

Tendencia preliminar del polimorfismo rs12979860 *il28b* en la población mestiza venezolana

Autores Danerys López, Adriana Chalbaud, María del Pilar Fortes, Berta Vargas-Lovelle, Irma Machado

Afiliación Laboratorio Clínico Especializado Intediag-HV (Integración Diagnóstica en Hepatitis Viral), Caracas, Venezuela.

Revista GEN (Gastroenterología Nacional) 2014;68(1):12-15. Sociedad Venezolana de Gastroenterología, Caracas, Venezuela. ISSN 0016-3503.

Autor correspondiente: Dra. Irma Machado. Gastroenterólogo. Dirección médica Laboratorio Clínico Especializado Intediag-HV, Caracas, Venezuela.

Correo-e: medica@intediag.com

Fecha de recepción: 23 de septiembre de 2013. Fecha de revisión: 30 de septiembre de 2013. Fecha de aprobación: 17 de marzo de 2014.

Resumen

Introducción: El polimorfismo de un solo nucleótido (SNP) rs12979860 en el gen *IL28B* del cromosoma 19 que codifica al interferón (IFN)- λ -3, se asocia con respuesta viral sostenida a la terapia combinada de IFN- α pegilado y ribavirina en pacientes con virus de hepatitis C (VHC) genotipo 1. La diferencia alélica de este polimorfismo difiere entre grupos étnicos. **Objetivo:** Comparar las frecuencias alélicas (FA) y genotípicas (FG) del SNP rs12979860 del gen *IL28B* entre individuos sanos y pacientes con VHC mestizos venezolanos. **Material y métodos:** De 34 pacientes con VHC genotipo 1 investigados para este polimorfismo, solamente 19 eran venezolanos de tercera generación, a quienes comparamos con 19 individuos sanos conocidos mestizos. La determinación del polimorfismo se realizó mediante el ensayo TaqMAN SNP empleando el sistema de PCR-tiempo real. **Resultados:** El alelo más prevalente en la población sana fue el alelo silvestre C (55%) y en los pacientes la frecuencia fue igual para el alelo C y para el alelo mutado T (50%) sin diferencia significativa entre las dos poblaciones. El genotipo predominante fue el heterocigoto (C/T) en pacientes y en controles (80% y 58%) evidenciándose mayor valor en el primer grupo pero no llegando a ser significativo. Predominando en controles vs pacientes se aprecian los genotipos homocigotos C/C (26% vs 10%) y T/T (16% vs 10%). **Conclusión:** La tendencia preliminar apunta al genotipo heterocigoto C/T del gen *IL28B* como el más frecuente en la población mestiza venezolana.

Palabras clave: gen *IL28B*, hepatitis C, genotipo 1, mestizos.

PRELIMINARY TENDENCY OF RS12979860 *IL28B* POLYMORPHISM IN THE MESTIZO VENEZUELAN POPULATION

Summary

Introduction: Single-nucleotide polymorphism (SNP) rs12979860 in the region of the *IL28B* gene on chromosome 19, coding for the interferon (IFN)- λ -3 are associated with sustained viral response to combined therapy with pegylated IFN- α and ribavirin in patients with hepatitis C virus (HCV) genotype 1. Allelic difference from this polymorphism varies among ethnic groups. **Objective:** To compare allelic frequencies (AF) and genotypes frequencies (GF) of SNP rs12979860 of the *IL28B* gene between healthy individuals and mestizos Venezuelan HCV patients. **Material and Methods:** From 34 patients with HCV genotype 1 investigated for this polymorphism only 19 were third generation mestizo Venezuelan patients who were compared to 19 healthy individuals known mestizos. SNP determination was carried-out by TaqMAN SNP assay employing real-time PCR system. **Results:** Most prevalent allele in the healthy population was the C wild (55%) while in patients similar frequency was found for C allele or the mutant allele (50% each) with no significant difference. The heterozygote genotype (C/T) was predominant in patients and controls (80% and 58%) with a higher value for the former group but without significance. Homozygote genotypes were more prevalent in controls vs. patients: C/C (26% vs. 10%) and T/T (16% vs. 10%). **Conclusion:** Preliminary tendency points-out that heterozygote genotype C/T from the *IL28B* gene is the most frequent in the Venezuelan mestizo population.

Key words: gene *IL28B*, C hepatitis, genotype 1, mestizos.

Introducción

Los estudios de asociación de todo el genoma (GWAS) han identificado variaciones genéticas que se asocian a la evolución de enfermedades humanas y a farmacoterapia. Un polimorfismo de un solo nucleótido (SNP) es una variación de una base por otra en un lugar específico del genoma y, por definición, se encuentra en más del 1% de la población. Es la forma más común de variación genética.¹ Uno de los descritos en los últimos años consiste en la identificación que se ha hecho del SNP rs12979860 en el gen IL28B del cromosoma 19 que codifica al interferón (IFN)-λ-3 en pacientes infectados con el genotipo 1 del virus de la hepatitis C.² El IFN-λ-3 induce actividad antiviral por sí mismo y mediante señalizaciones que activan la vía de transcripción janus-quinasa, aunque parece compartir in vitro parte del sistema de señales dependiente de los INFs tipo 1 (α y β).³

La importancia del SNP rs12979860 del gen IL28B radica en su asociación probada con la respuesta al tratamiento combinado de INF-α pegilado y ribavirina en pacientes con hepatitis crónica C genotipo 1.⁴ La diferencia alélica de este polimorfismo difiere entre los grupos étnicos estudiados que incluyen a los asiáticos, caucásicos, hispanicos y pacientes con ancestro africano.⁴

Actualmente, la investigación de este polimorfismo se considera que es un parámetro que puede ser decisivo en la selección de pacientes con VHC genotipo 1 a ser tratados⁵ por lo que, la presente comunicación, se refiere a los resultados preliminares que hemos encontrado en relación a la presencia del SNP rs12979860 del gen IL28B en la población de pacientes mestizos venezolanos.

Pacientes y métodos

Pacientes: Hasta el presente hemos investigado el polimorfismo rs12979860 IL28B en 34 pacientes con HVC genotipo 1 referidos a Intediag-HV por los médicos tratantes respectivos (GCRI). De este grupo de pacientes solamente 19, son venezolanos de tercera generación a quienes comparamos con 19 individuos sanos conocidos venezolanos de tercera generación, seleccionados de la población control de la Sección de Inmunogenética del Instituto de Inmunología de la Universidad Central de Venezuela.

Métodos. Extracción de ADN. El ADN de las células mononucleares de sangre periférica fue extraído usando el estuche AxyPrep Blood Genomic DNA Miniprep Kit (Axygen, Scientific Inc., Union City, USA) como descrito anteriormente.⁶

Genotipificación del polimorfismo rs12979860 IL28B. Las muestras de ADN tanto de pacientes como de controles fueron genotipificadas para el polimorfismo rs12979860 IL28B en las instalaciones de Intediag-HV empleando el ensayo TaqMan SNP (Genotyping assays, Applied Biosystems Inc, Foster City, CA, USA) y como instrumentación el termociclador Step-One Real-Time PCR System (Applied Biosystems Inc.) de acuerdo a los protocolos recomendados por la casa comercial asesora.⁷ La determinación automatizada del alelo fue realizada usando el programa SDS software (Applied Biosystems Inc). Controles positivos y negativos fueron usados en cada uno de los ensayos practicados.⁷

La **Figura 1** representa los genotipos graficados que se obtienen mediante la metodología descrita anteriormente.

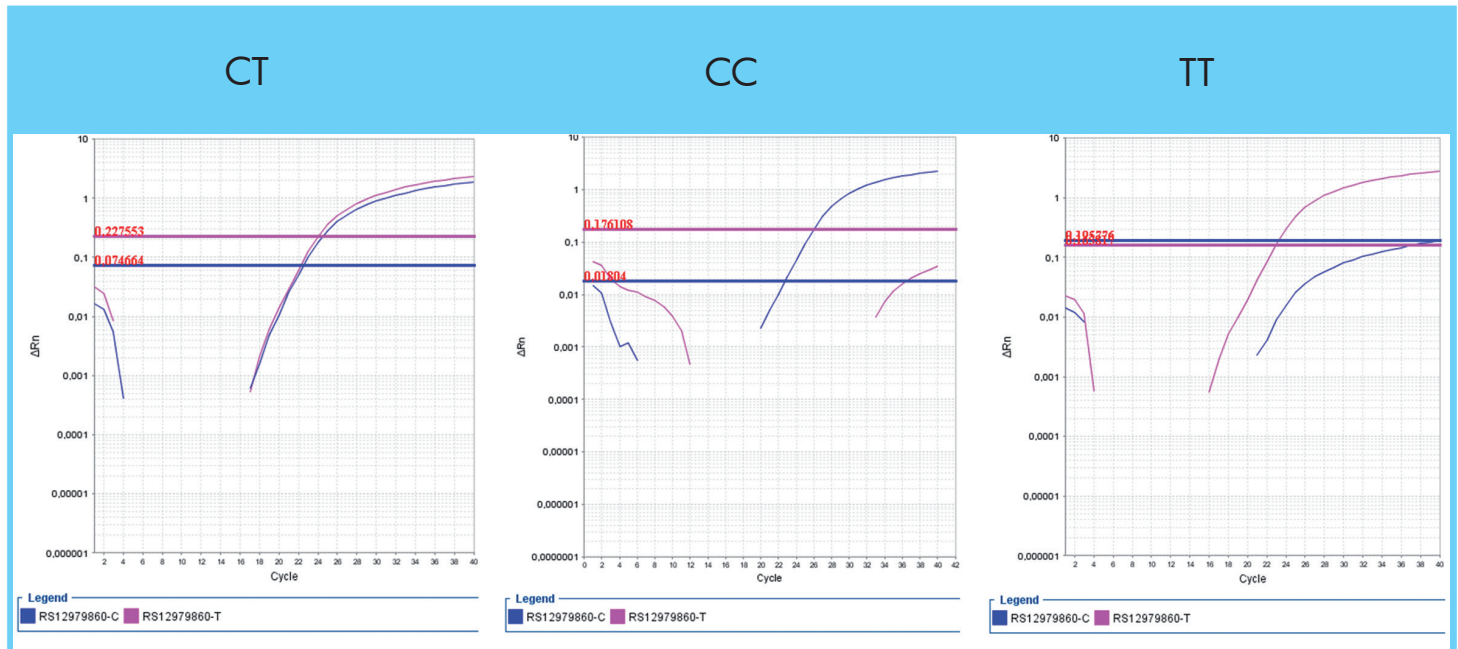


Figura 1 Representación gráfica de los genotipos del polimorfismo rs12979860 IL28B. (El color azul representa al alelo C y el color fucsia al alelo T).

Análisis estadístico

Las frecuencias alélicas (FA) y genotípicas (FG) se calcularon mediante contaje directo. El nivel de significancia (p) entre la frecuencia de un determinado alelo o genotipo en pacientes y controles se realizó mediante la prueba exacta de Fisher^{8,9} la cual es muy apropiada para muestras pequeñas.⁸ Se considera significativo un valor de $p < 0.05$.

Resultados

Polimorfismo rs12979860 *IL28B* en pacientes mestizos venezolanos

Cuadro 1 Polimorfismo rs12979860 *IL28B* en pacientes mestizos venezolanos con HVC genotipo 1 y en población mestiza venezolana sana (control).

Gen <i>IL28B</i>	Genotipos	Grupo Pacientes*	Grupo Control*
	C/C2	(10%)	5 (26%)
SNP rs12979860	C/T	15 (80%)	11 (58%)
	T/T	2 (10%)	3 (16%)

*19 pacientes vs. 19 controles. $p > 0.05$

Discusión

Desde hace más de una década la terapia estándar que se aplica en pacientes con hepatitis crónica por virus de hepatitis C (VHC) genotipo 1 es la combinada, constituida por INF- α 2a o INF- α 2b pegilado más ribavirina.¹⁰ Desde el inicio de este abordaje, progresivamente, se han identificado diferentes factores tanto intrínsecos de cada hospedero como exógenos pertenecientes al virus, que contribuyen a tratar de predecir la respuesta terapéutica individual.^{5,10}

La identificación del SNP rs12979860 *IL28B* representa la primera variable genética descrita asociada fuertemente a la respuesta al tratamiento en estos pacientes. Así, limitándonos únicamente a la respuesta virológica sostenida, aquellos pacientes infectados con el genotipo 1 que presentan el genotipo C/C de este polimorfismo tienen una proporción de respuesta viral sostenida hasta 2 veces mayor que aquellos pacientes que demuestran el genotipo C/T y hasta 2,5 veces más que aquellos que presentan el genotipo T/T.^{4,11} El SNP rs12979860 *IL28B* tiene una distribución distinta dependiendo del origen étnico de cada paciente por lo que la caracterización de los diferentes genotipos de este polimorfismo en las distintas poblaciones pudiese explicar no solo la diferencia de respuesta individual sino también la grupal si se comparte el mismo origen ancestral.

Nuestros hallazgos preliminares tienden a indicar que en la población mestiza venezolana tanto sana como aquella con VHC genotipo 1 prevalece el genotipo C/T del SNP rs12979860 *IL28B*. Ciertamente, el porcentaje de pacientes venezolanos mestizos con este genotipo es 1,4 veces superior al porcentaje de mestizos venezolanos sanos que demostraron el C/T pero no se alcanzó diferencia estadística significativa posiblemente porque el número de individuos en ambos grupos es pequeño. Sin em-

con HVC genotipo 1 y en población mestiza venezolana sana (**Cuadro 1**). El alelo más prevalente en la población sana fue el alelo silvestre C (55%) y en los pacientes la frecuencia fue igual tanto del alelo C como del alelo mutado T (50%). No hubo diferencia significativa entre las dos poblaciones. El genotipo predominante fue el heterocigoto (C/T) tanto en pacientes como en controles (80% y 58%) evidenciándose mayor valor en el primer grupo pero no llegando a ser significativo. Predominando en controles versus pacientes se aprecian los genotipos homocigotos C/C (26% vs 10%) y T/T (16% vs 10%) sin que esta diferencia sea significativa.

bargo, consideramos importante el comunicar preliminarmente los presentes hallazgos por cuanto la investigación de este polimorfismo se suma actualmente a otros factores que contribuyen a predecir la respuesta al tratamiento como la edad, raza, presencia de fibrosis, resistencia a la insulina y carga viral.^{5,10,11} El SNP rs12979860 *IL28B* también se asocia a la proporción de respuesta virológica temprana completa, a la de recaída y a la capacidad de clarificación espontánea de la viremia.^{10,11,12}

Más aún, el polimorfismo de *IL28B* del hospedero se señala como el predictor de respuesta de mayor fortaleza pre-tratamiento a través de su efecto en la cinética viral constituyendo un criterio clave para decisiones terapéuticas y terapia personalizada incluyendo el manejo de pacientes con nuevas drogas antivirales como los inhibidores de proteasa disponibles.^{4,5,11}

Finalmente, todo lo anterior resalta la importancia, aún en estudio, del INF- λ 3 en la patogenia o curso evolutivo de la hepatitis C por cuanto la presencia de SNPs cerca del gen *IL28B* puede afectar los niveles de expresión de esta citocina.

En conclusión, nuestros hallazgos, aunque iniciales, son pertinentes al contribuir al manejo vigente de los pacientes mestizos venezolanos con hepatitis C, genotipo 1.

Clasificación

Área: inmunogenética

Tipo: básico y clínico

Tema: hígado

Patrocinio: este trabajo no fue patrocinado por ningún ente gubernamental o comercial.

Referencias bibliográficas

1. Brookes, AJ. The essence of SNPs. *Gene* 1999;234(2):177-186.
2. Ge D, Fellay J, Thompson AJ, Simon JS, Shianna KV, Urban TJ, et al. Genetic variation in IL28B predicts hepatitis C treatment-induced viral clearance. *Nature* 2009;461(7262):399-401.
3. Kotenko, SV. INF- λ s. *Curr Opin Immunol*. 2011;23(5):583-590.
4. Thompson, AJ. Genetic Factors and Hepatitis C Virus Infection. *Gastroenterology* 2012;142:1335-1339.
5. Clark PJ, Thompson AJ, McHutchinson JG. Genomic-Based Treatment Paradigms for Patients with Chronic Hepatitis C infection. The Future of Personalized HCV Therapies. *Am J Gastroenterol* 2011;1061:38-45.
6. Fortes MP, Machado IV, Gil GC, Fernández-Mestre M, Dagher L, León R, Bianco NE, et al. Genetic contribution of major histocompatibility complex class II region to type 1 autoimmune hepatitis susceptibility in Venezuela. *Liver Intern* 2007;27:1409-1411.
7. Lagging M, Askarie G, Negro F, Bibert S, Söderholm J, Westin J, et al. Response Prediction in Chronic Hepatitis C by Assessment of IP-10 and IL28B-Related Single Nucleotide Polymorphisms. *PLoS One* 2011 6:e17232. doi: 10.1371/journal.pone.0017232.
8. StatSoft, Inc. STATISTICA (data analysis software system) 2001 versión 6. www.statsoft.com
9. Bulla, L. Análisis de Tablas de Contingencia. Material Mecanografiado. Facultad de Ciencias. Universidad Central de Venezuela 1996:54-60.
10. Ghany M, Starder DB, Thomas DL, Seef LB. Diagnosis, Management and Treatment of Hepatitis C. *Hepatology*. 2009; 49:1335-1374.
11. Thompson AJ, Muir AJ, Sulkowski MS, Ge D, Fellay J, Shianna KV, et al. Interleukin-28B Polymorphism Improves Viral Kinetics and Is the Strongest Pretreatment Predictor of Sustained Virologic Response in Genotype 1 Hepatitis C Virus. *Gastroenterology* 2010;139:120-129.
12. Duggal P, Thio CL, Wojcik GL, Goedert JJ, Mangia A, Lattinich R, et al. Genome-wide association study of spontaneous resolution of hepatitis C viral infection: data from multiple cohorts. *Ann Intern Med* 2013;158:235-245.

SÍGUENOS!



@sovegastro



Sociedad Venezolana de
Gastroenterología

o visítanos en nuestro portal Web
www.sovegastro.org

¿Quieres asistir a los próximos
Workshops and Hands on?

Escríbenos a:
gastrove@gmail.com

o contáctanos por los teléfonos
0212/991.67.57 y 0212/991.26.60