

*Д. Е. Данилов¹, Д. В. Литвинчук¹, О. Д. Левданский²,
И. А. Карпов¹, О. Г. Давыденко², Н. Г. Давыденко²,
В. С. Панкратов², Н. В. Соловей¹, М. С. Родькин²*

**ВЛИЯНИЕ ОДНОНУКЛЕОТИДНОГО ПОЛИМОРФИЗМА
ГЕНА IL28B НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ ТЕРАПИИ
ПЕГ-ИФН/РИБАВИРИНОМ ПАЦИЕНТОВ С 1 ГЕНОТИПОМ
ХРОНИЧЕСКОГО ВИРУСНОГО ГЕПАТИТА С**

*УО «Белорусский государственный медицинский университет»¹,
Институт генетики и цитологии НАН Беларуси²*

*Проведено исследование влияния полиморфизма rs12979860 гена IL28b на эффективность
терапии хронического вирусного гепатита С пегилированным интерфероном в сочетании*

с рибавирином. Выявлена статистически значимая благоприятная предикция генотипа СС в плане достижения устойчивого вирусологического ответа, показаны результаты эффективности двухкомпонентной терапии, проведено сравнение влияния типа пегилированного интерферона (ПегИФН α 2а или ПегИФН α 2b) на результат терапии. Произведена оценка влияния других факторов на результат терапии. Подтверждено в качестве предиктора эффективности снижение уровня гемоглобина в процессе противовирусной терапии пегилированными интерферонами и рибавирином. Приведен краткий литературный обзор по изучаемой теме.

Ключевые слова: IL28b, полиморфизм rs12979860, терапия хронического вирусного гепатита С, пегилированный интерферон, уровень гемоглобина.

**D. E. Danilau, D. V. Litvinchuk, A. D. Liaudanski,
I. A. Karpov, O. G. Davydenko, N. G. Davydenko,
V. S. Pankratov, N. V. Solovay, M. S. Rodzkin**

EFFECT OF IL28B SNP ON EFFICACY OF ANTIVIRAL THERAPY WITH PEG-IFN/RIBAVIRIN IN CHRONIC HEPATITIS C G1 PATIENTS

In this study authors report on effect of interleukin 28B (IL28B) rs12979860 single nucleotide polymorphism (SNP) on treatment outcome in chronic hepatitis C patients receiving antiviral therapy with pegylated interferons and ribavirin. Favourable effect (i. e. achievement of sustained virological response) of IL28B CC genotype was found at statistically significant level. Efficacy of interferon-based scheme (pegylated interferons and ribavirin) was shown, effects of different types of pegylated interferons (PEGIFN α 2a and PEGIFN α 2b) was evaluated. Impact of other host factors (normalization of ALT and total bilirubin level, history of prior interferon-based therapy) on treatment result was also assessed. Commonly known positive impact of low hemoglobin level due to antiviral therapy with pegylated interferons and ribavirin was also confirmed in this study. Brief review of literature of this issue is given.

Key words: IL28B, rs12979860 SNP, antiviral therapy for chronic hepatitis C, pegylated interferon, hemoglobin level.

Около 3% мирового населения инфицируется вирусом гепатита С в течение жизни, а более 80% инфицированных (свыше 170 миллионов в настоящее время) страдают хронической формой заболевания. Риск развития цирроза и/или рака печени у данной группы пациентов значительно выше, чем в общей популяции. Известно, что между риском развития цирроза и длительностью HCV-инфекции без лечения существует экспоненциальная зависимость. Через 20 лет после инфицирования цирроз сформируется у 16%, в то время как через 30 лет – у 41% [1]. Гепатоцеллюлярная карцинома развивается у 1–3% пациентов с хронической HCV-инфекцией через 30 лет естественного течения (без этиотропной терапии) [2].

Терапия хронической HCV-инфекции с применением пегилированных интерферонов и рибавирина имеет успех, по различным данным, в 40–54% случаев [3], а также может сопровождаться серьезными побочными эффектами. Поэтому индивидуализация показаний к терапии на основании генетических особенностей пациентов представляется крайне важной.

В начале 2003 года были описаны представители нового типа интерферонов (III тип), в настоящее время известные как ИФН λ . Данные интерфероны кодируются тремя генами: ИФН λ 1 (IL29), ИФН λ 2 (IL28A), ИФН λ 3 (IL28B) [4, 5].

В 2009 году Ge et al. опубликовали результаты исследования полногеномных ассоциаций (GWAS, genome-wide association study) при терапии хронической HCV-инфекции ПегИФНа и рибавирином, в которое вошли 1600 наивных (ранее не лечившихся) пациентов с 1 генотипом HCV из исследования IDEAL. Авторы указывали на наличие однонуклеотидного полиморфизма (SNP, single nucleotide polymorphism) перед геном IL28B на 19 хромосоме, ассоциированного с вероятностью успеха этиотропной терапии [6]. В исследовании Tanaka et al. подобные результаты были получены для японской популяции с хронической HCV-инфекцией (1 генотип) [7].

Известно, что вероятность успеха терапии ПегИФН и рибавирином у пациентов с генотипом IL28b CC составляет приблизительно 80%, в то время как у пациентов с генотипом IL28b TT – всего около 25%. Вероятность успешной терапии при генотипе IL28b CT находится между таковыми при генотипах CC и TT, и составляет, по различным оценкам, 20–40% [6, 7].

Частота благоприятного для лечения генотипа IL28B варьирует у различных рас. Среди азиатской популяции благоприятный генотип наблюдается у более чем 80% представителей, среди европеоидной – у 35–55%, и менее чем у 20% представителей негроидной расы [8]. Данное распределение генотипов IL28B отчасти

□ Оригинальные научные публикации

объясняет, почему терапия хронической HCV-инфекции ПегИФН и рибавирином малоэффективна у представителей негроидной расы, имеет умеренную эффективность у европеоидной расы, а также наиболее эффективна среди пациентов азиатской расы. Тем не менее, генотип IL28B и этническое происхождение пациента являются независимыми предикторами УВО при лечении ПегИФН и рибавирином [9].

Материалы и методы

Изначально для участия в исследовании было отобрано 192 пациента с хроническим вирусным гепатитом С, которым проводилась терапия ПегИФН и рибавирином в Центре инфекционной гепатологии на базе ГКИБ г. Минска в период с 2008 по 2015 гг. Хранение и сортировка медицинской информации осуществлялась при помощи **MS Access 2010**, **MS Excel 2010**, статистическая обработка выполнена при помощи **IBM SPSS Statistics 22.0**. Определение статистической мощности выполнялось при помощи **GPower 3.1 Universität Düsseldorf**. Для оценки нормальности распределения использован критерий Шапиро-Уилка. Для оценки влияния независимых переменных на результат лечения использовался непараметрический Н тест Краскала-Уоллиса для К выборок. При условии наличия статистически значимой разницы между К выборками, далее проводились серии попарных Н тестов Краскала-Уоллиса. Учитывая, что число попарных сравнений для всех исследуемых переменных не превышало 4, поправка Бонферрони не использовалась [10]. Для статистически значимых различий приведены значения хи-квадрат (степени свободы) и величина эффекта η^2 . Характеристика η^2 приведена согласно Cohen, 1988. Если не было указано иное, статистически значимым считалось значение двустороннего $P < 0,05$.

Были определены следующие критерии исключения пациентов из исследования:

- 1) «короткоживущий» интерферон в схеме терапии;
- 2) генотип вируса гепатита С, отличный от 1 генотипа;
- 3) досрочная отмена терапии в любые сроки (как самостоятельная отмена пациентом, так и отмена ввиду осложнений терапии);
- 4) злокачественные опухоли любой локализации, в том числе гепатоцеллюлярная карцинома;
- 5) пациенты после трансплантации печени.

У 15 из 192 пациентов генотип HCV отличался от 1 генотипа, у 57 из 192 пациентов в схеме лечения применялся «короткоживущий» интерферон, ещё у 10 из 192 пациентов отсутствовали необходимые лабораторные анализы в контрольных точках, у 11 из 192 пациентов этиотропная терапия была прервана (в том числе 3 пациента отменили терапию самостоятельно). Из оставшихся 97 на данный момент терапию продолжают 19 пациентов. Таким образом, для анализа было отобрано 78 пациентов.

Результаты и обсуждение

Общая характеристика исследуемой выборки.

Количество пациентов $N = 78$. Мужчин 35, женщин 43. Соотношение М/Ж = 1/1,23.

Медиана возраста составила 36 лет с минимальным возрастом 21 год и максимальным 64 года.

Эластография перед стартом терапии либо в ближайшее время после старта выполнялась у 40% (31/78). Отсутствие фиброза (F0) наблюдалось у 22,6% (7/31) пациентов, фиброз F0-F1 у 9,7% (3/31), фиброз F1 у 16,1% (5/31), фиброз F1-F2 у 19,4% (6/31), фиброз F2 у 6,5% (2/31), фиброз F2-F3 у 6,5% (2/31), фиброз F3 у 6,5% (2/31), фиброз F3-F4 у 6,5% (2/31), фиброз F4 у 6,5% (2/31). Трансформация в цирроз наблюдалась у 6,4% (5/78) пациентов.

Уровень общего билирубина при старте терапии был повышен у 43,6% (34/78) пациентов. Медиана уровня общего билирубина составила 16,17 мкмоль/л (межквартильный диапазон 13,37–21,5 мкмоль/л).

Уровень АЛТ при старте терапии был повышен у 37,2% (29/78) пациентов. Медиана уровня АЛТ составила 52,3 Ед/л (межквартильный диапазон 36,5–87,5 Ед/л). За верхнюю границу нормы АЛТ принято 65 Ед/л.

Генотип СС встречался у 14% (11/78) пациентов, генотип СТ у 61,5% (48/78), генотип ТТ у 24,5% (19/78) пациентов.

Медиана вирусной нагрузки при старте терапии составила 890000 МЕ/мл (межквартильный диапазон 375000–2120000 МЕ/мл), с минимальной 10000 МЕ/мл и максимальной вирусной нагрузкой 24000000 МЕ/мл.

Субтипирование HCV выполнялось у 35,9% (28/78), субтип 1a встречался в 7,1% (2/28) случаев, субтип 1b в 71,4% (20/28), субтип 1a/1b в 21,5% (6/28) случаев.

11,5% (9/78) пациентов имели предшествующую этиотропную терапию ПегИФН и рибавирином в анамнезе, у остальных 88,5% (69/78) этиотропная терапия ХВГС ранее не проводилась.

У 44,9% (35/78) лечение проводилось с применением ПегИФНа2а, у 55,1% (43/78) – при помощи ПегИФНа2b.

У 15,4% (12/78) зарегистрированы единичные случаи задержки инъекций ПегИФН (не приведшие к изменению режима дозирования), у 20,5% (16/78) потребовалась коррекция (снижение) дозы ПегИФН. Дозировка рибавирина снижалась у 36% (28/78) пациентов. Одновременная коррекция дозы ПегИФН и рибавирина проводилась у 9% (7/78). У части пациентов, которым требовалось снижение дозы рибавирина, уровень гемоглобина на 12 неделе терапии был ниже, чем у пациентов, у которых коррекция дозы рибавирина не проводилась (115 г/л против 128 г/л, t-критерий, $t = 3,723$, $p < 0,05$).

Среди 78 пациентов, завершивших курс терапии ПегИФН и рибавирином результаты терапии распределились следующим образом (рисунок):

- полный неотвѣт – 23,1% (18/78),
 - частичный неотвѣт – 12,8% (10/78),
 - вирусологический прорыв – 5,1% (4/78),
 - рецидив после терапии 10,3% (8/78),
 - непосредственный вирусологический ответ – 14,1% (11/78),
 - устойчивый вирусологический ответ 34,6% (27/78).
- Зависимая переменная, определяющая результат терапии, была определена как порядковая переменная.

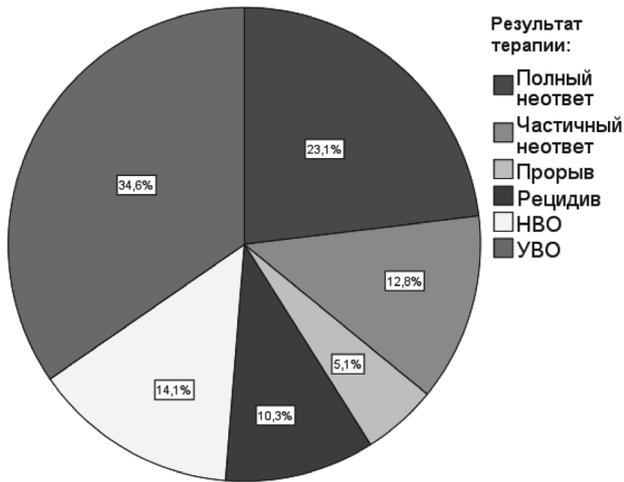


Рисунок. Результат терапии ПегИФН/рибавирином пациентов с 1 генотипом хронического вирусного гепатита С (N = 78)

ная с градацией от 1 до 6, где 1 означает наиболее неблагоприятный результат (полный неответ), а 6 – наиболее благоприятный результат (устойчивый вирусологический ответ).

Обнаружена статистически значимая разница для результата терапии в зависимости от генотипов IL28B (CC, CT, TT), $\chi^2(df 2) = 9,306$, $p = 0,008$, медиана для CC – 6 (УВО), медиана для CT – 5 (НВО), медиана для TT 2 (частичный вирусологический ответ).

Проведена серия попарных H тестов Краскала-Уоллиса для 2 групп (CC – TT, CC – CT, CT – TT).

Последующий H тест Краскала-Уоллиса для 2 групп выявил статистически значимую разницу в эффективности терапии для генотипов IL28b CC и TT, $\chi^2(df 1) = 8,869$, $p = 0,002$, $\eta^2 = 0,306$; медиана для CC – 6 (УВО, плюс интерквартильный диапазон находится в пределах УВО и НВО), медиана для TT – 2 (частичный неответ). Согласно критериям Козна, $\eta^2 > 0,26$ является сильным эффектом (30,6% вариаций результата лечения может быть обусловлено генотипом CC).

Статистически значимые различия в эффективности терапии у пациентов с генотипом IL28b CC и CT не были обнаружены на двустороннем уровне ($\chi^2(df 1) = 3,075$, $p = 0,079$), однако односторонняя оценка p позволяет принять данные различия как статистически значимые ($p = 0,04$).

Обнаружена статистически значимые различия в эффективности терапии для генотипов CT и TT, $\chi^2(df 1) = 4,102$, $p = 0,042$, $\eta^2 = 0,062$; медиана для CT – 5 (НВО), медиана для TT – 2 (частичный неответ).

Нами также была произведена оценка других факторов на предмет влияния на результат этиотропной терапии:

Влияние предшествующей терапии интерферонами в анамнезе: не выявлено статистически значимой разницы (H Краскала-Уоллиса, $p = 0,309$).

Не выявлено статистически значимого влияния типа ПегИФН (ПегИФН α 2a или ПегИФН α 2b) на результат терапии (H Краскала-Уоллиса, $p = 0,151$).

Нормализация уровня АЛТ на 12 неделе терапии не была связана с вероятностью достижения благоприятного результата (H Краскала-Уоллиса, $p = 0,122$).

Нормализация уровня общего билирубина на 12 неделе терапии не связана с вероятностью достижения благоприятного результата (H Краскала-Уоллиса, $p = 0,565$).

Факт снижения дозы рибавирина был связан с большей вероятностью успешной терапии (H Краскала-Уоллиса, $\chi^2(df 1) = 4,188$, $p = 0,041$, $\eta^2 = 0,054$). Медиана для «коррекции дозы рибавирина» – 5 (НВО), медиана для «без коррекции дозы рибавирина» – 3 (вирусологический прорыв).

Выводы

1. Полиморфизм rs12979860 гена IL28b статистически значимо влияет на эффективность терапии ХВГС ПегИФН и рибавирином. Генотип CC является наиболее благоприятным (CC>TT, $\chi^2(df 1) = 8,869$, $p = 0,002$, $\eta^2 = 0,306$; CT>TT, $\chi^2(df 1) = 4,102$, $p = 0,042$, $\eta^2 = 0,062$).

2. У пациентов со снижением уровня гемоглобина, которое привело к последующей коррекции (снижению) дозы рибавирина, чаще наблюдался благоприятный результат терапии ($\chi^2(df 1) = 4,188$, $p = 0,041$, $\eta^2 = 0,054$).

Литература

- Hajarizadeh, B. Grebely, J. & Dore, G. J. Epidemiology and natural history of HCV infection / B. Hajarizadeh, J. Grebely, G. J. Dore // Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology. – 2013. – Vol. 10, № 9. – P. 553–562.
- Grebely, J. & Dore, G. What Is Killing People with Hepatitis C Virus Infection? / J. Grebely, G. Dore // Seminars in Liver Disease. – 2011. – Vol. 31, № 04. – P. 331–339.
- Manns, M. P. et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial / M. P. Manns et al. // Lancet. – 2001. – Vol. 358, № 9286. – P. 958–965.
- Donnelly, R. P. & Kotenko, S. V. Interferon-Lambda: A New Addition to an Old Family / R. P. Donnelly, S. V. Kotenko // Journal of Interferon & Cytokine Research. – 2010. – Vol. 30, № 8. – P. 555–564.
- Kotenko, S. V. IFN- λ s / S. V. Kotenko // Current Opinion in Immunology. – 2011. – Vol. 23, № 5. – P. 583–590.
- Ge, D. et al. Genetic variation in IL28B predicts hepatitis C treatment-induced viral clearance / D. Ge et al. // Nature. – 2009. – Vol. 461, № 7262. – P. 399–401.
- Tanaka, Y. et al. Genome-wide association of IL28B with response to pegylated interferon- α and ribavirin therapy for chronic hepatitis C / Y. Tanaka et al. // Nature Genetics. – 2009. – Vol. 41, № 10. – P. 1105–1109.
- Matsuura, K. Watanabe, T. & Tanaka, Y. Role of IL28B for chronic hepatitis C treatment toward personalized medicine: Personalized chronic hepatitis C treatment / K. Matsuura, T. Watanabe, Y. Tanaka // Journal of Gastroenterology and Hepatology. – 2014. – Vol. 29, № 2. – P. 241–249.
- Thompson, A. J. et al. Interleukin-28B Polymorphism Improves Viral Kinetics and Is the Strongest Pretreatment Predictor of Sustained Virologic Response in Genotype 1 Hepatitis C Virus / A. J. Thompson et al. // Gastroenterology. – 2010. – Vol. 139, № 1. – P. 120–129. e18.
- Keselman, H. J. Games, P. A. & Rogan, J. C. Protecting the overall rate of Type I errors for pairwise comparisons with an omnibus test statistic. / H. J. Keselman, P. A. Games, J. C. Rogan // Psychological Bulletin. – 1979. – Vol. 86, № 4. – P. 884–888.

Поступила 10.06.2015 г.