

ИММУНОЛОГИЯ. ИММУНОГЕНЕТИКА

А. Л. Бурмистрова, А. В. Евдокимов, А. И. Файзуллина

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРЕДИКТОРОВ РАЗВИТИЯ УСТОЙЧИВОГО ВИРУСОЛОГИЧЕСКОГО ОТВЕТА ПРИ ТЕРАПИИ ВИРУСНОГО ГЕПАТИТА С

Проводится оценка влияния некоторых факторов на способность к развитию положительного ответа на противовирусную терапию пациентов с хроническим гепатитом С. Были рассмотрены следующие факторы: пол пациентов, вирусный генотип (1 и 3) и однонуклеотидные полиморфизмы, расположенные около человеческого гена IL28B (rs12979860 и rs8099917). На основании полученных данных построена математическая модель, позволяющая оценить вероятность развития благоприятного исхода при терапии вирусного гепатита С.

Ключевые слова: вирусный гепатит С, однонуклеотидные полиморфизмы, ген IL28B, rs12979860, rs8099917.

Введение. Гепатит С представляет собой серьезную проблему для здравоохранения в глобальном масштабе [1; 8; 9]. В 50–80 % случаев у больных развивается хроническая форма гепатита С, которая впоследствии может привести к тяжелейшим осложнениям: циррозу и первичному раку печени (гепатоцеллюлярной карциноме) [8; 9]. Стандартный курс противовирусной терапии при вирусном гепатите С предусматривает применение препаратов интерферона и рибавирина. Эффективность терапии определяется по результатам устойчивого вирусологического ответа (УВО) — отсутствию РНК вируса через 6 месяцев и более после отмены химических препаратов — и составляет около 50 % [8].

В ходе исследований, проведенных в ряде крупных зарубежных лабораторий, было определено несколько факторов, связанных с развитием УВО при терапии гепатита С, причём как со стороны организма хозяина, так и вируса: возраст, пол, этническая принадлежность, генотип ВГС [3]. Кроме того, в последнее время сразу несколько исследований подтвердили существование генетических детерминант организма хозяина, обуславливающих течение заболевания [2–4; 7]. Существенную роль играют, по-видимому, однонуклеотидные полиморфизмы, ассоциированные с генами группы IFN, к которым относится и ген IL28B [6; 10; 11].

Выбор темы данной работы обусловлен актуальностью проблемы поиска надёжных предикторов, в первую очередь генетических маркёров, позволяющих оптимизировать курс противовирусной терапии для лечения вирусного гепатита С, сведя к минимуму финансовые затраты и вред от побочного действия лекарственных средств.

Цель. Выявление комбинации маркёров, в том числе находящихся в тесной связи с геном IL28B, ассоциированных с устойчивым вирусологическим ответом на противовирусную терапию в группе пациентов с вирусным гепатитом С, проживающих в Южноуральском регионе.

Материалы и методы. В исследование были включены 80 пациентов Городского гепатитного центра при клинике Челябинской государственной медицинской академии (ЧГМА), проходивших курс стандартной терапии против вирусного гепатита С: 39 мужчин и 41 женщина, средний возраст — 39 лет. Отбор больных проводился специалистами Городского гепатитного центра. В исследование включены следующие оценочные показатели: пол пациентов, генотип вируса гепатита С; результаты полимеразной цепной реакции (ПЦР), направленной на выявление РНК вируса гепатита С в течение срока лечения.

Геномная человеческая ДНК была выделена из образцов крови, полученных от исследуемых пациентов, с помощью комплекта реагентов для выделения ДНК из клинического материала «ДНК-сорб-В» (ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии», Москва). Определение однонуклеотидного полиморфизма rs8099917 (нуклеотидная замена T/G) было проведено при помощи диагностического набора «TaqMan SNP Genotyping Assays» (Applied Biosystems, США) в ходе ПЦР. Точковый полиморфизм rs12979860 (нуклеотидная замена C/T) определялся с помощью диагностического набора компании «ДНК-Технология» (Москва) для ПЦР в реальном времени. Реакцию ПЦР проводили в амплификаторе «CFX96» (Bio-Rad, США).

Статистическая обработка данных была проведена при помощи средств программного пакета MedCalc версии 10.2.0.0. Для построения математической модели зависимости успеха лечения от нескольких факторов был использован метод множественной логистической регрессии.

Модель логистической регрессии имеет вид

$$\text{Логит}(P) = \text{Константа} + a_1X_1 + a_2X_2 + a_3X_3 + \dots + a_nX_n, \quad (1)$$

где P — вероятность отнесения пациента к группе заболевания;

a_i — коэффициенты регрессии ($i = 1, 2, 3, \dots, n$);

X_i — значения вошедших в модель показателей;

$$\text{Логит}(P) = \ln [P/(1 - P)].$$

По известным значениям коэффициентов регрессии рассчитывается Логит(P) и далее — само значение P :

$$P = 1/[1 + e^{-\text{Логит}(P)}]. \quad (2)$$

Если $P < 0,5$, пациента следует причислить к группе 0 (ненаступление интересующего события), если $P > 0,5$ — к группе 1 (наступление интересующего события).

Результаты и обсуждение. Распределение исследуемых пациентов по двум группам (развитие УВО и рецидив) в соответствии с оцениваемыми факторами (пол пациентов, вирусный генотип, генотип пациентов в точках rs8099917 и rs12979860) приведено в табл. 1.

Для определения предикторов благоприятного исхода лечения была построена модель множественной логистической регрессии. В целях устранения возможных искажений, которые могут быть внесены в модель, из рассмотрения были исключены больные, инфицированные ВГС 2 генотипа (2 наблюдения). Таким образом, объём выборки составил 78 человек ($n = 78$).

В качестве независимых параметров (предикторов) в полной модели логистической регрессии были выбраны 4 показателя: пол пациентов, генотип вируса (1 или 3), а также варианты генотипов пациентов по точкам rs12979860 (ТТ, СТ или СС) и rs8099917 (GG, TG или ТТ). Зависимой переменной являлся ответ на противовирусную терапию (рецидив или развитие УВО), за положительный исход было принято появление УВО. Данные, характеризующие полученную модель, приведены в табл. 2.

Анализ показал, что лишь два параметра из четырёх — генотип вируса и точковый полиморфизм rs12979860 — статистически значимо ($P < 0,05$) влияют на вероятность развития УВО по окончании противовирусной терапии. Эти показатели были отобраны для построения сокращённой модели, а остальные параметры, не являющиеся статистически значимыми, были исключены.

Таблица 1

Распределение пациентов в исследуемой группе в соответствии с определяемыми параметрами

Фактор		Группа пациентов с устойчивым вирусологическим ответом	Группа пациентов с рецидивом
Генотип по rs12979860	СС	30 (93,8 %)	2 (6,2 %)
	СТ	19 (55,9 %)	15 (44,1 %)
	ТТ	4 (28,6 %)	10 (71,4 %)
Генотип по rs8099917	ТТ	40 (83,3 %)	8 (16,7 %)
	TG	12 (42,9 %)	16 (57,1 %)
	GG	1 (25 %)	3 (75 %)
Пол	Муж.	26 (66,7 %)	13 (33,3 %)
	Жен.	27 (65,9 %)	14 (34,1 %)
Генотип вируса гепатита С	1	13 (37,1 %)	22 (62,9 %)
	2	2 (100 %)	0 (0%)
	3	38 (88,4 %)	5 (11,6 %)

Таблица 2

**Характеристика логистической регрессионной модели
для определения вероятности благоприятного исхода лечения вирусного гепатита С**

Показатель	Коэффициент регрессии ± стандартная ошибка	Отношение шансов (95 %-ный доверительный интервал)	Оценка значимости <i>P</i>
Полная модель			
rs12979860	1,3469±0,6611	3,845(1,052–14,049)	0,0416
rs8099917	0,5201±0,7027	1,682(0,424–6,669)	0,4592
Генотип вируса	2,4059±0,6749	11,089(2,954–41,626)	0,0004
Пол	-0,0013±0,6399	0,999(0,285–3,501)	0,9984
Константа	–2,6451		
Модель в целом: $\chi^2 = 38,07$, $df = 4$; $P < 0,0001$; чувствительность — 84,31 %; специфичность — 81,48 %; диагностическая эффективность — 82,90 %; площадь под ROC-кривой — 0,8790±0,0378			
Сокращённая модель			
rs12979860	1,6716±0,5062	5,321 (1,973–14,352)	0,0010
Генотип вируса	2,3807±0,6665	10,812 (2,928–39,923)	0,0004
Константа	–2,2389		
Модель в целом: $\chi^2 = 37,51$, $df = 2$; $P < 0,0001$; чувствительность — 86,27 %; специфичность — 77,78 %; диагностическая эффективность — 82,02 %; площадь под ROC-кривой — 0,8770±0,0382			

Согласно сокращённой модели (табл. 2), наличие у больного аллельных вариантов СС в точке rs12979860 увеличивает шанс развития УВО на противовирусную терапию по сравнению с вариантами СТ в 5,32 раза и в 28,31 раза — в сравнении с вариантами ТТ. Кроме того, 3-й генотип ВГС увеличивает шанс формирования УВО в 10,81 раза по сравнению с 1-м генотипом.

Выводы и заключение. Анализ результатов генотипирования человеческой геномной ДНК по точкам rs8099917 и rs12979860 с привлечением данных анамнеза исследуемых пациентов позволил построить статистическую модель, включающую основные параметры, связанные, согласно литературным источникам, с появлением/отсутствием УВО. Из всех параметров достоверно значимыми можно признать лишь два: вирусный генотип и точковый полиморфизм rs12979860. Наибольший вклад в вероятность развития УВО вносит генотип вируса (этому параметру отвечает самая большая величина коэффициента регрессии). Наиболее благоприятной для развития УВО комбинацией маркёров является 3-й генотип ВГС и аллельное сочетание СС по полиморфизму rs12979860 девятнадцатой хромосомы человека.

Список литературы

1. Afdhal, N. Hepatitis C pharmacogenetics: state of the art in 2010 / N. Afdhal [et al.] // *Hepatology*. 2011. Vol. 53. P. 336–345.
2. Alestig, E. Core mutations, IL28B polymorphisms and response to peginterferon/ribavirin treatment in Swedish patients with hepatitis C virus genotype 1 infection / E. Alestig [et al.] // *BMC Infectious Diseases*. 2011. Vol. 11. P. 1–7.
3. Balagopal, A. IL28B and the control of hepatitis C virus infection / A. Balagopal, D. Thomas, C. Thio // *Gastroenterology*. 2010. Vol. 139. P. 1865–1876.
4. Chen, J.-Y. IL28B genetic variations are associated with high sustained virological response (SVR) of interferon- δ plus ribavirin therapy in Taiwanese chronic HCV infection / J.-Y. Chen [et al.] // *Genes and Immunity*. 2011. № 12. P. 300–309.
5. Fried, M. Side effects of therapy of hepatitis C and their management // *Hepatology*. 2002. Vol. 36. P. 237–244.
6. Kelly, C. Interferon lambdas: the next cytokine storm / C. Kelly, P. Klenerman, E. Barnes // *Gut*. 2011. Vol. 60. P. 1284–1293.
7. Lin, C. IL28B SNP rs12979860 is a critical predictor for on-treatment and sustained virologic response in patients with hepatitis C virus genotype-1

infection / C. Lin [et al.] // PLoS One. 2011. № 6. P. 1–8.

8. Sugiyama, M. Novel findings for the development of drug therapy for various liver diseases: genetic variation in IL-28B is associated with response to the therapy for chronic hepatitis C / M. Sugiyama, Y. Tanaka, M. Nakanishi, M. Mizokami // J. of Pharmacol. Science. 2011. Vol. 115. P. 263–269.

9. Tavis, J. Prospects for personalizing antiviral therapy for hepatitis C virus with pharmacogenetics /

J. Tavis, M. Donlin, R. Aurora, X. Fan, A. Bisceglie // Genome Medicine. 2011. № 3. P. 1–9.

10. Thomas, D. Genetic variation in IL28B and spontaneous clearance of hepatitis C virus / D. Thomas [et al.] // Nature. 2009. Vol. 461. P. 798–801.

11. Urban, T. IL28B genotype is associated with differential expression of intrahepatic interferon-stimulated genes in patients with chronic hepatitis C / Urban T. [et al.] // Hepatology. 2010. Vol. 52. P. 1888–1896.