

# ВЗАИМОСВЯЗЬ ПОЛИМОРФИЗМОВ IL-28 $\beta$ С ЭФФЕКТИВНОСТЬЮ СОПУТСТВУЮЩЕЙ ТЕРАПИИ ВИЧ У ПАЦИЕНТОВ С КОИНФЕКЦИЕЙ ВИЧ/ВГС ПРИ ЛЕЧЕНИИ ГЕПАТИТА С

Е.С. Ковалева

ГБОУ ВПО Волгоградский государственный медицинский университет МЗ РФ, г. Волгоград, Россия

**Резюме.** Целью работы являлась оценка взаимосвязи полиморфизма rs8099917 IL-28 $\beta$  с изменением вирусной нагрузки ВИЧ и эффективностью высокоактивной антиретровирусной терапии при лечении хронического гепатита С у ВИЧ-инфицированных пациентов. В исследовании принимало участие 80 ВИЧ-инфицированных пациентов с вирусным гепатитом С, проходивших комплексное лечение пегилированным IFN $\alpha$  и рибавирином и получающих сопутствующую терапию ВИЧ. Молекулярно-генетический анализ полиморфизма гена IL 28b (rs8099917) и определение вирусной нагрузки ВИЧ проводили методом полимеразной цепной реакции с детекцией в режиме «реального времени». У 56,25% пациентов при сочетанной терапии ВИЧ и гепатита С при исследовании количества CD4 Т-лимфоцитов было выявлено значимое снижение количества CD4 Т-лимфоцитов в группах с генотипами TT и TG и уровня вирусной нагрузки РНК ВИЧ в группе с генотипом TT на всем протяжении лечения. Были сделаны выводы, что у ВИЧ-инфицированных пациентов, получающих сопутствующую терапию ВИЧ на протяжении лечения вирусного гепатита С, полиморфизм rs8099917 гена IL-28 $\beta$  влияет на динамику вирусной нагрузки РНК ВИЧ и может в совокупности с другими факторами использоваться как предиктор эффективности высокоактивной антиретровирусной терапии.

**Ключевые слова:** ВИЧ-инфекция, вирус гепатита С, сопутствующая терапия ВИЧ, эффективность лечения, полиморфизм IL-28 $\beta$ .

## Введение

Во время курса противовирусной терапии гепатита С одним из критериев эффективности лечения является изменение уровня РНК ВГС в сыворотке крови. Наличие раннего вирусологического ответа (отсутствие детекции РНК ВГС через 12 недель лечения) позволяет предсказать достижение устойчивого вирусологического ответа (отсутствие детекции РНК ВГС через 24 недели после завершения лечения) в 90% случаев, тогда как при непрерывной вирусемии (постоянная детекция РНК ВГС) без достижения РВО противовирусная терапия чаще всего неэффективна [6].

В ряде исследований была выявлена связь между полиморфизмом rs8099917 IL-28 $\beta$  и изменением вирусной нагрузки ВГС и частотой раннего вирусологического ответа [1, 9].

Полиморфизм rs8099917 IL-28 $\beta$  один из достаточно чувствительных и специфичных предикторов эффективности противовирусной терапии [7]. Наряду с другими прогностическими факторами, такими как пол, уровень активности трансаминаз и вирусной нагрузки данный полиморфизм имеет важное значение для оценки потенциального ответа на противовирусную терапию и отбора пациентов, у которых возможны более короткие курсы лечения [5, 11].

Генотип IL-28 $\beta$  может быть использован для определения необходимости включения в схему противовирусной терапии препаратов, оказывающих прямое противовирусное действие на ВГС — ингибиторов протеазы, таких как теллапревир или боцепревир [9, 10]. В целом полиморфизм IL-28 $\beta$  может использоваться как критерий, позволяющий индивидуализировать

---

### Автор:

Ковалева Е.С., ассистент кафедры клинической лабораторной диагностики ГБОУ ВПО ВолГМУ, г. Волгоград, Россия.

### Адрес для переписки:

Ковалева Екатерина Сергеевна,  
400131, Россия, г. Волгоград, пл. Павших борцов, 1.  
Тел.: (8442) 38-50-05; +7 903 316-04-71 (моб.).  
E-mail: katerina.cld@gmail.com

поступила в редакцию 24.08.2013  
принята к печати 10.10.2013

© Ковалева Е.С., 2013

лечение хронического гепатита С, в том числе и препаратами прямого действия [2, 8].

На сегодняшний день пациенты с вирусным гепатитом С зачастую также инфицированы ВИЧ. Во многих случаях антиретровирусная терапия назначается одновременно с терапией ВГС [11]. Учитывая установленную связь между полиморфизмом rs8099917 IL-28 $\beta$  и изменением вирусной нагрузки ВГС, можно предположить, что она существует и по отношению к вирусной нагрузке ВИЧ.

Цель исследования — оценить взаимосвязь полиморфизма rs8099917 IL-28 $\beta$  с изменением вирусной нагрузки ВИЧ и эффективностью высокоактивной антиретровирусной терапии при лечении хронического гепатита С у ВИЧ-инфицированных пациентов.

Задачи исследования:

1. исследовать динамику уровня вирусной нагрузки РНК ВИЧ и количество CD4 Т-лимфоцитов у пациентов на протяжении лечения;
2. определить генотипы полиморфизма rs8099917 IL-28 $\beta$  у пациентов, проходящих лечение вирусного гепатита С и получающих сопутствующую терапию ВИЧ;
3. выявить взаимосвязь аллельных вариантов полиморфизма rs8099917 IL-28 $\beta$  с изменением вирусной нагрузки ВИЧ и эффективностью лечения.

## Материалы и методы

Работа проводилась на базе кафедры клинической лабораторной диагностики ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава РФ — ГКУЗ «ВО Центр по профилактике и борьбе со СПИДом и ИЗ». Исследуемая группа состояла из 80 ВИЧ-инфицированных пациентов (возраст от 20 до 50 лет) с коинфекцией вирусом гепатита С и стадией ВИЧ ИИБ и IVA. Все пациенты получали противовирусную терапию рибавирином и ПЭГ-интерфероном альфа, которая в ряде случаев сочеталась с высокоактивной антиретровирусной терапией. Наличие ВИЧ-инфекции и вирусного гепатита С подтверждались с помощью иммуноферментного анализа и качественного ПЦР.

Материалом для исследования служила кровь, собранная из вены утром натощак в пробирки с  $\frac{1}{10}$  объема 3% ЭДТА. Молекулярно-генетический анализ полиморфизма гена IL 28b (rs8099917) проводили с использованием набора для определения полиморфизмов «ИммуноГенетика IL-28B» (ДНК-Технология, Москва) методом полимеразной цепной реакции с детекцией в режиме «реального времени» на приборе IQCyler (BioRad).

Определение количества CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов проводили методом проточной цитометрии на проточном цитофлуориметре BD

FACSCanto II (Becton Dickinson, США), с использованием моноклональных антител к поверхностным рецепторам лимфоцитов CD4<sup>+</sup>, меченные PE (Becton Dickinson, США).

Определение вирусной нагрузки проводилось методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флюоресцентной детекцией на приборе IQCyler (BioRad) с использованием набора реагентов «АмплиСенс ВИЧ-Монитор-FRT».

Статистическая обработка результатов проводилась на персональном компьютере с использованием программ Microsoft Excel 2007, Statsoft Statistica 8.0.

Данные, подчиняющиеся закону нормального распределения, описывались с помощью средней арифметической и стандартного отклонения ( $M \pm m$ ). Если распределение данных отличалось от нормального, определялась медиана ( $Me$ ), первый и третий квартили ( $Q_1$ ,  $Q_3$ ). Для оценки значимости различий между выборками с нормальным распределением использовался t-критерий Стьюдента, в противном случае применялся U-критерий Манна–Уитни. Критический уровень значимости ( $p$ ) при проверке статистических гипотез принимался равным 0,05. Оценка относительного риска и доверительных интервалов рассчитывались по Вульффу в программе Statsoft Statistica 8.0.

## Результаты

В ходе выполнения работы было проведено проспективное исследование 80 ВИЧ-инфицированных пациентов (возраст от 20 до 50 лет) с коинфекцией вирусом гепатита С. Все пациенты получали противовирусную терапию Рибавирином и ПЭГ-интерфероном альфа. Наличие ВИЧ-инфекции и вирусного гепатита С подтверждались с помощью определения антигенов возбудителей и антител к ним, а также выявлением вирусной РНК. В качестве критериев эффективности проводимой терапии использовался вирусологический критерий — отсутствие РНК ВГС в плазме крови через 12 месяцев от начала терапии.

Через 48 недель после начала курса ПВТ у 57,5% пациентов уровень РНК ВГС снизился до предела определения < 400 копий/мл. При этом исходный уровень РНК HCV у пациентов до начала лечения среднем составлял  $5,9 \times 10^5$  копий/мл (табл. 1).

Также у пациентов со значимым снижением вирусной нагрузки РНК ВГС было обнаружено значимое снижение ( $p < 0,05$ ) уровня циркулирующих CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов с  $585 \pm 38 \times 10^6$  до  $449 \pm 33 \times 10^6$  клеток/л.

При анализе частот встречаемости аллельных вариантов полиморфизма rs8099917 T > G гена IL-28 $\beta$  была установлено, что вариант GG встречается у 50% пациентов с неэффектив-

**ТАБЛИЦА 1. ВИРУСНАЯ НАГРУЗКА ВГС ДО НАЧАЛА И ЧЕРЕЗ 48 НЕДЕЛЬ ПОСЛЕ КУРСА ПВТ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТЕРАПИИ ВГС**

Уровень РНК ВГС до начала лечения (копий/мл)	Уровень РНК ВГС через 48 недель ПВТ (копий/мл)	Процент от общего числа обследованных
$5,9 \times 10^5$ ( $3,8 \times 10^5$ ; $7,0 \times 10^5$ )	< 400*	57,5
	$1,0 \times 10^4$ ( $2,1 \times 10^4$ ; $1,5 \times 10^4$ )	42,5

**Примечание.** \* — значимое снижение вирусной нагрузки ( $p < 0,05$ ) после курса ПВТ.

ностью противовирусной терапии (RR = 2,4, ДИ[1,44;3,42]).

Из 80 пациентов, получающих противовирусную терапию ВГС, сопутствующую терапию ВИЧ получали 56,25% обследованных (45 человек). Варианты генотипов полиморфизма rs8099917 гена IL 28b среди пациентов, получающих ВААРВТ распределились следующим образом: генотип ТТ присутствовал у 43,6%, TG у 30,9% и GG у 25,5% обследованных пациентов.

При исследовании динамики содержания CD4 Т-лимфоцитов в периферической крови на протяжении ПВТ было обнаружено, что у пациентов с генотипом ТТ и TG количество CD4 значительно снизилось (с  $612 \pm 210 \times 10^6$  до  $521 \pm 216 \times 10^6$  кл/л и с  $543 \pm 187 \times 10^6$  кл/л до  $423 \pm 209 \times 10^6$  кл/л).

При оценке динамики уровня РНК ВИЧ на протяжении проведения ПВТ было выявлено значимое снижение вирусной нагрузки ВИЧ в группе пациентов с генотипом ТТ. Так, средний уровень РНК ВИЧ на момент окончания лечения составлял 150 копий/мл при исходном уровне 915 копий/мл (табл. 2).

## Обсуждение

В результате проведенной ПВТ у 57,5% пациентов наблюдалось значимое снижение концентрации РНК ВГС в плазме крови до не определяемых уровней. Согласно вирусологическому критерию о достижении устойчивого вирусологического ответа (отсутствие детекции РНК ВГС в плазме через 24 недели лечения) полученные данные свидетельствуют об эффективности проведенной терапии. У 42,5% пациентов эффект от лечения отсутствовал. Из 80 пациентов, получающих противовирусную терапию

ВГС, сопутствующую терапию ВИЧ получали 56,25% обследованных (45 человек).

Для выяснения интенсивности иммунного ответа при лечении у ВИЧ-инфицированных больных гепатита С исследовался иммунный статус с разделением пациентов на 2 группы: с эффективным и неэффективным лечением. Иммунный статус оценивался до, в начале, в период и после лечения. При анализе лейкоцитарного состава периферической крови в начале терапии у пациентов с эффективным и неэффективным лечением не было найдено существенных различий ( $p > 0,05$ ).

У пациентов со значимым снижением вирусной нагрузки РНК ВГС было обнаружено достоверное снижение ( $p < 0,05$ ) уровня циркулирующих CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов с  $585 \pm 38 \times 10^6$  до  $449 \pm 33 \times 10^6$  кл/л.

По нашему мнению снижение уровня Т-хелперов у пациентов с эффективной терапией ВГС можно объяснить токсичностью проводимой терапии. Наличие ВГС-инфекции и применение противовирусной терапии для ВИЧ-инфицированных пациентов является неблагоприятным фактором. Пегилированный интерферон способен подавлять работу костного мозга, а рибавирин может способствовать развитию гемолитической анемии. При ВИЧ-инфекции возможно развитие лейкопении, которую могут усугубить побочные эффекты противовирусной терапии, применяемой для лечения оппортунистических инфекций. Следует отметить, что снижение уровня Т-хелперов на протяжении лечения от гепатита С во многом зависело от варианта полиморфизма rs8099917 T > G гена IL-28 $\beta$ . Так, у пациентов с генотипами ТТ ( $521 \pm 216 \times 10^6$  кл/л) и TG ( $423 \pm 209 \times 10^6$  кл/л).

**ТАБЛИЦА 2. УРОВЕНЬ ВИРУСНОЙ НАГРУЗКИ ВИЧ И КОЛИЧЕСТВО CD4 Т-ЛИМФОЦИТОВ У ПАЦИЕНТОВ С РАЗНЫМИ ГЕНОТИПАМИ ПОЛИМОРФИЗМА rs8099917 ГЕНА IL-28 $\beta$** 

Генотип	Количество CD4 Т-лимфоцитов, $\times 10^6$ кл/л (M $\pm$ m)			Уровень вирусной нагрузки РНК ВИЧ, копий/мл (ME, Q1;Q3)		
	До ПВТ	24 нед.	48 нед.	До ПВТ	24 нед.	48 нед.
ТТ	$612 \pm 210^*$	$521 \pm 216^\#$	$543 \pm 207$	915 <sup>#</sup> (150;6162)	150 (150;400)	150 <sup>#</sup> (150;400)
GG	$460 \pm 135^*$	$421 \pm 190$	$479 \pm 180$	409 (150;49206)	400 (150;5009)	150 (150;606)
TG	$543 \pm 187$	$446 \pm 162$	$423 \pm 209^\#$	215 (150;400)	194 (150;400)	400 (150;11563)

**Примечания.** # — значимые отличия ( $p < 0,05$ ) внутри исследуемых групп; \* — значимые отличия ( $p < 0,05$ ) между группами.

При анализе взаимосвязи полиморфизмов гена IL-28 $\beta$  с эффективностью проводимой ПВТ было установлено, что аллельный вариант GG полиморфизма rs8099917 T > G встречается значительно чаще (у 50% пациентов в группе) при неэффективной противовирусной терапии вирусного гепатита С (RR = 2,4, ДИ[1,44;3,42]).

Варианты генотипов полиморфизма rs8099917 гена IL-28 $\beta$  среди пациентов, получающих ВААРВТ распределились следующим образом: аллельный вариант TT присутствовал у 43,6%, TG — у 30,9% и GG — у 25,5% обследованных пациентов. Динамика вирусной нагрузки ВИЧ была связана с определенным аллельным вариантом исследуемой мутации. Так, в группе пациентов с генотипом TT уровень вирусной нагрузки РНК ВИЧ достоверно снижался на всем протяжении лечения. Это может быть связано с тем, что продукт гена

IL-28B — интерферон- $\lambda$ -3 — запускает JAK/STAT-сигнальный каскад, приводя к блокировке синтеза вирусных белков. Наличие однонуклеотидной замены тимина (Т) на гуанин (G) в регуляторной области гена IL-28B приводит к более выраженной блокировке синтеза вирусных белков и таким образом ассоциирована с генетической резистентностью к вирусным инфекциям и высокой эффективностью лечения хронического гепатита С комбинированной противовирусной терапией.

Таким образом, у ВИЧ-инфицированных пациентов, получающих сопутствующую терапию ВИЧ на протяжении лечения вирусного гепатита С, генотип TT полиморфизма rs8099917 гена IL-28 $\beta$  связан с более значимым снижением количества РНК ВИЧ в плазме крови, тогда как вариант GG чаще встречается при неэффективном лечении ВГС-инфекции.

## Список литературы

1. Арсентьева Н.А., Тотолян А.А., Семенов А.В. Роль полиморфизма генов цитокинов при вирусном гепатите С // Инфекция и иммунитет. — 2012. — Т. 2, № 4. — С. 687–698.
2. Кравченко А.В., Ганкина Н.Ю., Канестри В.Г. Особенности антиретровирусной терапии при сочетании ВИЧ-инфекции и хронического вирусного гепатита // Фарматека. — 2008. — № 19 (173). — С. 10–17.

Ссылки 3–12 см. в References (с. 375). See References for numbers 3–12 at p. 375.

### ASSOCIATION BETWEEN IL-28 $\beta$ POLYMORPHISMS AND EFFECTIVENESS OF CONCOMITANT THERAPY OF HIV INFECTION IN PATIENTS WITH HCV/HIV CO-INFECTION DURING THE ANTIVIRAL THERAPY

Kovaleva E.S.

State Educational Institution of Higher Professional Education Volgograd State Medical University, Volgograd, Russian Federation

**Abstract.** The aim of the study was to evaluate the associations between the polymorphism rs8099917 IL-28 $\beta$  and changing of HIV viral load and the effectiveness of high active antiretroviral therapy during the treatment of chronic hepatitis C in HIV-infected patients. 80 HIV/HCV-infected patients were recruited in the study. Antiviral therapy was performed with pegylated interferon- $\alpha$  and ribavirin combined with concomitant HIV therapy. Polymerase chain method was used for the gene polymorphism IL 28b (rs8099917) and HIV viral load estimation. More than half (56.25%) patients treated with combined therapy showed a significant decrease in CD4 T-lymphocytes in TG- and TT-genotype groups. Furthermore, viral load of HIV RNA significantly declined in the group with TT genotype during the treatment. It was concluded that rs8099917 polymorphism of the gene IL-28 $\beta$  affects the dynamics of the HIV RNA viral load in HIV-infected patients receiving concomitant therapy for treatment of viral hepatitis C. Herewith, rs8099917 polymorphism combined with other factors can be used as a predictor of high active antiretroviral therapy effectiveness.

**Key words:** HIV, HCV, HIV concomitant therapy, the effectiveness of treatment, polymorphism IL-28 $\beta$ .

**Kovaleva E.S.** ✉, Assistant Professor, Department of clinical laboratory diagnostics, State Educational Institution of Higher Professional Education Volgograd State Medical University, 400131, Russian Federation, Volgograd, Pavshikh Bortsov Sq., 1. Phone: (8442) 38-50-05; +7 903 316-04-71 (mobile). E-mail: katerina.cld@gmail.com

## References

1. Arsent'eva N.A., Totolyan A.A., Semenov A.V. Rol' polimorfizma genov tsitokinov pri virusnom gepatite C [The role of cytokine gene polymorphism in viral hepatitis C]. *Infektsiya i immunitet — Infection and Immunity*, 2012, vol. 2, no. 4, pp. 687–698.
2. Kravchenko A.V., Gankina N.Yu., Kanestri V.G. Osobennosti antiretrovirusnoy terapii pri sochetanii VICH-infektsii i khronicheskogo virusnogo gepatita [Special aspects antiretroviral combination therapy for HIV infection and chronic viral hepatitis]. *Farmateka — Farmateka*, 2008, no. 19 (173), pp. 10–17.
3. Alberti A., Clumeck N., Collins S., Gerlich W., Lundgren J., Palù G., Reiss P., Thiebaut R., Weiland O., Yazdanpanah Y., Zeuzem S. (The ECC Jury). Short statement of the first European consensus conference on the treatment of chronic hepatitis B and C in HIV co-infected patients. *J. Hepatol.*, 2005, vol. 42, no. 5, pp. 615–624.
4. Bica I., McGovern B., Dhar R., Stone D., McGowan K., Scheib R., Snyderman D.R. Increasing mortality due to end-stage liver disease in patients with human immunodeficiency virus infection. *Clin. Infect. Dis.*, 2001, vol. 32, pp. 492–497.
5. Clarc P., Thompson A., McHutchison J. IL 28B genomic-based treatment paradigms for patients with chronic hepatitis C infection: the future of personalized HCV therapies. *Am. J. Gastroenterol.*, 2011, vol. 106, pp. 38–45.
6. Ge D., Fellay J., Thompson A.J., Simon J.S., Shianna K.V., Urban T.J., Heinzen E.L., Qiu P., Bertelsen A.H., Muir A.J., Sulkowski M., McHutchison J.G., Goldstein D.B. Genetic variation in IL-28B predicts hepatitis C treatment-induced viral clearance. *Nature*, 2009, vol. 461, pp. 399–401.
7. Kovaleva E.S. Association between IL-28 $\beta$  polymorphism and viral load of HIV RNA in patients with HCV/HIV co-infection during the antiviral therapy. *Actual Problems of Experimental and Clinical Medicine: Proceedings of 71st opened scientific and practical conference for young scientists and students with international participation*, 2013, pp. 160.
8. McHutchison J.G., Everson G.T., Gordon S.C., Jacobson I.M., Sulkowski M., Kauffman R., McNair L., Alam J., Muir A.J. Telaprevir with peginterferon and ribavirin for chronic HCV genotype 1 infection. *N. Engl. J. Med.*, 2009, vol. 360, pp. 1827–1838.
9. Romano K., Ali A., Schiffer C. Avoiding drug resistance against HCV NS3/4A protease inhibitors. *Antiviral. Ther.*, 2010, vol. 15, suppl. 2, pp. 189–192.
10. Soriano V., Puoti M., Sulkowski M. Care of patients coinfecting with HIV and hepatitis C virus: 2007 updated recommendations from the HCV-HIV Internationals Panel. *AIDS*, 2007, vol. 21, pp. 1073–1089.
11. Thompson A.J., Muir A.J., Sulkowski M.S. Interleukin-28B polymorphism improves viral kinetics and is the strongest pretreatment predictor of sustained virologic response in genotype 1 hepatitis C virus. *Gastroenterology*, 2010, vol. 139, pp. 120–129.
12. Tural C., Solà R., Alvarez N.P., Moltó J., Sánchez M., Zamora A.M., Ornelas A., Laguno M., González J., von Wichmann M.Á., Téllez M.J., Paredes R., Clotet B. Effect of an induction period of pegylated interferon- $\alpha$ 2a and ribavirin on early virological response in HIV-HCV-coinfecting patients: results from the CORAL-2 study. *Antivir. Ther.*, 2011, vol. 16, iss. 6, pp. 833–841.

Received 24.08.2013

Accepted 10.10.2013