

© Коллектив авторов, 2013

В.Х.ФАЗЫЛОВ<sup>1</sup>, В.П. ЧУЛАНОВ<sup>3</sup>, Э.Р. МАНАПОВА<sup>1</sup>, И.В. КАРАНДАШОВА<sup>3</sup>,  
В.А. ДОЛГИН<sup>3</sup>, А.Т. БЕШИМОВ<sup>2</sup>

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВАРИАНТОВ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА ИНТЕРЛЕЙКИНА-28В У ПАЦИЕНТОВ С СОЧЕТАННОЙ ИНФЕКЦИЕЙ ХГС/ВИЧ

<sup>1</sup>Казанский государственный медицинский университет;

<sup>2</sup>Республиканский центр по профилактике и борьбе со СПИДом и инфекционными заболеваниями Министерства здравоохранения Республики Татарстан, Казань;

<sup>3</sup>Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва

**Цель исследования.** Выявление полиморфизма единичных нуклеотидов (ПЕН) в локусах *rs8099917* и *rs12979860* гена интерлейкина 28В (ИЛ-28В) у пациентов с сочетанной инфекцией хронический гепатит С/ВИЧ (ХГС/ВИЧ) и его значение в частоте достижения вирусологического ответа при комбинированной противовирусной терапии ПегИФН- $\alpha$ -2а и рибавирином. **Материалы и методы.** У 43 пациентов (из них 67% мужчин) с ХГС/ВИЧ в возрасте  $32,91 \pm 0,58$  года со сроком инфицирования HCV до 10 лет, ВИЧ –  $6,89 \pm 0,53$  года выявляли ПЕН в локусах *rs8099917* и *rs12979860* гена ИЛ-28В с помощью набора реагентов «АмплиСенс® Геноскрин-IL28B-FL». **Результаты.** Выявлено достаточно частое распространение благоприятных генотипов СС и ТТ гена ИЛ-28В, а также их сочетания, особенно при HCV генотипа 3; у этих же пациентов был более выражен воспалительный процесс на фоне высокой вирусной нагрузки РНК HCV. **Заключение.** Определение ПЕН *rs12979860* и *rs8099917* гена ИЛ-28В у ВИЧ-инфицированных имеет практическое значение для получения вирусологических ответов при противовирусной терапии ХГС. Стойкий вирусологический ответ был достигнут у 80,95% пациентов с благоприятными генотипами СС и ТТ.

**Ключевые слова:** сочетанная инфекция хронический гепатит С/ВИЧ, ИЛ-28В, лечение хронического гепатита С.

V.Kh. FAZYLOV<sup>1</sup>, V.P. CHULANOV<sup>3</sup>, E.R. MANAPOVA<sup>1</sup>, I.V. KARANDASHOVA<sup>3</sup>,  
V.A. DOLGIN<sup>3</sup>, A.T. BESHIMOV<sup>2</sup>

## DETERMINATION OF INTERLEUKIN-28B GENE POLYMORPHIC VARIANTS IN PATIENTS WITH MIXED CHC/HIV INFECTION

<sup>1</sup>Kazan State Medical University;

<sup>2</sup>Republican Center for Prevention and Control of AIDS and Infectious Diseases, Ministry of Health of the Republic of Tatarstan, Kazan;

<sup>3</sup>Central Research Institute of Epidemiology, Russian Inspectorate for the Protection of Consumer Rights and Human Welfare, Moscow

**Objective.** To identify single nucleotide polymorphism (SNP) at the *rs8099917* and *rs12979860* loci of the interleukin 28B (IL-28B) gene in patients with mixed chronic hepatitis C/HIV (CHC/HIV) infection and to estimate its value in the rate of virologic response to combination antiviral therapy with Peg-IFN- $\alpha$ -2a and ribavirin. **Subjects and methods.** An AmpliSens® Genoscreen-IL28B-FL kit was used to identify SNP at the *rs8099917* and *rs12979860* loci of the interleukin 28B (IL-28B) gene in 43 patients (67% were males) aged  $32.91 \pm 0.58$  years with the duration of HCV and HIV infection being less than 10 years and  $6.89 \pm 0.53$  years, respectively. **Results.** There were rather common favorable IL-28B genotypes CC and TT and their combination, in HCV genotype 3 in particular; the same patients were found to have a more pronounced inflammatory process with a high HCV RNA load. **Conclusion.** The identification of IL-28B SNP (*rs12979860* and *rs8099917*) in HIV infected individuals is of practical importance in achieving virologic responses to antiviral therapy for CHC. A sustained virologic response was achieved in 80.95% of the patients with favorable genotypes CC and TT.

**Key words:** mixed chronic hepatitis C/HIV infection, IL-28B, treatment of chronic hepatitis C.

Стойкий вирусологический ответ (СВО – отсутствие РНК HCV через 24 нед после окончания терапии) при назначении комбинированной терапии достигается у 27–44% больных с сочетанной инфекцией хронический гепатит С/ВИЧ (ХГС/ВИЧ) [1]. Надежными прогностическими факторами для получения СВО являются генотип 2 или 3 HCV, низкая (< 400 000 МЕ/мл) вирусная нагрузка РНК HCV в ПЦР, молодой возраст, достижение быстрого вирусологического ответа (БВО – неопределяемый уровень РНК HCV через 4 нед лечения). Одним из факторов «хозяина», значимо влияющим на результаты противовирусной терапии (ПВТ), является этническая принадлежность: при инфицировании HCV генотипа 1 низкая частота СВО отмечается среди афроамериканцев [2], тогда как у лиц азиатской этнической группы регистрируются самые высокие показатели СВО [3] в сравнении с евроамериканцами [4]. Это стало основой для поиска генетически детерминированных факторов организма человека, определяющих гетерогенность ответа на лечение ХГС. С определением генотипа пациента по интерлейкину-28В (ИЛ-28В) стало возможно изменить алгоритм принятия решения о лечении путем изменения длительности как стандартного курса терапии ПегИФН- $\alpha$ -2а и рибавирином, так и длительности тройной ПВТ ХГС, что позволяет избежать многих дополнительных проблем при лечении пациентов с высокой вероятностью положительного ответа при назначении терапии (избежать дополнительных побочных эффектов и дополнительных затрат на тройную ПВТ с включением ингибиторов протеазы – телупревира и боцепревира). В зависимости от нуклеотидов в локусах выделены аллели С (цитозин), Т (тимин), G (гуанин) и соответствующие генотипы: для аллели rs12979860 гена ИЛ-28В – CC, CT, TT, для аллели rs8099917 – TT, TG, GG. У пациентов белой расы – носителей генотипа CC (т. е. гомозиготы по аллели С) регистрируется двукратная разница (95% ДИ 1,8–2,3) в частоте достижения СВО по сравнению с носителями генотипов CT и TT полиморфизма rs12979860 гена ИЛ-28В. Подобная частота достижения СВО в зависимости от варианта генотипа данного полиморфизма человека выявлена как у афроамериканцев, так и у американцев испанского происхождения. Отмечено, что частота распространения аллели С значительно меньше у больных ХГС по сравнению с группой контроля (здоровые лица) той же этнической принадлежности. Это предполагает ассоциацию аллели С с более высокой частотой спонтанного клиренса HCV [5]. Полиморфизм единичных нуклеотидов (ПЕН) в аллелях rs8099917 и rs12979860 гена ИЛ-28В оказывает существенное влияние на частоту достижения СВО и у ко-инфицированных пациентов [6]. При оценке значения другого варианта полиморфизма выявлена ассоциация аллели G полиморфизма rs8099917 гена ИЛ-28В с неэффективностью ПВТ у пациентов с ХГС и ко-инфицированных [7, 8].

Учитывая актуальность изучения генетически детерминированных факторов человека – предик-

торов ответа на ПВТ больных ХГС, целью изучения стало выявление ПЕН в локусах rs8099917 и rs12979860 гена ИЛ-28В у пациентов с ХГС/ВИЧ и его значение в частоте достижения вирусологического ответа при комбинированной ПВТ ПегИФН- $\alpha$ -2а и рибавирином.

## Материалы и методы

В исследование были включены 43 пациента с ХГС/ВИЧ в возрасте  $32,91 \pm 0,58$  года (среди них 67% мужчин и 33% женщин) со сроком инфицирования HCV до 10 лет, ВИЧ –  $6,89 \pm 0,53$  года. Исходные показатели активности HCV-инфекции определялись высокой (> 400 000 МЕ/мл) вирусной нагрузкой РНК HCV у 81% больных; генотипом 1 у 16 (37%), генотипом 3 – у 27 (63%) исследуемых; уровнем АЛТ  $85,46 \pm 7,73$  Ед/л ( $N = 23,19 \pm 9,93$  Ед/л), у мужчин –  $81,29 \pm 7,69$  Ед/л ( $N = 22,6 \pm 1,26$  Ед/л), у женщин –  $44,85 \pm 6,23$  Ед/л ( $N = 19,23 \pm 1,2$  Ед/л). 26 (60,5%) пациентов получали антиретровирусную терапию, из них 14 (53,8%) имели неопределяемый уровень РНК ВИЧ в крови. Медиана абсолютного числа CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов –  $0,400 \pm 0,04$  клеток/мкл, относительного –  $25,41 \pm 2,41\%$ . У 17(39,5%) больных, не получавших лечения, вирусная нагрузка РНК ВИЧ в ПЦР была низкой (< 10 000 копий/мл), у 11 (64,8%) уровень CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов составил  $0,470 \pm 0,04$  клеток/мкл ( $25,33 \pm 2,15\%$ ). В исследование не включали лиц с аутоиммунными и другими хроническими декомпенсированными системными заболеваниями; пациентов с микст-гепатитами, циррозом печени, а также имеющих степень фиброза больше F3 (по результатам фиброэластометрии по шкале METAVIR); больных с алкогольной болезнью или принимающих алкоголь, психоактивные вещества в течение последних 6 мес. до начала лечения; пациентов с нейтропенией < 1500 клеток/мкл, тромбоцитопенией < 90 000 клеток/мкл, низкой концентрацией гемоглобина (для женщин – < 120 г/л, для мужчин – < 130 г/л); беременных и кормящих женщин; мужчин, имеющих беременных половых партнеров.

Диагноз «ХГС и ВИЧ-инфекция» устанавливался на основании эпидемиологических и клинико-лабораторных данных и подтверждался выявлением специфических маркеров инфицирования HCV и ВИЧ методом ИФА и иммуноблота, а также детекцией РНК HCV (с генотипированием) и РНК ВИЧ методом ПЦР (качественный и количественный методы). Чувствительность качественного метода ПЦР для обнаружения РНК HCV составила 15 МЕ/мл, количественного – 150 МЕ/мл; для определения РНК ВИЧ порог составил 150 копий/мл. Выявление ПЕН в локусах rs8099917 и rs12979860 гена ИЛ-28В проводили с помощью набора реагентов «АмплиСенс® Геноскрин-IL28В-FL» в лаборатории вирусных гепатитов отделения молекулярной диагностики Центрального НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора (Москва).

Статистическую обработку данных проводили с использованием MS Excel 2003 и подсчетом критерия Стьюдента (*t*).

**Таблица 1. Частота распределения генотипов ПЕН rs12979860 и rs8099917 в зависимости от вирусной нагрузки РНК HCV, генотипа и воспалительной активности HCV-инфекции**

Показатель	rs12979860				rs8099917			
	CC (n = 23)		СТ и ТТ (n = 20)		ТТ (n = 30)		TG и GG (n = 13)	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Генотип HCV:								
1	6	26	10	50	10	33	5	38
3	17	74	10	50	20	67	8	62
РНК HCV, МЕ/мл:								
> 400 000	18	78	15	75	25	83	10	77
< 400 000	5	22	5	25	5	17	3	23
АлАТ:								
< 3 N	5	22	7	35	6	20	6	46
3 N – 5 N	8	35	10	50	11	37	6	46
> 5 N	10	43	3	15	13	43	1	8

### Результаты и обсуждение

В ходе проведенного генетического анализа выявлено, что частота встречаемости неблагоприятных генотипов СТ и ТТ полиморфизма rs12979860 и TG и GG полиморфизма rs8099917 гена ИЛ-28В составила соответственно 49 и 33%, в то время как благоприятные варианты генотипов CC полиморфизма rs12979860 и ТТ полиморфизма rs12979860 регистрировались соответственно у 51 и 67% пациентов. Следует отметить, что генотип ТТ полиморфизма rs8099917 регистрировался достоверно чаще (67 и 33%,  $p < 0,01$ ) по сравнению с генотипами TG и GG той же аллели, являясь предиктором достижения СВО. Сочетание благоприятных генотипов CC полиморфизма rs12979860 и ТТ полиморфизма rs8099917 гена ИЛ-28В встречалось у 23 (53%) больных ХГС/ВИЧ, что, согласно литературным данным, тесно связано с быстрой вирусной кинетикой в первые 12 нед лечения – наиболее важным положительным предиктором ответа на ПВТ – и получением СВО у пациентов с ХГС/ВИЧ [9, 10]. При ХГС при благоприятных генотипах ПЕН гена ИЛ-28В отмечается низкий базовый уровень индукции ИФН-индуцированных генов, однако при ПВТ отмечается выраженная индукция

ИЛ-28В и соответственно ИФН-индуцированных генов, что проявляется высокой частотой СВО [11].

В настоящее время показано, что частота генотипа CC по ПЕН rs12979860 среди моноинфицированных лиц с HCV генотипов 2 и 3 составляет 46 и 55% соответственно, в то время как при HCV генотипа 1 – 33,5% [12]. В исследовании V. Soriano и соавт. [9] среди ко-инфицированных доля пациентов, зараженных HCV генотипа 1, среди носителей генотипа CC была меньше, чем среди носителей генотипов СТ и ТТ rs12979860 (44 и 68%, соответственно), в то время как HCV генотипа 3 обнаруживали чаще у носителей генотипа CC, чем среди носителей генотипов СТ и ТТ (43 и 19%). В нашем исследовании (табл.1) мы также отмечали, что у пациентов с HCV генотипа 3 достоверно чаще, чем у пациентов с HCV генотипа 1, выявляли благоприятные варианты генотипов CC полиморфизма rs12979860 (74 и 26%;  $p < 0,001$ ) и ТТ полиморфизма rs8099917 (67 и 33%;  $p < 0,01$ ). У носителей всех генотипов преобладала высокая вирусная нагрузка РНК HCV в ПЦР. У 43% пациентов с благоприятными генотипами CC rs12979860 и ТТ rs8099917 по сравнению с носителями других генотипов была значительно повышена (> 5 N) активность АлАТ.

**Таблица 2. Частота достижения вирусологического ответа в зависимости от генотипов rs12979860 и rs8099917 гена ИЛ-28В**

Вирусологический ответ	rs12979860				rs8099917			
	CC (n = 23)		СТ и ТТ (n = 20)		ТТ (n = 30)		TG и GG (n = 13)	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
БВО	19	82,6	10	50	23	76,7	6	46,2
РВО	20	86,96	16	80	27	90	9	69,2
На 24-й неделе лечения	17	73,9	19	95	24	80	12	92
На 48-й неделе лечения	19	82,6	16	80	28	93,3	7	53,8
СВО	17	73,9	13	65	23	76,7	7	53,8

Все пациенты получали ПВТ: ПегИФН- $\alpha$ -2а (пегасис – в дозе 180 мкг/нед) и рибавирин (800–1200 мг/сут в зависимости от массы тела) в течение 48 нед. Анти-НСV-терапию отменяли при обнаружении РНК НCV методом ПЦР на 24-й неделе лечения. БВО был достигнут у 29 (70,7%) пациентов, ранний вирусологический ответ (РВО) – у 36 (83,7%). Вирусологический ответ на 24-й неделе лечения определялся у 36 (87,8%) больных, на 48-й неделе – у 35 (87,5%). СВО получен у 30 (78,9%) обследованных с благоприятными генотипами СС (73,9%) и ТТ (76,7%) (табл. 2), а при их сочетании – у 17 (80,95%) из 21 пациента. Из 8 (21,1%) «неответчиков» 4 имели благоприятные генотипы СС и ТТ, 3 – сочетание СС и ТТ; антиретровирусную терапию получали 5 пациентов с НCV генотипа I.

Таким образом, результаты, полученные нами у пациентов с сочетанной инфекцией ХГС/ВИЧ, свидетельствуют о достаточно частом распространении благоприятных генотипов СС полиморфизма rs12979860 и ТТ полиморфизма rs8099917 гена ИЛ-28В, а также их сочетания, особенно при НCV генотипа 3. У таких пациентов был более выражен воспалительный процесс на фоне высокой вирусной нагрузки РНК НCV. Определение ПЕН rs12979860 и rs8099917 гена ИЛ-28В у ВИЧ-инфицированных имеет практическое значение для получения вирусологических ответов при ПВТ ХГС: СВО был достигнут у 80,95% пациентов с сочетанием благоприятных генотипов СС и ТТ.

### Литература/References

- Chung R.T., Andersen J., Volberding P., Robbins G.K., Liu T., Sherman K.E. et al. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin versus interferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C in HIV-coinfected persons. *N. Engl. J. Med.* 2004; 351: 451–459.
- Muir A.J., Bornstein J.D., Killenberg P.G. Atlantic Coast Hepatitis Treatment Group. Peginterferon alfa-2b and ribavirin for the treatment of chronic hepatitis C in blacks and non-Hispanic whites. *N. Engl. J. Med.* 2004; 350: 2265–2271.
- Missiha S., Heathcote J., Arenovich T., Khan K. Impact of Asian race on response to combination therapy with peginterferon alfa-2a and ribavirin in chronic hepatitis C. *Am. J. Gastroenterol.* 2007; 102: 2181–2188.
- Conjeevaram H.S., Fried M.W., Jeffers L.J., Terrault N.A., Wiley-Lucas T.E., Afdhal N. et al. Peginterferon and ribavirin treatment in African American and Caucasian American patients with hepatitis C genotype 1. *Gastroenterology* 2006; 131: 470–477.
- Ge D., Fellay J., Thompson A. J. et al. Genetic variation in IL28 B predicts hepatitis C treatment-induced viral clearance. *Nature* 2009; 461(7262): 399–401.
- Rallón N.I., Naggie S., Benito J.M., Medrano J., Restrepo C., Goldstein D. et al. Association of a single nucleotide polymorphism near the interleukin-28B gene with response to hepatitis C therapy in HIV/hepatitis C virus-coinfected patients. *AIDS* 2010; 24(8): F23–F29.
- Rauch A., Kutalik Z., Descombes P. et al. Genetic variation in IL28 B is associated with chronic hepatitis C and treatment failure: a genome-wide association study. *Gastroenterology* 2010; 138(4): 1338–1345.
- Aparicio E., Parera M., Franco S., Perez-Alvarez N., Tural C. et al. IL28B SNP rs8099917 is strongly associated with pegylated interferon-alpha and ribavirin therapy treatment failure in HCV/HIV-patients. *PLoS ONE* 2010; 5(10): e13771.
- Rallon N.I., Soriano V., Naggie S., Restrepo C., Goldstein D., Vispo E. et al. IL28B gene polymorphisms and viral kinetics in HIV/hepatitis C virus-coinfected patients treated with pegylated interferon and ribavirin. *AIDS* 2011; 25: 1025–1033.
- Labarga P., Barreiro P., Mira J.A., Vispo E., Rallon N., Neukam K. et al. Impact of IL28B polymorphisms on response to peginterferon plus ribavirin in HIV-HCV coinfected patients with prior non-response or relapse. *AIDS* 2011; 25: 1131–1133.
- Younossi Z.M., Bireddinc A., Estep M., Stepanova M., Afendy A., Baranova A. The impact of IL28B genotype on the gene expression profile of patients with chronic hepatitis C treated with pegylated interferon alpha and ribavirin. *Journal of Translational Medicine* 2012, 10:25 doi:10.1186/1479–5876–10–25.
- McCarthy J., Li J., Thompson A., Suchindran S., Lao X.Q., Patel K. et al. Replicated association between an IL28B gene variant and a sustained response to pegylated interferon and ribavirin. *Gastroenterology* 2010; 138: 2307–2314.

Поступила 19.03.13

\* \* \*

Список литературы оформлен в соответствии с рекомендациями Всероссийского института научной и технической информации (ВИНИТИ) РАН для учета ссылок на публикации в Российском Индексе Научного Цитирования (РИНЦ, www.elibrary.ru) и зарубежных библиографических базах.

### Для корреспонденции:

**Фазылов Вильдан Хайруллаевич** – д-р мед. наук, проф., зав. каф. инфекционных болезней Казанского государственного медицинского университета  
Адрес: 420012, Россия, Татарстан, Казань, ул. Бутлерова, д. 49.  
Телефон: +7(843)267–80–72  
E-mail: vildan47@rambler.ru  
For correspondence: Vildan H. Fazyilov, vildan47@rambler.ru

### Сведения об авторах:

**Чуланов Владимир Петрович** – канд. мед. наук, зав. научно-консультативным клинико-диагностическим центром Центрального НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, руководитель Референс-центра по мониторингу за вирусными гепатитами Роспотребнадзора; vladimir.chulanov@pcr.ru

**Манапова Эльвира Равиловна** – канд. мед. наук, ассистент каф. инфекционных болезней Казанского государственного медицинского университета; elveram@yandex.ru

**Карандашова Инга Вадимовна** – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаб. вирусных гепатитов отд. молекулярной диагностики и эпидемиологии Центрального НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора; inga.karandashova@pcr.ru

**Долгин Вадим Александрович** – мл. науч. сотр. лаб. вирусных гепатитов отд. молекулярной диагностики и эпидемиологии Центрального НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора; vadim.dolgin@pcr.ru

**Бешимов Айрат Талгатович** – канд. мед. наук, зав. отд-нием медико-социальной реабилитации больных ВИЧ-инфекцией Республиканского центра по профилактике и борьбе со СПИДом и инфекционными заболеваниями Министерства здравоохранения Республики Татарстан; beshimov@rambler.ru