

Determinación de Polimorfismos de IL28B en Pacientes VHC tratados con peg-IFN y RBV tras Trasplante Hepático

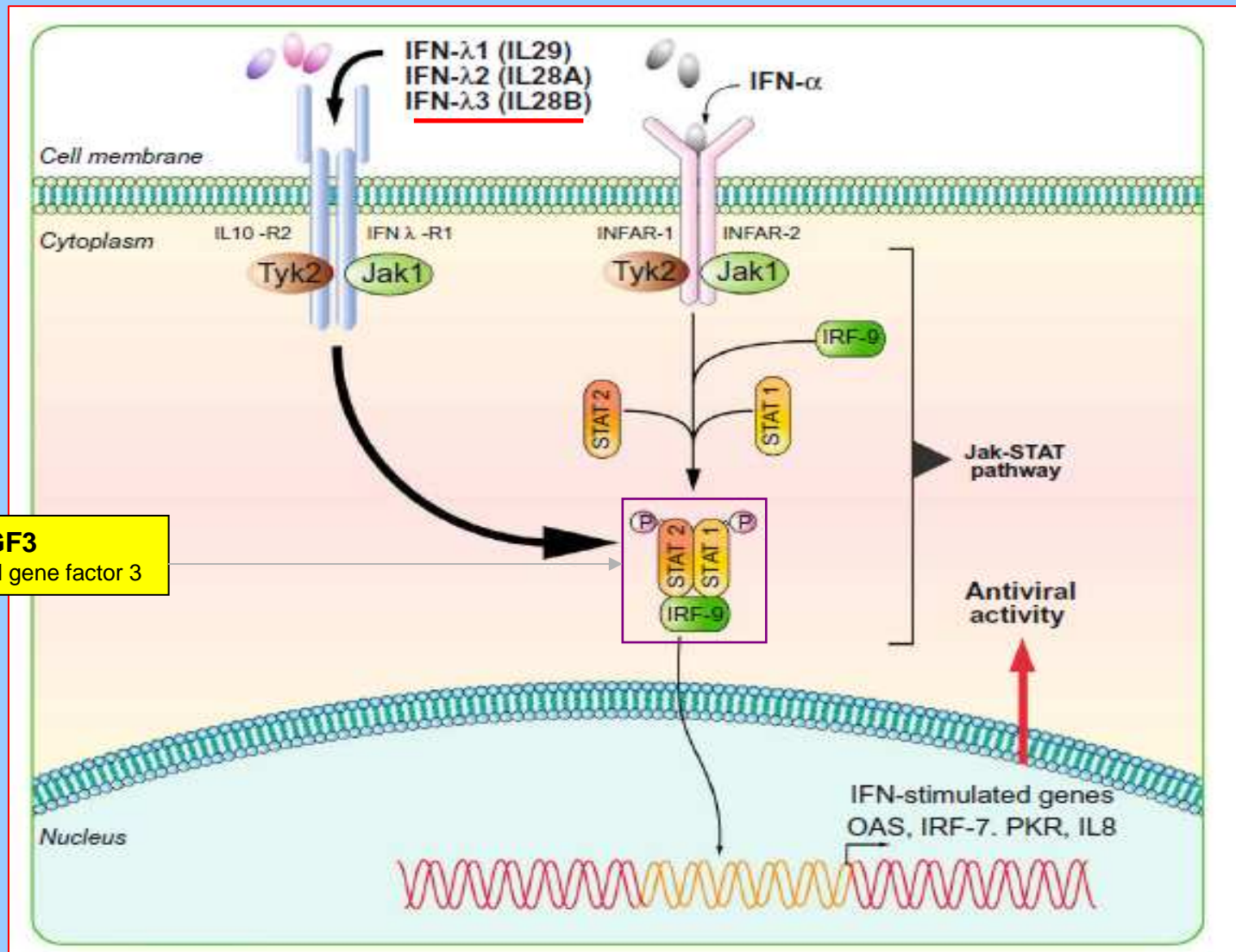
Santos del Campo¹, Ana Moreno², José Luis San Millán³, Javier Graus¹, Carlos Arocena¹, Carlos Blesa¹, Miguel Rodríguez-Gandía¹, M^a Jesús Pérez-Elías², Fernando García-Hoz¹, Carmen Quereda², M^a Luisa Mateos⁴, Javier Nuño⁵, Alberto Moreno⁶, Santiago Moreno², Rafael Bárcena¹,

Servicios de ¹Gastroenterología, ²Enfermedades Infecciosas, ³Genética Molecular, ⁴Microbiología, ⁵Cirugía General y Digestiva, ⁶Anatomía Patológica

Hospital Ramón y Cajal. Madrid.

Antecedentes

- En pacientes VHC, polimorfismos de un sólo nucleótido (SNP) en/cerca del gen de la IL28B se asocian de forma independiente a la probabilidad de RVS tras tratamiento con peg-IFN y RBV, con OR superiores a factores clásicos (genotipo VHC, carga viral, severidad histológica, edad).
- La probabilidad de RVS también depende de la cinética viral precoz (\downarrow PCR-VHC en las primeras 4s de tratamiento), incluida actualmente en los algoritmos de decisión, no sólo de la duración óptima del tratamiento, sino también la retirada precoz en pacientes con caídas $<1\log_{10}$ UI/ml.

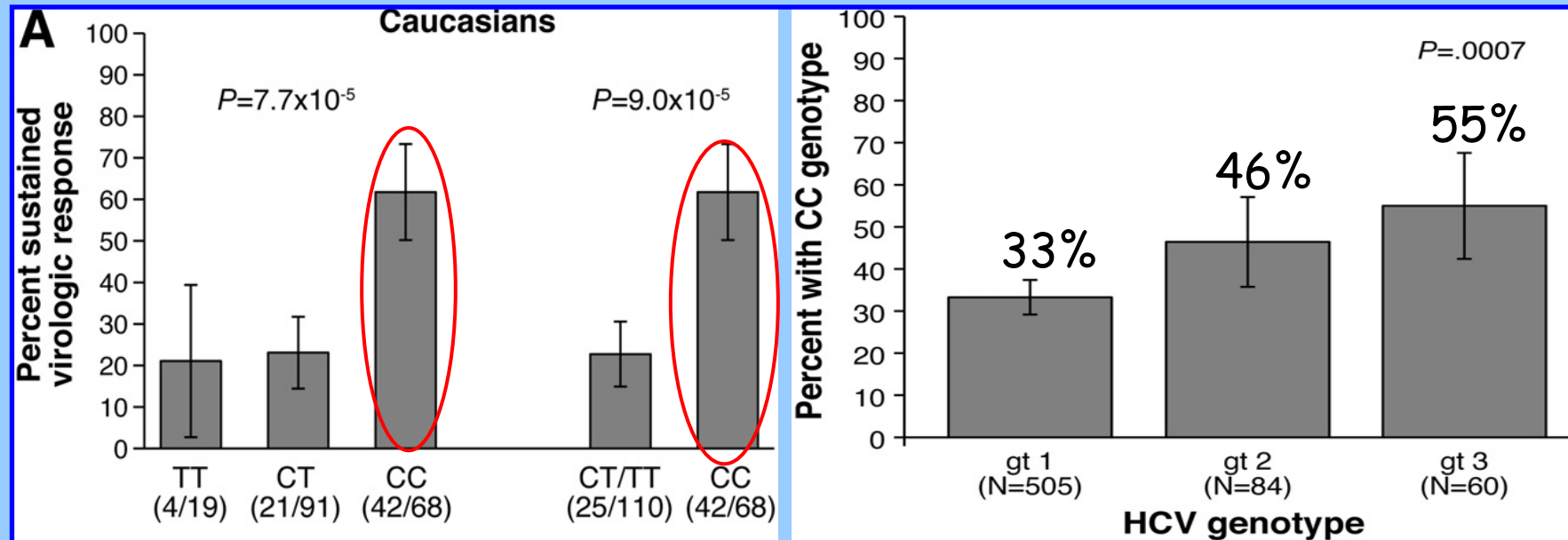


ISGF3
IFN-stimulated gene factor 3

Fig. 1. Interferons (IFNs) α bind a common receptor at the surface of human cells, which is known as IFN alpha receptor. IFN receptor is composed of two subunits, IFN α R1 and IFN α R2, which are associated with the Janus activated kinases (JAKs) tyrosine kinase 2 (TYK2) and JAK1, respectively. Activation of the JAKs that are associated with IFN- α receptor results in tyrosine phosphorylation of STAT1 and STAT2 (signal transducer and activator of transcription 1 and 2); this leads to the formation of STAT1-STAT2-IRF9 (IFN regulatory factor 9) complex, which is known as ISGF3 (IFN-stimulated gene (ISG) factor 3) complex. This complex translocates to the nucleus and binds IFN-stimulated response elements (ISREs) in DNA to initiate gene transcription. The interferon- λ proteins induce the JAK-STAT antiviral pathway by binding to receptors different from interferon alpha. Several studies suggest that interferon- λ may be important to clear HCV infection. However, although all of the identified variants in these studies lie in or near the IL-28B gene, none of them appear to have an obvious effect on the function of this gene. The question that remains is the biological significance of this genetic variant.

Table 1. Genome wide association studies and response to treatment in chronic hepatitis C.

References	Country	Number of patients (n)	Ethnic origin	Technology	SNP identified
Ge et al. [2]	North America	1137	African-Americans 191 European-Americans 871 Hispanics 75	Illumina Human 610 - Quad BeadChip 566,759 SNPs	rs12979860 (~3 kb upstream IL-28B) linkage disequilibrium with rs8099917
Suppiah et al. [3]	Australia Europe	848	Australian 293 (training set) European 555 (validation set)	Illumina Infinium HumanHap300 or CNV370 - Quad genotyping BeadChip ~311,159 SNPs	rs8099917 (~8 kb upstream IL-28B) 16 others SNP identified
Tanaka et al. [4]	Japan	314	Japanese 314	Affymetrix SNP 6.0 SNP typing array ~621,220 SNPs	rs8099917 (~8 kb upstream IL-28B) rs12980275 rs1188122 rs8105790



Objetivos y Métodos

- Describir la distribución de los genotipos IL28B, tanto en injerto como en receptor, en pacientes VHC tratados con peg-IFN y RBV tras TH en un Centro de Referencia entre Enero 2001-Julio 2010 (N=60/165, 36%).
- Evaluar el impacto del genotipo IL28B en la cinética viral precoz (semana +4).

Técnica de determinación de polimorfismos IL28B

- RFLP con Bsh1236I (5'CG[^]CG3') sobre amplificado de 289 bases alrededor del **polimorfismo rs 12979860**, tanto en muestras del receptor (sangre y/o biopsia hepática (BH) pre-TH, como en BH del injerto.

Primers-PCR en NT_011109.16:

(12006872) 5'-TTATCGCATACGGCTAGGC (12006890),

(12007160) 5'-ACAATTCCCACCACGAGAC (12007142)

Análisis estadístico:

- Análisis comparativo, mediante T-student, de la caídas medias de PCR-VHC en semana 4 según genotipo IL28B (CC vs CT/TT), tanto en injerto como en receptor.
- **Estadística descriptiva:** comparación de características basales de los pacientes con genotipo VHC 1 ó 4 de acuerdo al genotipo IL28B (CC vs CT/TT): Chi-cuadrado, Fisher, U-Mann Whitney.

Resultados (I)

- Se determinó IL28B en 59/60 pacientes tratados post-TH (98%)
 - * G1/4 (N=52); G2/3 (N=7)
 - tanto en injerto como en receptor en 38 (64%)
 - sólo en muestras del receptor en 9 (15%)
 - sólo en injerto en 12 (20%)
- Concordancia injerto-receptor 55% (N=21), no influida por el genotipo VHC:
 - 67% G2/3 vs 53% G1/4

Resultados (II).

Distribución de Polimorfismos IL28B

Injerto (N=50)	CC	CT	TT
(38+12)	13 (26%)	32 (64%)	5 (10%)
Receptor (N=47)	CC	CT	TT
(38+9)	10 (21%)	24 (51%)	13 (28%)
Población VHC-G1	37%	51%	12%

Resultados (III).

Polimorfismos IL28B y Genotipo HCV

Receptor	CC	CT	TT
HCV G1ó4(n=40)	7 (18%)	21 (52%)	12 (30%)
	CC	CT	TT
HCV G2ó3(n=7)	3 (43%)	3 (43%)	1 (14%)

P=0.15

33% en G1 y 55% en G3 en 681 sujetos caucásicos
 cohorte McCarthy et al. *Gastroenterology* 2010

Resultados (IV). ↓PCR-VHC s+4 (G1/4)

Injerto	CC	CT	TT
↓log ₁₀ UI/ml P=NS	-1.03	-1.12	-0.09
Receptor	CC	CT	TT
↓log ₁₀ UI/ml P=0.014*	-2.13	-0.86	-0.76

↓PCR-VHC s+4 (G2/3)

Injerto	CC	CT	TT
↓log ₁₀ UI/ml P=NS	-6.86	-3.09	-----
Receptor	CC	CT	TT
↓log ₁₀ UI/ml P=NS	-4.35	-3.94	-----

Resultados (V). Genotipo VHC 1 ó 4

Características de los pacientes según polimorfismo IL28B

N=40	CC (N=7)	No-CC (N=33)	P
Edad	61 (36-63)	47 (21-67)	NS
Sexo varón	71%	76%	NS
VIH	14%	12%	NS
Edad del donante	63 (16-78)	61 (20-86)	NS
Donante varón	14%	58%	0.09
-Concordancia	43%	68%	NS
RCA	29%	36%	NS
Infección CMV	43%	42%	NS
PCR VHC basal	7.04 (5.87-7.52)	7.08 (5.8-8.08)	NS
T°a Peg-IFN/RBV	591 (27-1928)	221 (32-2358)	NS

Resultados (VI)

Resultados globales del tratamiento antiviral

Completo (mínimo 12s)	25 (42%)
RVS	8 (ITT 13%; AT 32%) G2/3..... 3/4 (75%) G1/4 5/21 (24%) <small>P=0.08</small>
Interrupción prematura	22 (37%)
	Toxicidad 16 (73%)
En tratamiento	13 (21%)

Conclusiones

- El genotipo IL28B más frecuente fue CT, tanto en injerto como en receptor.
- La concordancia en el genotipo IL28B entre injerto/receptor fue >50%, sin diferencias según el genotipo VHC.
- Sólo en pacientes con G1/4 el genotipo IL28B del receptor, pero no del injerto, influyó de forma significativa en la magnitud de descenso de la PCR-VHC en las primeras 4s de tratamiento con peg-IFN y RBV.