

СЛУЖБА ИЗВЕСТИЯ

2
2002

КОРЧИНСЬКИЙ М.Ч.

Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця,
кафедра інфекційних хвороб, зав. кафедрою член-кор. АМН України,
професор Возіанова Ж.І.

УДК: 616.36-002-022.7-07:578.27:578.891

МОЖЛИВЕ КЛІНІЧНЕ ЗНАЧЕННЯ ВИЯВЛЕННЯ СУБТИПІВ HCV

ключові слова:

вірусний гепатит С, діагностика,
субтипи HCV

Зростання та поширення інфекції, спричиненої вірусом гепатиту С (HCV), надзвичайно висока частота її негативних наслідків обумовлюють необхідність подальшого вдосконалення специфічної діагностики різних форм цієї хвороби. Не менш третини інфікованих HCV хворіє на хронічний гепатит, цироз печінки та гепатокарциному [1, 6, 7]. Економічні збитки від HCV-інфекції можуть у 5-10 разів перевищити збитки від ВГВ, які у світі в цілому більші, ніж від СНІДу. Вважається, що на земній кулі HCV інфіковано щонайменш 500 мільйонів людей, а у Росії — близько 5 мільйонів [1, 5].

Актуальність вдосконалення специфічної діагностики ХВГС у нашій країні ускладнена відсутністю офіційної реєстрації ВГС, обов'язкового обстеження осіб із категорій підвищеного ризику (насамперед, медиків), недосконалістю дослідження донорської крові на маркери HCV-інфекції. Це обумовлює її подальше поширення та зростання в умовах сучасної України з одночасним збільшенням кількості негативних наслідків ВГС [2].

Поряд із дослідженнями, що дають інформацію про рівень вірусемії, необхідним вважається визначення найбільш важливих субтипів RNA HCV, що можуть викликати різні за наслідками та за перебігом форми HCV-інфекції [3, 4].

Для HCV притаманна значна генетична гетерогенність із наявністю великої кількості генотипів і субтипів вірусу. В основі генетичного розмаїття вірусу знаходиться відсутність редакуючої активності у РНК — залежної РНК — полімерази HCV, внаслідок чого виникає накопичення мутацій у процесі вірусної реплікації. Рівень генетичних відмінностей може сягати 35% між окремими штамми, які у таких випадках називають генотипами. Якщо рівень генетичних відмінностей становить від 20 до 25 %, то говорять про різні субтипи вірусу (a, b, c) у межах одного генотипу (1, 2, 3, 4, 5, 6). В організмі людини HCV існує у вигляді квазівидів — спільноти генетично близьких варіантів вірусу, що відрізняються один від іншого на 1-10 %.

Відповідно до класифікації Simmonds, розрізняють 11 основних типів RNA HCV (генотипи 1-11), що, в свою чергу, розділяються на 70 підтипів (наприклад, підтипи 1a, 1b, 1c, 2a та інші). Вони по-різному поширені серед населення Землі. Так, генотипи 4 та 5 RNA HCV знаходять у населення Африки, інші вважаються поширеними у всьому світі [3]. Але в Японії, у Китаї та на Тайвані переважають субтипи 1b, 2a, 2b. У США переважає 1a субтип RNA HCV, як і в більшості країн Європи. У країнах Південної Європи помітно зростає і поширеність 1b субтипу, що виявився

переважаючим у Росії (80%). Далі за ним у Росії йдуть 3а, 1а, 2а субтипи RNA HCV, що разом із 1b субтипом мають головне клінічне значення при різних формах хвороби [3, 4, 5].

До цього часу чітко не з'ясований взаємозв'язок присутності того чи іншого субтипу RNA HCV в організмі хворого і тяжкості та всіх особливостей перебігу хвороби [2, 3, 7]. Але особливу увагу приділяють субтипу 1b, що не тільки найбільш поширений у багатьох країнах, особливо — колишнього СРСР [1, 5], але й найбільш стійкий до лікування препаратами α -інтерферону та найчастіше викликає розвиток цирозу і первинного раку печінки [1, 5, 6]. У хворих із субтипом 1b хронічний перебіг ВГС має місце у 90-92% захворілих, тоді як у хворих із генотипами 2 — 3 RNA HCV — лише у 33-50% [6].

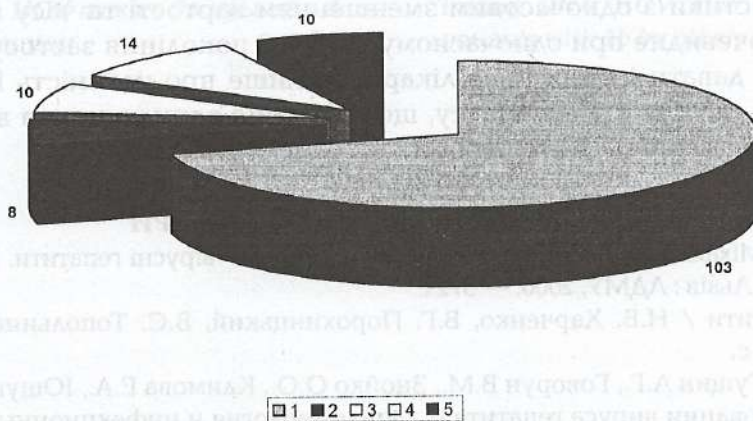
У лабораторії ДНК — діагностики Центральної міської клінічної лікарні м. Києва у 2001 — 2002 рр. за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) нами обстежено 145 хворих на різні форми HCV-інфекції з визначенням субтипів 1а, 1b, 2а та 3а. Для цього ми використовували тест-системи "АмплиСенс- HCV-генотип" виробництва ЦНДІ Епідеміології МОЗ Російської Федерації.

В основу використаного нами методу генотипування RNA HCV покладена ампліфікація з праймерами, специфічними для різних генотипів [3, 4, 5]. RNA HCV виділяли з плазми крові за допомогою набору "РІБО — сорб". Виділені зразки RNA HCV використовували в реакції зворотної транскрипції для отримання кДНК, що потім ампліфікували. Продукти ампліфікації аналізували за допомогою гелі-електрофорезу. Для наступного генотипування використовували зразки, що містять кДНК HCV. Зразки кДНК HCV ампліфікували паралельно, у ПЛР — суміші 1а/1b та у ПЛР — суміші 2а/3а. Продукти ампліфікації досліджуваних зразків аналізували у гелі-електрофорезі за рухливістю відносно продуктів ампліфікації контрольних зразків. Контрольні зразки — фрагменти геному RNA HCV генотипів 1а, 1b, 2а і 3а, що клоновані за допомогою фагу λ . З метою виключення псевдопозитивних результатів обстеження на субтипи HCV досліджувались лише сироватки тих хворих, у яких діагноз ВГС вже був підтверджений двічі позитивними результатами ІФА і позитивним результатом обстеження на RNA HCV, отриманим в іншій лабораторії. При негативних результатах дослідження на субтипи 1а, 1b, 2а і 3а, RNA HCV — позитивні сироватки крові досліджували в іншій лабораторії методом зворотної гібридизації з типоспецифічними зондами за допомогою тест-систем «InnoLiPA HCV».

Одночасно у всіх цих хворих за допомогою ПЛР визначали рівень вірусемії напівкількісним методом. У 26 хворих проведено пункційну біопсію печінки з наступним гістоморфологічним дослідженням біоптатів. У 2 із них RNA HCV знайдено лише у біоптатах печінки.

Розподіл субтипів RNA HCV в обстежених хворих наведено на малюнку 1.

Малюнок 1. Розподіл хворих із різними субтипами RNA HCV



1 — 1b субтип, 2 — 1а, 3 — 2а, 4 — 3а, 5 — інші субтипи

Як видно із наведених на малюнку 1 даних, 1b субтип HCV був у 103 (71%) хворих, 3a — у 14 (9,7%), 2a — у 10 (6,9%), 1a — у 8 (5,5%) із 145 обстежених хворих. Одночасно декілька перерахованих субтипів HCV виявлено у 12 (8,3%) хворих, найчастіше — сполучення 1b та 2 субтипів (у 8). У 3 хворих виявлено одночасно 3 субтипи HCV, одним із яких був 1b.

10 хворих із негативними результатами обстеження на 1a, 1b, 2 та 3a субтипи HCV обстежені за допомогою тест-систем «InnoLiPA HCV». У 2 із них виявлений 1c субтип, у 3 — 3b субтип, у 2 — 4a субтип HCV. У 3 хворих субтип збудника ВГС не визначений.

Таким чином, для обстеження переважної більшості (93,1%) хворих досить було визначення 1a, 1b, 2 та 3a субтипів HCV за допомогою тест-систем "АмплиСенс - HCV-генотип", при цьому найбільш поширеним у нашому дослідженні виявився 1b субтип, далі — 3a, 2a і 1a.

Серед обстежених хворих епізоди внутрішньовенного вживання наркотичних речовин були у 21. У всіх них виявлявся 1b субтип HCV, а у 8 — було одночасне сполучення кількох субтипів. 1b субтип значно переважав серед 32 обстежених медиків і виявлявся у 29 з них. Але цей субтип знайдено лише у 1 із 12 хворих на гострий ВГС, діагноз якого був підтверджений гістоморфологічно з наступним тривалим (не менше 1 року) обстеженням, яке не свідчило про формування ХВГС.

З іншого боку, 1b субтип виявлено у всіх 11 хворих із гістоморфологічними ознаками тяжкого хронічного ураження печінки, у тому числі у 6 — з ознаками цирозу печінки та у 2 — з проявами первинної гепатокарциноми. У хворих із 1b субтипом HCV у крові рівень вірусемії був значно вищим у порівнянні із рівнями вірусемії у хворих, інфікованих 2a та 3a субтипами. Автоімунні прояви та ознаки позапечінкових уражень також значно переважали у хворих із 1b субтипом HCV, що ми враховували при призначенні лікування. У всіх 24 хворих із 1b субтипом HCV, що отримували препарати - інтерферону, були рецидиви ХВГС протягом 1-3 місяців після відміни препарату. Субтип 1b також суттєво переважав у хворих на вірусні гепатити — мікст (ВГС + ВГВ, ВГС + ВГГ, ВГС + ВГВ + ВГД), особливості перебігу яких заслуговують на окреме повідомлення.

Таким чином, в Україні, як і у сусідній Росії, слід чекати значного переважання HCV-інфекції, спричиненої 1b субтипом збудника, який значно частіше викликає хронізацію ВГС із розвитком цирозу печінки та первинної гепатокарциноми. Це супроводжується більш значною порівняно з іншими субтипами вірусемією та значно гіршими результатами лікування хворих на ХВГС препаратами α -інтерферону. В осіб, що вживали в/в навіть епізодично наркотики, та у медиків також переважає 1b субтип HCV. Він частіше виявляється й у хворих на вірусні гепатити-мікст, що потрібно враховувати при обстеженні таких хворих та при призначенні їм лікування.

Випадки хронічного ВГС значно переважають серед вперше діагностованої HCV-інфекції, причому найбільшу питому вагу має 1b субтип збудника, що спричинює найбільш негативні наслідки хвороби. Суттєве збільшення якості та специфічності діагностики з одночасним зменшенням вартості та часу обстеження хворих на ХВГС очевидне при одночасному із ІФА 3 покоління застосуванні ПЛР. Остання повинна давати інформацію лікарю не лише про наявність RNA HCV в крові, а й про кількість та субтип вірусу, що вважаємо важливим для вибору лікування та прогнозування перебігу хвороби.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Балаян М.С., Михайлов М.І. Енциклопедичний словник — вірусні гепатити. Російсько-українське видання. — Львів : ЛДМУ, 2000. — 572 с.
2. Вірусні гепатити / Н.В. Харченко, В.Г. Порохницький, В.С. Топольницький. — К.: Фенікс, 2002. — 296 с.
3. Ильина Е.Н., Гуцин А.Г., Говорун В.М., Знойко О.О., Климова Е.А., Ющук Н.Д. Новый подход в генотипировании вируса гепатита С. Эпидемиология и инфекционные болезни. — 1999. — №5. — С. 23-26.

