federal Penitentiary Service of Russia, 214019, Smolensk, Kirov St., 43a²Smolensk State Medical Academy, Russia, 214019, Smolensk, Krupskaya St., 28

Summary: The aim of the study was to assess correlation between individual gene polymorphism of interleukins and indicators of efficacy and safety of antiviral therapy in patients with chronic hepatitis C.

In the study were included patients treated with routine antiviral medicines used in chronic hepatitis C with pegylated interferon in combination with ribavirin. The dose of pegylated interferon was $\alpha 2v$ 1.5 mkg/kg/week, Pegylated interferon $\alpha 2A$ – 180 g/weeks, subcutaneously, ribavirin dose from 800 to 1600 mg per day orally. The course of treatment was 48 weeks in patients with genotype 1 and 24 weeks in patients with genotype 2 and 3. Genetic polymorphisms were determined by MALDITOF minisequencing.

SVR was significantly more frequent in identifying allelic variants of T/T IL-28B rs12979860, and neutropenia occurred significantly more frequently in the case of the definition of homozygous variants (T/T) gene rs12979860 IL-28B. Neutropenia was detected significantly less frequently in patients homozygous (T/T) for the allele IL-28B rs8099917 genotype 1 if the hepatitis C virus.

Genetic polymorphisms of interleukins can be used to predict the outcome of antiviral therapy in patients with chronic hepatitis C.

Key words: chronic hepatitis C, IL-28B, IL-1, predictors of therapy, genetic polymorphisms, adverse drug reactions

Введение

Хронический гепатит С (ХГС) одна из самых распространенных инфекций, передаваемых парентеральным путем [1, 2, 11]. ХГС является одной из основных причин цирроза печени, гепатоцеллюлярной карциномы, независимым фактором снижающим продолжительность жизни на 22-23 года [2, 4]. В США и странах Европы ХГС является самой частой причиной развития цирроза печени и гепатоцеллюлярной карциномы [7].

В настоящее время разработаны различные схемы терапии ХГС, включающие ингибиторы вирусной протеазы (ИП) в комбинации с интерфероном или без его применения. Несмотря на наличие «безинтерфероновых» схем терапии ХГС, проведение комбинированной противовирусной терапии (КПВТ), включающей в себя назначение пегилированного интерферона (пег-ИФН) в комбинации с рибавирином ± ИП остается одним из вариантов современной терапии ХГС [2, 4, 11].

В последнее время большое внимание уделяется использованию фармакогенетического анализа для прогнозирования эффективности противовирусной терапии. Наибольшее распространение получил анализ однонуклеотидных замен (ОНЗ), или SNP (Single Nucleotide Polymorphism) – точечных замен одного нуклеотида на другой. В частности, установлено, что у носителей аллельного варианта rs12979860 C/C IL-28b в 2 раза увеличивается вероятность формирования стойкого вирусологического ответа на терапию пег-ИФН и рибавирином. Генотип C/C наиболее часто регистрировался у пациентов со спонтанным разрешением инфекции. Аллель G связан с низким уровнем ответа на КПВТ [4, 8].

Целью исследования являлась оценка корреляции между выявлением отдельных полиморфизмов генов IL-28B и IL1-31C/T и показателями эффективности и безопасности комбинированной противовирусной терапии у пациентов с ХГС.

Методика

В исследование включали пациентов, с диагнозом ХГС, получивших КПВТ и подписавших форму информированного согласия. Проведенное исследование было одобрено этическим комитетом.

Пациенты получали КПВТ, включающую пегилированные интерфероны (Пегасис, Ф.Хоффманн-Ля Рош Лтд., ПегИнtron, Шеринг-Плау) в сочетании с рибавирином (Ребетол, Шеринг-Плау, Рибавирин, Озон). Доза пег-ИФН α 2в составляла 1,5 мкг/кг/нед, доза пег-ИФН α 2а – 180 мкг/нед подкожно, доза рибавирина подбиралась в зависимости от массы тела и составляла от 800 до 1600 мг в сутки перорально. Полный курс лечения составлял 48 недель у пациентов с 1 генотипом и 24 нед. у пациентов с 2 и 3 генотипом вируса гепатита С. Стойкий вирусологический ответ (СВО) оценивали спустя 24 нед. после окончания КПВТ как неопределяемый уровень вирусной РНК в крови. Определение генетических полиморфизмов проводилось с использованием метода MALDI-TOF минисеквенирования.

Статистический анализ данных выполнен с помощью программы Microsoft Excel 2007. При представлении описательных данных использовали среднее арифметическое значения и стандартное отклонение. Частоты достижения ответа на лечение, развитие НЯ и других признаков в группах (частотный анализ) сравнивали с помощью критерия Хи-квадрат или точного критерия Фишера. Проводился корреляционный анализ с вычислением отношения шансов (OR) и доверительных интервалов. Для сравнения средних значений двух зависимых образцов применяли парный критерий Фишера и χ^2 -тест.

Результаты исследования

В исследование было включено 105 больных с ХГС, получивших курс комбинированной противовирусной терапии. Характеристика пациентов, включенных в исследование, представлена в таблице.

Средний возраст пациентов, включенных в исследование, составил 32,9 \pm 8,9 года. 73 пациента были мужчинами (69,5%) и 32 пациента – женщинами (30,5%). Среди мужчин 1 генотип вируса имели 47 человек (64,4%), не-1 генотип – 26 человек (35,6%), среди женщин у 22 (68,8%) определялся 1 генотип вируса, у 10 пациенток (31,2%) был выявлен не-1 генотип HCV. Из 105 включенных пациентов 84 пациента (80%) получали пег-ИФН α 2а в сочетании с рибавирином и 21 (20%) – пег-ИФН α 2в в сочетании с рибавирином. Из 105 включенных в исследование пациентов полный курс лечения был проведен у 101. У 4 человек лечение было прекращено досрочно в связи

с тем, что не был достигнут ранний вирусологический ответ (сохранение высокого уровня репликации HCV RNA на 12 нед. терапии).

Таблица. Клинико-лабораторные особенности пациентов, включенных в исследование

Параметр	Генотип HCV		
	1(%)	2, 3(%)	Любой (%)
Количество пациентов	69	36	105
Мужчины / женщины	47/26	22/10	73/32
Возраст	32,87±8,54	33,14±9,63	32,96±8,88
Масса тела	81,7±17,3	75,4±12,5	79,6±16,1
Давность болезни <5 лет	52 (62,7)	31 (37,3)	83 (100)
Давность болезни 5-10 лет	14 (87,5)	2 (12,5)	16 (100)
Давность болезни >5 лет	3 (50)	3 (50)	6 (100)
АЛТ ≤ ВГН	12 (63,2)	7 (36,8)	19 (100)
ВГН < АЛТ ≤ 3*ВГН	40 (71,4)	16 (28,6)	56 (100)
АЛТ > 3*ВГН	17 (56,7)	13 (43,3)	30 (100)
Фиброз F0-2	45 (78,9)	12 (21,1)	57 (100)
Фиброз F3-4	1 (50)	1 (50)	2 (100)
ИГАпо Knodell	6±3,2	6,7±3,7	6,2±3,3
Число пациентов, получавших КПВТ, использованием пегИФН α 2а	50 (59,5)	34 (40,5)	84 (100)
Число пациентов, получавших КПВТ, использованием пегИФН α 2в+риб,	19 (90,5)	2 (9,5)	21 (100)
РВО	65 (64,4)	36 (35,6)	101 (100)
СВО	51 (61,4)	32 (38,6)	83 (100)

Примечание: в скобках приведены относительные значения. ИГА – индекс гистологической активности, ВГН – верхняя граница нормы, РВО – ранний вирусологический ответ, СВО – стойкий вирусологический ответ

Выявлена достоверная взаимосвязь между развитием СВО и аллельным вариантом Т/Т гена IL-28B rs12979860 Т/С, более высокой частотой развития нейтропении и генотипом Т/Т гена IL-28B rs12979860 Т/С и более редким развитием нейтропении при 1 генотипе вируса гепатита С при аллельном варианте Т/Т IL-28B rs8099917. Максимальная длительность нейтропении имела место у пациентов, гомозиготных по аллелю С гена IL-1 -31. При данном полиморфизме нейтропения сохранялись более 48 нед. от начала терапии. У пациентов гомозиготных по аллелю G гена IL-28B rs8099917 нейтропения достоверно чаще возникала в первые 4 нед. терапии. Результаты проведенного анализа частот встречаемости полиморфизмов генов в исследуемых группах не выявили достоверных различий в формировании СВО у пациентов с различными генотипами IL-28B rs8099917 G/Т. Исследование роли вариантов единичных нуклеотидных полиморфизмов гена IL-1 -31 С/Т не выявило достоверных различий при формировании вирусологических ответов при ХГС и частоте развития нейтропении.

СВО регистрировался достоверно реже при генотипе IL-28B rs12979860 Т/Т (OR – 0,33, ДИ 0,11-0,98, $p < 0,05$), чем при аллельных вариантах Т/С и С/С. У пациентов гомозиготных по аллелю С выявлена достоверно более высокая частота СВО (OR 10,97, ДИ 1.35-89.002, $p < 0,05$) по сравнению с аллельными вариантами С/Т и Т/Т.

Установлено, что у пациентов с ХГС, получавших КПВТ гомозиготных по аллелю Т IL-28B rs12979860 достоверно чаще развивалась нейтропения (OR 4,89; ДИ 1,06-22,63; $p < 0,05$), чем при вариантах С/С или С/Т. Также показано, что нейтропения при 1 генотипе вируса гепатита С достоверно реже регистрируется у пациентов гомозиготных по аллелю Т IL-28B rs8099917 (OR 0,21; ДИ 0,06-0,72; $p < 0,05$).

Максимальная длительность нейтропении отмечалась у пациентов, гомозиготных по аллелю С гена IL-1-31. При данном полиморфизме нейтропения сохранялись более 48 нед. от начала терапии. У пациентов гомозиготных по аллелю G гена IL-28B rs8099917 нейтропения достоверно чаще возникала в первые 4 нед. терапии ($p < 0,05$; $\chi^2 = 8,16$; $n = 2$).

Обсуждение результатов исследования

Основная цель настоящего исследования заключалась в поиске потенциальных предикторов ответа на КПВТ. Предпосылкой послужили исследования демонстрирующие возможность прогнозирования исходов КПВТ у пациентов с ХГС путем выявления отдельных полиморфизмов гена IL-28B. Ранее было показано, что предсказательное значение данного полиморфизма выше, чем иных показателей успеха терапии – возраста, вирусной нагрузки, массы тела и др. [12]. В качестве возможных предикторов эффективности нами оценивались полиморфизмы генов IL-1 -31, IL-28B rs129860 и rs809917. Кроме того, был проведен анализ возможности прогнозирования развития нежелательных лекарственных реакций (НЛР).

В нашем исследовании наибольшее количество пациентов ответивших на терапию имели генотип IL-28B rs12979860 C/C (87,1%) и C/T (80,4%). Достоверно реже СВО регистрировался при генотипе IL-28B T/T (61,1%, $p < 0,05$). При 1 генотипе ХГС были получены схожие результаты: наиболее часто СВО регистрировался при аллельных вариантах C/C и C/T: 95,2% и 72,2% соответственно. У пациентов гомозиготных по аллелю T частота СВО составила 41,7% ($p < 0,05$). Результаты проведенного анализа частот встречаемости генетических полиморфизмов не выявили достоверных различий в формировании СВО у пациентов с различными аллелями IL-28B rs809917 G/T. Аллельный вариант G/G был отмечен у малого количества пациентов ($n=2$), в связи с чем не анализировался.

При анализе критериев безопасности установлено наиболее частое развитие нейтропении при генотипе IL-28B rs12979860 T/T (88,9%), при 1 генотипе вируса – 91,7% ($p < 0,05$). Также наиболее часто при 1 генотипе вируса гепатита С нейтропения регистрировалась у пациентов гетерозиготных по аллелю T IL-28B rs809917 ($p < 0,05$). При 1 генотипе вируса достоверно реже нейтропения отмечалась у пациентов – носителей генотипа T/T IL-28B rs809917 ($p < 0,05$). У пациентов с генотипом IL-28B rs809917 G/G нейтропения достоверно чаще возникала в первые 4 нед. терапии ($p < 0,05$; $\chi^2=8,16$; $n=2$). В связи с малым количеством пациентов данный признак требует дальнейшего изучения.

По литературным данным, клинически значимыми являются полиморфизмы IL-28B rs12979860 с заменой цитозина на тимин (C→T) и IL-28B rs809917 с заменой тимина на гуанин (T→G) [4, 8, 13]. Среди больных с ХГС 1 генотипа европеоидной расы, пролеченных КПВТ и имеющих генотипы C/C, C/T и T/T, СВО достигается в 69, 33 и 27% соответственно [2]. У пациентов гомозиготных по аллелю T IL-28B rs809917 выше процент спонтанного разрешения инфекции вне зависимости от лечения [3]. Низкий уровень ответа на терапию отмечается у пациентов, имеющих в rs809917 аллель G [10, 13]. Таким образом, полученные нами на российской популяции пациентов с ХГС данные по частоте развития СВО после КПВТ при различных полиморфизмах IL-28B rs12979860 и IL-28B rs809917 совпадают с данными зарубежных исследований.

В отношении IL-1 наиболее хорошо изучены полиморфизмы в позициях -31, -511 и +3953. Нами был исследован полиморфизм IL-1 -31, в данной позиции тимин заменяется на цитозин (T→C). Гены, кодирующие семейство IL-1, расположены на длинном плече хромосомы 2 в области 2q14-2q21. IL-1 представлен двумя полипептидами – IL-1 β и IL-1 α и их и их рецепторным антагонистом – IL-1Ra. Оба белка кодируются разными генами, но спектр биологической активности практически одинаков [5]. Полиморфизм промоторной области гена IL-1 -31 C/T ассоциирован с уровнем его экспрессии. При наличии аллеля T уровень экспрессии гена увеличивается в 2-4 раза [3, 10, 13]. Частота встречаемости аллельного варианта -511 C/T достоверно не отличается у больных вирусным гепатитом С европеоидного происхождения с различными результатами терапии [6]. Также не обнаружено взаимосвязи между распространенностью полиморфизма IL-1B -511 и +3954 и спонтанной элиминацией вирусного гепатита С в исследовании в Англии [9]. Проведенными исследованиями в Японии было установлено, что генотип -511 T/T гена IL-1B является фактором риска развития ГЦК [14]. В нашем исследовании наиболее часто регистрировался генотип C/T (в 50,5% случаев). Меньшее количество пациентов были гомозиготны по аллелю T (43,8%). Наиболее редким был генотип C/C ($n=6$). Достоверных корреляций между формированием СВО при различных вариантах IL-1 -31 выявлено не было. У пациентов гомозиготных по аллелю C наиболее часто (в 33,3% случаев) по сравнению с другими генотипами IL-1 -31 (T/T–4,3%; C/T–3,8%) отмечалась продолжительность нейтропении более 49 недель. Однако, учитывая малое количество пациентов ($n=2$), это утверждение требует уточнения на больших выборках. Выявлена достоверная корреляция между аллельным вариантом IL-1 -31 C/T и лейкопенией продолжительностью 13-24 нед. ($p < 0,05$; OR – 2,83; ДИ 1,1-7,27)

Выводы

В популяции российских пациентов подтверждены данные о наличии корреляции между выявлением отдельных генотипов IL-28B и эффективностью противовирусной терапии ХГС. В частности, при выявлении аллельного варианта T/T гена rs12979860 IL-28b, СВО регистрировался достоверно реже, чем при вариантах T/C и C/C.

Установлено, что при проведении КПВТ у пациентов с генетические полиморфизмы могут использоваться для прогнозирования НЛР. Показано, что нейтропения достоверно чаще развивалась в случае определения гомозиготных вариантов (T/T) гена rs12979860 IL-28B, чем в случае выявления аллелей C/C или C/T, напротив, нейтропения достоверно реже выявлялась у пациентов гомозиготных (T/T) по аллелю IL-28B rs8099917 при 1 генотипе вируса гепатита С.

Литература

1. Амбалов Ю.М., Дубина Н.В., Донцов Д.В. и др. Роль комбинированной противовирусной терапии в патогенезе нарушений состояния сердечно-сосудистой системы у больных хроническим гепатитом С // Кубанский научный медицинский вестник. – 2012. – №2. – С. 14-19.
2. Ивашкин В.Т., Юшук Н.Д., Маевская М.В. и др., Рекомендации по диагностике и лечению взрослых больных гепатитом С // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2013. – №2. – С. 41-70.
3. Маев И.В., Кучерявый Ю.А., Андреев Д.Н. Причины неэффективности антигеликобактерной терапии // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2013. – Т.23, №6. – С. 62-72.
4. Никитин И.Г., Байкова И.Е., Гогова Л.М. Боцепривир: новые возможности противовирусного лечения хронического гепатита С // Терапевтический архив. – 2013. – №3. – С. 76-84.
5. Симбирцев А.С. Биология семейства интерлейкина-1 человека // Иммунология. – 1998. – №3. – С. 9-17.
6. Abbas Z., Moatter T., Hussainy A. Effect of cytokine gene polymorphism on histological activity index, viral load and response to treatment in patients with chronic hepatitis C genotype 3. // World Journal of Gastroenterology. – 2005. – V.11, N42. – P. 6656-6661.
7. European Center for Disease and Control (ECDC). Available at: http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/hepatitis_C/Pages/index.aspx/ Accessed February 16, 2010.
8. Grebely J., Petoumenos K., Hellard M. et al. Potential role for interleukin-28B genotype in treatment decision-making in recent hepatitis C virus infection // Hepatology. – 2010. – V.52, N4. – P. 1216-1224.
9. Minton E.J., Smillie D., Smith P. Clearance of hepatitis C virus is not associated with single nucleotide polymorphisms in the IL-1, -6, or -10 genes // Human Immunology. – 2005. – V.66. – P. 127-132.
10. Rauch A., Kotalik Z., Descombes P. et al. Genetic variation in IL28B is associated with chronic hepatitis C and treatment failure: a genome-wide association study // Gastroenterology. – 2010. – V.138, N4. – P. 1331-1345.
11. Rosen H.R. Chronic hepatitis C infection. Clinical practice // The New England Journal of Medicine. – 2011. – V.364. – P. 2429-2438.
12. Stattermayer A., Stauber R., Hofer H. et al. Влияние генотипа IL28B на ранний и устойчивый вирусологические ответы у ранее не леченных больных хроническим гепатитом С // Клиническая гастроэнтерология и гепатология. Русское издание. – 2011. – Т.4, №3. – С. 139-147.
13. Suppiah V., Moldovan M., Ahlenstiel G. et al. IL28B is associated with response to chronic hepatitis C interferon-alpha and ribavirin therapy // Nature genetics. – 2009. – V.41, N10. – P. 1100-1104.
14. Tanaka Y., Furuta T., Suzuki S., et al. Impact of interleukin-1 beta genetic polymorphisms on the development of hepatitis C virus-related hepatocellular carcinoma in Japan // The Journal of Infectious Diseases. – 2003. – V.18711. – P. 1822-1825.

Информация об авторах

Лобанова Ольга Леонидовна – врач-инфекционист филиала «Психиатрическая больница» федерального казенного учреждения здравоохранения Медико-санитарная часть №67 Федеральной службы исполнения наказаний России. E-mail: lobanova2006@mail.ru.

Рафальский Владимир Витальевич – доктор медицинских наук, профессор, заведующий Научно-исследовательским центром Государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионально образования ГБОУ ВПО «Смоленский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. E-mail: v.rafalskiy@mail.ru

Храмцов Михаил Михайлович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой инфекционных болезней с эпидемиологией Государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионально образования ГБОУ ВПО «Смоленский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. E-mail: milaxram@yandex.ru.