

**ISSN 2070–7916**

Журнал «В мире вирусных гепатитов»  
(регистрационный номер ФС77-42838 от 26 ноября 2010 г.)

### **Редакционная коллегия**

М.И. Михайлов (Главный редактор)  
Т.А. Семененко (Заместитель главного редактора)  
Л.Ю. Ильченко (Москва)  
А.Н. Каира (Московская область)  
О.В. Корочкина (Нижний Новгород)  
М.К. Мамедов (Баку)  
В.И. Покровский (Москва)  
В.В. Романенко (Екатеринбург)  
И.В. Шахгильдян (Москва)

Ответственный секретарь  
И.В. Гордейчук

Издательская группа  
С.А. Кичатов  
В.А. Епифановский  
Н.Н. Приходько

### **Редакционный совет**

А.К. Амброзайтис (Литва, Вильнюс)  
Ф. Андре (Бельгия, Брюссель)  
Н.П. Блохина (Россия, Москва)  
Э.Ш. Боцвадзе (Грузия, Тбилиси)  
С.О. Вязов (Россия, Германия, Эссен)  
Б.А. Герасун (Украина, Львов)  
Ж.А. Дробенюк (США, Атланта)  
Е.В. Эсауленко (Россия, Санкт-Петербург)

С.В. Жаворонок (Белоруссия, Гомель)  
А.А. Ключарева (Белоруссия, Минск)  
Ю.Ю. Кусов (Германия, Любек)  
Л. Магниус (Швеция, Стокгольм)  
С.Л. Мукомолов (Россия, Санкт-Петербург)  
Х. Нордер (Швеция, Стокгольм)  
М. Рогендорф (Германия, Эссен)

### **Вниманию авторов!**

При направлении статей в бюллетень «Мир вирусных гепатитов» авторам следует соблюдать следующие правила:

1. В редакцию направляется 1 печатный экземпляр статьи и электронная версия в формате документа MS WORD в версии 2003 г. и выше. Требования к оформлению текста: формат страниц А4; поля: сверху – 2 см, снизу – 2 см, слева – 2 см, справа – 1,5 см; гарнитура – Times New Roman Cyr; шрифт – 12 пт.; отступ абзаца – 1,25 см; выравнивание по ширине страницы. Объем оригинальных статей не должен превышать 10 страниц, лекций и обзоров – 14 страниц, кратких сообщений – 5 страниц.
2. Ко всем статьям должно прилагаться резюме на русском и английском языках.
3. В выходных данных указываются инициалы и фамилии авторов, название работы, учреждение, город. Статья должна быть подписана всеми авторами с указанием контактного телефона, почтового и электронного адресов.
4. Графики и схемы не должны быть перегружены; в подписях объясняются все кривые, буквы, цифры, а также единицы, отложенные на осях абсцисс и ординат. Таблицы должны быть компактными, не дублировать графики. Названия граф и столбцов должны описывать представленные в них данные.
5. Сокращения (за исключением общепринятых химических и математических) не допускаются. Используются только единицы СИ.
6. Литература (в оригинальных статьях – не более 30 источников, в проблемных обзорах – не более 40, в кратких сообщениях – не более 5) печатается в конце статьи по порядку ссылок в тексте. В списке литературы приводятся первые 3 автора работы, полное название статьи, название журнала или сборника, год и номер страницы. Фамилии иностранных авторов в тексте даются в иностранной транскрипции.
7. Редакционная коллегия оставляет за собой право редактировать статьи, сокращать или исправлять их, а также помещать в виде кратких сообщений.
8. Статьи, оформленные не по правилам, непрофильные и отклоненные по рецензии, авторам не возвращаются.

### **Статьи направляются по адресу:**

142782, Московская область, Ленинский район, 27-й км. Киевского шоссе, Институт полиомиелита.

Контактный телефон: 8 (495) 439-90-07

Электронная почта: [michmich2@yandex.ru](mailto:michmich2@yandex.ru)

Отпечатано в полном соответствии с качеством предоставленного оригинал-макета  
в ООО «Издательско-полиграфической компании Информкнига»  
141231, Московская обл., Пушкинский район,  
Поселок сельского типа Лесной, ул. Пушкина, д.8, корпус А

## Заметки главного редактора

Получив номер нашего журнала, Вы даже не обратите внимание, что название несколько изменено. Если предыдущие годы этот журнал назывался «Мир вирусных гепатитов», то сейчас — «В мире вирусных гепатитов». Это изменение связано с возникшей необходимостью административного характера и его новой регистрацией. Сегодня цель редакции журнала — зарегистрировать его в ВАК России в качестве издания, рекомендованного для публикации при написании кандидатских и докторских диссертаций. На протяжении более 15 лет на страницах журнала были напечатаны научные работы, большая часть из которых имела несомненный научный интерес. Мы будем стараться, чтобы все лучшее, присущее журналу, было сохранено и даже приумножено.

Первый номер журнала «В мире вирусных гепатитов» объединяет работы, выполненные как в России, так и в других странах (Республика Беларусь, Азербайджан, Эстония и Швеция).

Один из важных вопросов изучения вирусных гепатитов — их циркуляция среди пациентов, получающих лечение на программном гемодиализе. В этом номере журнала опубликована обзорная работа М.Г. Козаченко и И.А. Карпова об особенностях течения, диагностики и терапии гепатита С у таких больных. Определение основных закономерностей распространения этой инфекции в отделениях гемодиализа необходимо для разработки адекватной системы профилактики и терапии вирусных гепатитов. В ближайшем номере нашего журнала мы планируем публикацию материалов о гепатите В в отделениях программного гемодиализа.

Статья А.Э. Дадашевой с соавт. непосредственно связана с работой М.Г. Козаченко и И.А. Карпова. Авторами с теоретических позиций рассматривается вопрос о группах риска инфицирования вирусами гепатита В и С. Убедительно доказана необходимость изучения существующих особенностей течения и клинических проявлений ГВ и ГС инфекций в группах риска и применения рациональной терапии.

Информационно-аналитическая работа Л.Ю. Ильченко предоставляет обобщенную научную информацию о лекарственном препарате «Телопривир» (VX-950) — ингибиторе

протеазы вируса гепатита С. Являясь одним из первых представителей препаратов для таргетной терапии гепатита С, «Телопривир» открывает новые перспективы в лечении этого заболевания.

Изучение вирусных гепатитов и прогресс разработки современных методов обнаружения маркеров вирусов и инфицирования привели к открытию новой формы течения гепатитов В и С — латентной инфекции. В работе И.А. Морозова с соавт., на основе результатов собственных исследований разработан алгоритм выявления латентного гепатита В у пациентов с хроническими заболеваниями печени.

Одно из интенсивно развивающихся направлений изучения вирусных гепатитов — исследование генетических факторов, влияющих на течение и исходы заболевания. Л.И. Николаева с соавт. изучила генетические особенности вируса гепатита С у пациентов с хроническим гепатитом С, ассоциированные с формированием устойчивого вирусологического ответа на противовирусную терапию.

Несмотря на интенсивное изучение гепатита G, многие вопросы касаются этой инфекции остаются без ответа. Так, неоднозначно понимание значимости этого вируса в развитии патологии. Исходя из этого, несомненный интерес представляет клиническое наблюдение М.Г. Исагулянц с соавт. — желтушная форма острого гепатита G с серологическими маркерами HCV-инфекции на фоне заместительной стероидной терапии. Описание таких случаев в комплексе с разбором серологических маркеров инфицирования вирусами гепатитов расширяет наше представление о этиологии и патогенезе этих инфекций.

В дополнение к обзорным работам и оригинальным исследованиям в журнале имеются традиционные рубрики: описание вспышек вирусных гепатитов; рефераты статей, посвященных различным аспектам изучения этиологии, патогенеза, диагностики, эпидемиологии, профилактики и лечения вирусных гепатитов; информация о предстоящих конференциях.

Редакционная коллегия нашего журнала надеется на активность наших читателей. Мы с нетерпением ждем Ваши работы и предложения.

М.И. Михайлов

## Содержание

### Заметки главного редактора

*М.И. Михайлов*

---

### Лекции и обзоры

#### **Распространенность, особенности течения, диагностики и терапии HCV-инфекции у больных, находящихся на программном гемодиализе (обзор)**

*М.Г. Казаченко, И.А. Карпов*

#### **О двух типах групп с высоким риском инфицирования вирусами гепатитов В и С: эпидемиологическое и клиническое значение**

*А.Э. Дадашева, М.К. Мамедов, М.И. Михайлов*

#### **Телапревир (VX-950) – ингибитор протеазы вируса гепатита С**

*Л.Ю. Ильченко*

---

### Оригинальные исследования

#### **Латентная HBV-инфекция и алгоритм ее выявления у пациентов с хроническими заболеваниями печени**

*И.А. Морозов, Л.Ю. Ильченко, К.К. Кюрегян, Г.Г. Тотолян, И.Г. Федоров, И.В. Гордейчук, А.К. Княженцева, М.И. Михайлов, Н.В. Петренко, А.В. Патюков, Г.И. Сторожаков*

#### **Поиск генетических факторов вируса гепатита С у пациентов с хроническим гепатитом С, ассоциированных с формированием устойчивого вирусологического ответа на противовирусную терапию**

*Л.И. Николаева, Л.М. Самоходская, В.В. Макашова, А.В. Колотвин, Е.И. Самохвалов, С.В. Альховский, М.А. Арутюнова, О.В. Таратина, Р.А. Гибадулин, С.М. Клименко, Л.Ф. Лидеман*

#### **Циркуляция вируса гепатита Е в свиноводческом хозяйстве**

*С.А. Солонин, К.К. Кюрегян, О.В. Исаева, К.Н. Груздев, М.И. Михайлов*

---

### Случаи из практики

#### **Клинический случай: желтушная форма острого гепатита G с серологическими маркерами HCV-инфекции на фоне заместительной стероидной терапии**

*М.Г. Исагулянци, Е.В. Цыганова, О.О. Знойко, Т.В. Петрова, Н.В. Петракова, А. Виделль, Н.Д. Ющук, К.Р. Дудина, Н.В. Федосеева, В.Д. Смирнов, С.А. Солонин, О.В. Исаева, К.К. Кюрегян, М.С. Вонский, О.В. Калинина, Т. Талло, В. Тефанова*

---

### Вспышки вирусного гепатита

*С.А. Солонин*

---

### Рефераты статей

*К.К. Кюрегян*

---

### Информация о предстоящих конференциях

*И.В. Гордейчук*

## Особенности течения, диагностики и терапии HCV-инфекции у больных, находящихся на хроническом гемодиализе

М.Г. Казаченко<sup>1</sup>, И.А. Карпов<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Белорусский государственный медицинский университет, кафедра инфекционных болезней, Минск;

<sup>2</sup> ГУ Республиканский «Клинический медицинский центр Управления делами Президента Республики Беларусь»

Вирус гепатита С относится к роду *Hepacivirus*, семейству *Flaviviridae*. Гепатит С является наиболее частой причиной развития хронического заболевания печени в мире. Существующий уровень распространения инфекции в Западной Европе составляет менее 1%, в Северной Америке достигает 2–2,9%. Наиболее низкое инфицирование зарегистрировано в Соединенном Королевстве и Скандинавии 0,1%. В некоторых странах Азии и Африки, например в Египте, он достигает 10–25% [1]. В Индии инфицировано не менее 2% населения [2]. Выявление антител к вирусу гепатита С у пациентов, находящихся на программном гемодиализе, происходит значительно чаще, чем в среднем в популяции. Всего в США насчитывается до 350000 больных на программном гемодиализе, а в странах Западной Европы — до 1,5 млн. Хронический вирусный гепатит С встречается значительно чаще у больных, находящихся на программном гемодиализе, чем в популяции в целом [3]. Главной причиной заражения этого контингента больных являются частые гемотрансфузии [4]. Период серонегативного окна в данной группе более продолжителен, чем у людей, не страдающих почечной недостаточностью [5].

Существенно подчеркнуть, что проблемы, связанные с печенью, занимают значительное место как причина летального исхода у больных, находящихся на гемодиализе более 10 лет. У этих пациентов они обуславливают более 25% всей летальности [6] и резко увеличивают вероятность посттрансплантационных осложнений. HCV-инфекция остается самой часто встречающейся парентеральной инфекцией у пациентов, получающих программный гемодиализ. При этом разница между показателями заболеваемости в данной группе больных и среднестатистическими в популяции значительна и превышает 5 раз. Распространение HCV-инфекции среди больных, находящихся на гемодиализе, существенно выше и составляет по некоторым данным свыше 50% от общей популяции [7]. Процент HCV-инфицированных находящихся на хроническом гемодиализе пациентов в некоторых странах Азиатского региона достигает 75%. В Турции

такие больные составляют в отдельных центрах 31,4–50% [8]. В 2000 году число HCV инфицированных пациентов, получающих хронический гемодиализ, в США составляло примерно 8,4%, хотя отмечаются и другие данные, колеблющиеся от 5 до 20% [9]. Европейские авторы считают, что лица, находящиеся на гемодиализе и имеющих HCV-инфекцию, составляет примерно 13% от общего количества. В Японии в различных центрах эта цифра колеблется от 3 до 23% [10]. Что касается развивающихся стран, то там уровень инфицированности может достигать 50%. В Великобритании распространение HCV среди больных на гемодиализе составляет 6%, в Польше — около 60%, в Индии — до 42% [11]. У пациентов с хронической почечной недостаточностью, получающих курсы гемодиализа, смертность выше в случаях наличия у них хронической HCV-инфекции. Причем основной непосредственной причиной летальных исходов является острая сердечная недостаточность. Pereira et al. указывают на летальность, увеличивающуюся на 41% при инфицировании вирусом гепатита С пациента, находящегося на гемодиализе [12]. Группа японских авторов пришли к такому же заключению при изучении значительной группы пациентов — 1470 человек, не указав предикторов прогрессирования процесса. Основными причинами летальности называются как печеночные, так и кардиальные [13]. Возможно влияние «мальнутриций-воспалительного» синдрома, который развивается практически у всех пациентов в течение 5 лет, и влияние на это прогрессирование процесса оказывает хронический вирусный гепатит С [13]. Мальнутриция и хронический воспалительный процесс влияют на развитие у пациента атеросклероза, значительно ускоряя атерогенез и риск возникновения осложнений [14]. Скорее всего, речь идет о повреждениях эндотелия, приводящих к повышению его адгезивных свойств по отношению к различным молекулярным рецепторным структурам. Существует определенный параллелизм в понимании закономерностей процессов, происходящих у пациентов с хроническими инфекциями — HCV, HBV, AIDS. В основе современных взглядов находится представле-

ние о комплексном влиянии хронической вирус-ассоциированной инфекции на состояние всех органов и систем, приводящем к тяжелой медленно прогрессирующей полисистемной патологии [13]. Огромное значение имеет и возникающая у данной категории больных стойкая анемия, требующая постоянных трансфузий и, соответственно, повышающая риск возникновения у пациентов парентеральной вирусной инфекции [15]. Некоторые авторы указывают на несколько более легкое течение заболевания по сравнению с обычной группой пациентов. Это объясняется частичным разрушением вируса на диализной мембране, а также снижением иммунологической реактивности, что особенно характерно при терминальной почечной недостаточности [16]. Низкие трансаминазы делают диагностику этих заболеваний довольно сложной, так как часто отсутствует самый основной лабораторный синдром, характерный для гепатита, — цитолитический, проявляющийся, главным образом, повышением АлАт [17]. Lampe et al. предлагают сравнивать уровни АлАт у пациентов в динамике заболевания, обращая внимание на внезапное увеличение трансаминаз при инфицировании гепатитом С. Ряд авторов указывают на четырехкратное увеличение АлАт по сравнению с исходными показателями у пациентов с острым гепатитом С, находящихся на программном гемодиализе. В то же время в исследованиях, проведенных Espinosa et al. [18], отмечается, что предельный уровень АлАт у пациентов, не имеющих заболеваний печени, составил 27 МЕ. Увеличение показателя выше указанных значений свидетельствовало об инфицировании гепатитом. При этом чувствительность оценивалась как 50%, а специфичность 100%. В двух наблюдениях, включающих 19 и 32 пациента, наибольшие значения АлАт составили соответственно 345 и 169 МЕ [19]. При этом авторы определяют острый вирусный гепатит С, как состояние, характеризующееся двукратным увеличением АлАт и появлением антител против вируса гепатита С. Складывается впечатление, что любое увеличение АлАт по сравнению с обычными значениями у больного, находящегося на программном гемодиализе, должно рассматриваться через призму возможного развития острого вирусного процесса. Определенное значение для диагностики активности именно хронического гепатита С у пациентов, находящихся на хроническом гемодиализе, может иметь АсАт [20]. Диализные пациенты с хронической HCV-инфекцией могут иметь неопределяемый уровень антител к вирусу, что в значительной мере затрудняет скрининговую диагностику заболевания. В то же время, ПЦР также не является адекватной

скрининговой реакцией, так как в целом ряде случаев уровень вирусной нагрузки настолько низок, что это создает целый ряд дополнительных затруднений для адекватной детекции вируса. Перспективна ТМА (transcription mediated amplification), хотя, по-видимому, и она не может абсолютно исключить наличие HCV у пациентов с иммунодепрессией [21]. Обсуждается мнение о необходимости детекции вируса методами ИФА и ПЦР через определенный период времени, что резко повышает возможность диагностики этого заболевания у пациентов на гемодиализе [22]. Складывается впечатление о необходимости определения анти-HCV у больных, находящихся на программном гемодиализе на ранних стадиях, пока у данной группы пациентов не сформировался иммуносупрессивный синдром [23]. С внедрением в рутинную практику ПЦР в реальном времени точность диагностики HCV-инфекции у больных с почечной недостаточностью в значительной мере упростилась [24]. Определенное значение может иметь уровень сывороточного протеина, который достаточно убедительно свидетельствует о развитии иммуносупрессии у пациентов [23]. ПЦР в реальном времени, по мнению некоторых авторов, может являться золотым стандартом диагностики хронического вирусного гепатита С у данной группы больных [25]. Medhi et al. указывают на статистически значимую погрешность, которая может наблюдаться при диагностике хронического гепатита С у больных, находящихся на программном гемодиализе, при ориентации только на определение количества циркулирующих в крови антител [23]. У пациентов с хронической почечной недостаточностью рекомендуется возможно ранний скрининг на наличие вирусов парентеральных гепатитов, а затем — определение возбудителя гепатита С примерно 2 раза в год [26]. Значительный интерес представляет возрастание расходов на терапию и обследование одного больного хроническим гепатитом С при позднем выявлении [26]. Подчеркивается необходимость проведения не менее, чем двукратного ежегодного определения вируса гепатита С в крови больных, находящихся на программном гемодиализе. При этом необходимо наблюдать и за динамикой показателей цитолиза, возрастание которых может свидетельствовать о инфицировании вирусом гепатита С [27]. Существенно, что вирусы гепатитов В и С могут размножаться и вне гепатоцитов, например, в моноцитах, что приводит к появлению вируса в крови без четких серологических маркеров [28]. В одной из работ приводятся интересные наблюдения, свидетельствующие о взаимосвязи скрытого течения гепатита С с наличием у пациента криптогенно-

го гепатита [29]. Было выяснено, что в таких случаях у 57% больных вирус гепатита С непосредственно имеется только в гепатоцитах [29]. Это создает дополнительные трудности для лечения и ранней диагностики заболевания. Osterricher et al. подтвердили важность определения вируса в полиморфноядерных клетках наравне с определением HBV и HCV в сыворотке крови пациентов [30]. По их данным ДНК HBV или РНК HCV были найдены в клетках у 6 из 67 пациентов, находящихся на программном гемодиализе, и не имеющих других маркеров гепатита. При этом у 5 больных определялись маркеры гепатита В, а у 1 — гепатита С. Данная закономерность особенно важна для диагностики заболевания у пациентов с иммунодепрессией, в частности находящихся на программном гемодиализе. В трех случаях авторы обнаружили ДНК HBV в полиморфноядерных клетках больных, находящихся на гемодиализе, несмотря на существование высокого титра антител против Австралийского антигена, явившегося результатом проведенной вакцинации [30]. Пациенты, имеющие скрытую форму HCV и HBV-инфекции, являются группой риска при проведении последующей трансплантации печени, так как иммуносупрессивная терапия вызывает значительную активизацию процесса в печени [31]. Очень велика вероятность передачи скрыто текущей инфекции другим пациентам, находящимся на программном гемодиализе [32]. Показательно, что Бельгийское мультицентровое исследование свидетельствует о снижении до нуля новых случаев HCV инфекции у пациентов, находящихся на гемодиализе при строгом соблюдении всех этапов контроля за диагностикой заболевания [33]. Указывается также на значительное количество больных, находящихся на программном гемодиализе, у которых отсутствовала РНК при наличии антител к вирусу. Следует отметить, что, как правило, у данной группы пациентов отмечался небольшой цитолитический синдром [27]. Высокий риск смерти и осложнений свидетельствует о необходимости терапии таких пациентов в максимально ранний период до проведения трансплантации почки. Указывается на целесообразность введения рибавирина в схемы терапии данной категории больных вследствие достоверного повышения их эффективности. Предпринимались также попытки использовать для лечебных целей этанерцепт, блокирующий слияние ФНО с соответствующими рецепторными структурами. Однако, вследствие бессистемности и малочисленности наблюдений, окончательные выводы о влиянии этих препаратов на течение HCV-инфекции сделать пока исключительно трудно. С другой стороны, регулярно пред-

принимаются попытки лечения хронического вирусного гепатита С у больных с хронической почечной недостаточностью пегилированным интерфероном даже в посттрансплантационный период [34]. Лечение этой группы пациентов показано, главным образом, по двум причинам. Первая — достоверно большая летальность среди группы нелеченных, HCV-положительных пациентов. Вторая — прогрессирование гепатита на фоне очень вероятной трансплантации почки и назначении иммуносупрессивных лекарств [35]. Американская ассоциация по изучению заболеваний печени рекомендует использование пегилированного интерферона в дозе 135 мг еженедельно. Рибавирин в этой ситуации не рекомендовался вследствие возможных гемолитических осложнений. Некоторые группы исследователей все же рекомендуют комбинированную терапию, настаивая, однако, на необходимости снижения дозы препарата до 200 мг в сутки [36]. Указывается на предпочтительность схемы 3 млн. 3 раза в неделю на протяжении полугода, указывая на более частое развитие побочных эффектов у лиц, находящихся на программном гемодиализе, чем в других группах пациентов. Отмечается, что окончательные выводы все же сделать трудно из-за ограниченного количества пациентов, включенных в это исследование. Лечение хронического вирусного гепатита С у пациентов, находящихся на программном гемодиализе, не имеет широкой и однозначной концепции. Эти случаи до сих пор немногочисленны, не имеют однозначных показаний к стартовой терапии и отработанных курсов. Вместе с тем, имеются наблюдения, свидетельствующие об эффективности интерферонотерапии [37]. Использование препаратов стандартного интерферона и пегилированного препарата курсами в 6–12 месяцев является вполне приемлемым [37]. Имеются данные о необходимости осторожного подхода к назначению рибавирина [38], но существует ряд исследований, свидетельствующих о его эффективности у пациентов, находящихся на программном гемодиализе [39]. Вызывает большой интерес зависимость между генотипом вируса и отдаленными результатами лечения интерфероном у этой группы больных. Описано 6 основных генотипов вируса С (Simmonds 2004). Результаты работы Fabrizi 2003 свидетельствовали о 30,6% положительном результате у пациентов, получающих интерферонотерапию и имеющих HCV первого генотипа. T. Arreas et al. наблюдали частое возобновление вирусемии у пациентов, находящихся на программном гемодиализе, после проведения успешной противовирусной терапии [40]. При этом в ряде случаев повторно выявлялся вирус иного

генотипа по сравнению со стартовыми данными накануне инициации лечения. Авторы не пришли к окончательным выводам о причинах изменения генотипа вируса — активация ранее подавленной репликации или реинфицирование пациента. В то же время только 0,8% HCV инфицированных не были выявлены с помощью ПЦР [23]. Van Leusen опубликовал данные, свидетельствующие о возможности и необходимости использования рибавирина у пациентов на программном диализе, получив хороший вирусологический ответ у 5 из 7 исследуемых. Так Fabrizi указывает на возрастание вирусологического ответа у данной группы больных с 37 до 60% при использовании комплексной терапии по сравнению с лечением только пегилированными интерферонами. Выбор препарата интерферона также, по-видимому, имеет определенное значение. Указывается на существенно большую эффективность пегилированных интерферонов по сравнению с обычными препаратами [41]. Также имеет существенное значение и факт преимущественно печеночного метаболизма интерферона  $\alpha 2a$  у больных с тяжелыми поражениями почек и печеночной недостаточностью. В то же время имеется достаточно много доказательств безопасности низких терапевтических доз рибавирина у данной группы пациентов [42]. Учитывая основной побочный эффект рибавирина, связанный с развитием гемолиза, многие авторы рекомендуют снижение дозы указанного препарата и использование эритропоэтина [43]. Прекращение приема рибавирина у лиц, находящихся на хроническом гемодиализе, может быть предотвращено варьированием дозы, ее индивидуальным подбором и своевременной диагностикой развивающихся побочных эффектов [44]. При HCV-инфекции у пациентов, находящихся на гемодиализе, отмечается повышенный уровень провоспалительных цитокинов, что в значительной мере оправдывает взгляд на воспалительную реакцию при данной патологии как на существенный компонент патогенеза [45]. Отмечаются и случаи спонтанного исчезновения виремии у этой группы пациентов, но они имеют место менее, чем в 1% случаев [46]. Исчезновение вируса, в том числе в результате проводимой терапии, четко ассоциируется с улучшением самочувствия больных, улучшением гистологических показателей печени, снижением риска развития гепатоцеллюлярной карциномы и снижением летальности в целом [47]. Имеются наблюдения, свидетельствующие о многолетнем стойком отсутствии виремии у пролеченных больных, находящихся на программном гемодиализе [48]. При проведении мета-анализа у HCV-инфицированных больных,

получавших интерферонотерапию на фоне хронической почечной недостаточности, установлены предикторы низкой вероятности вирусологического ответа. Ими являются высокая вирусная нагрузка, наличие цирроза печени, а также первый генотип вируса. Указывается на необходимость тщательнейшего мониторинга состояния пациента вследствие высокой вероятности побочных эффектов у данного контингента больных [48].

Возрастание АлАт в значительной степени свидетельствует о вероятности HCV инфекции у больных, находящихся на гемодиализе. Так, Kumar et al. считают, что синдром цитолиза является наиболее вероятным свидетельством вирусного процесса и встречается с вероятностью 45% [49]. В то же время рядом авторов эта закономерность оспаривается [50]. Liu et al. провели рандомизированное сравнительное исследование между эффективностью пегилированных и обычных интерферонов для лечения хронического вирусного гепатита С у пациентов, находившихся на программном гемодиализе [51]. В результате было показано, что использование пегилированных интерферонов является более эффективным в отношении элиминации циркулирующего в крови вируса и в значительной степени более безопасно из-за снижения побочных эффектов. При этом наблюдалась не только вирусологическая и клиническая стабилизация, но и улучшение морфологической структуры печени. Трехкратное за 1 неделю введение интерферона не оставляет возможности для прогнозирования концентрации препарата в крови и тканях по крайней мере в течение месяца. Терапия являлась неэффективной в случаях, когда через 2 месяца вирус по-прежнему определялся в крови. Результаты терапии значительно хуже при сочетании у пациента нескольких заболеваний [51]. Наиболее опасными в плане инфицирования являются пациенты, имеющие тяжелую, заключительную стадию поражения почек [52]. Несмотря на то, что в ряде случаев причиной инфицирования пациентов является аппаратура для проведения гемодиализа, в распространении этой во многом нозокомиальной инфекции следует отметить огромную роль субъективного компонента; в частности — персонала, проводящего процедуру [53]. Приводятся также сведения о возможной ассоциации выраженного цитолиза с последующей элиминацией вируса из организма у лиц, переносящих острый процесс. Между тем, многие авторы выражают сомнения в достоверности наблюдений спонтанной элиминации вируса у больных, находящихся на хроническом гемодиализе [54].

Большинство пациентов, получающих экстракорпоральную детоксикацию, имеют вирус

гепатита С первого генотипа. В ряде работ рассматривается возможность усиления превентивных мероприятий по предотвращению инфицирования HCV инфекцией. Предлагается проведение процедуры в отдельных помещениях специально выделенными для этой цели аппаратами, а также дополнительное исследование крови на наличие вирусов парентеральных гепатитов [55]. Отмечается эффективность подобного подхода [55]. Имеются сведения о сравнимой эффективности интерферонотерапии у пациентов, находящихся на гемодиализе с остальными пациентами [27]. Так, монотерапия препаратами интерферона привела к вирусологическому ответу у 39% больных, в то время как в среднем по группе этот результат составлял не выше 20% [56]. В то же время подчеркивается вероятность развития побочных эффектов у значительной части пациентов из данной группы. Во многих случаях морфологическая картина в печени пациентов, находящихся на гемодиализе, не имеет выраженных патологических изменений в течение довольно долгого времени. Kose et al. указывают на необходимость и эффективность интерферонотерапии у пациентов с хроническим вирусным гепатитом С, находящихся на программном гемодиализе [57]. Указывается на преимущественную эффективность монотерапии пегилированными интерферонами и относительно высокую частоту развития побочных реакций и осложнений у пациентов с терминальной стадией хронической почечной недостаточности [57]. На фоне невысокого цитолиза и низкой вероятности элиминации вируса, вопрос об инициации противовирусной терапии иногда решается весьма сложно. Необходимо весьма взвешено подходить как к выбору схемы, так и курса противовирусных препаратов [58]. При этом интересно мнение, что данный контингент пациентов рано или поздно подлежит антивирусной терапии [59]. Имеются указания на хорошую эффективность антивирусного лечения на ранних стадиях хронического гемодиализа [60]. У лиц с генотипом 1 терапия HCV-инфекции была эффективной в 28–31% случаев. В то же время при 2 и 3 генотипе вируса результативность лечения была значительно выше и составляла 64–66% [60]. В Турции превалирует первый генотип вируса, который наблюдался более, чем у 75% от общего числа обследованных. В значительной части случаев у данной группы пациентов обнаруживались вирусы двух и более генотипов. Обсуждается вопрос о влиянии генотипа вируса на прогрессирование и тяжесть вирусного гепатита С. Так Yu et al. на основании проведенных исследований указывают, что генотип 1 сочетается с повышенной тяжестью течения заболевания и быстрым

прогрессированием в цирроз и гепатоцеллюлярную карциному [61]. Тем не менее, в значительном большинстве исследований связь между скоростью прогрессирования заболевания и генотипом вируса не наблюдается, тогда, как четкая зависимость между эффективностью терапии интерфероном и генотипом возбудителя является уже хорошо установленным фактом [62].

Интерферонотерапия часто осложняется побочными эффектами: слабостью, подъемами температуры, связанными с введением препарата, рвотой, бессонницей, которые в той или иной степени бывают у практически всех пациентов, получающих лечение. Однако существует и ряд тяжелых осложнений терапии, приводящих к серьезным, в том числе и летальным исходам [63]. Это, прежде всего, миелосупрессивные осложнения и тяжелая депрессия. Так или иначе, с серьезными осложнениями интерферонотерапии сталкивается от 30 до 40% больных, находящихся на хроническом гемодиализе [63]. Несмотря на существующую разницу в метаболизме двух применяемых в настоящее время интерферонов, имеются работы, свидетельствующие о возможности использования их обоих [64]. Высокая концентрация Peg IFN  $\alpha$ -2a наблюдается у всех больных. Peg IFN  $\alpha$ -2b достигает 90% концентрации у всех больных с печеночной недостаточностью [65]. Особенности фармакокинетики препаратов обуславливают различия во времени и тяжести развивающихся побочных эффектов у пациентов, особенно относящихся к иммуносупрессивной группе. Исследование, проведенное на 30 пациентах, свидетельствует об отсутствии каких-либо фармакокинетических изменений Peg IFN  $\alpha$ -2a у пациентов с хронической почечной недостаточностью. Соответственно, не требуется коррекции дозировки как на старте, так и в процессе терапии. Все же, несмотря на существование протокола, предусматривающего терапию данного контингента больных, каждое новое исследование эффективности противовирусной терапии у данной группы пациентов представляет значительный интерес [62].

Данные биопсии печени свидетельствуют о несоответствии выраженности цитолитического синдрома и морфологических изменений, происходящих в печени пациентов, находящихся на программном гемодиализе [66]. У пациентов, получивших успешный курс противовирусной терапии, исключительно важно наблюдать за содержанием в крови АлАт, так как ее возрастание наблюдается у половины больных с рецидивом заболевания [67]. В то же время, существует оправданное мнение о необходимости избегать биопсии печени в качестве метода диагностики и контроля за со-



стоянием больного вследствие высокой вероятности развития кровотечений у пациентов, находящихся на гемодиализе [68]. Одним из предположений, объясняющих значительную эффективность пегилированных препаратов в сравнении с обычными интерферонами, является возможная высокая концентрация первых в крови больных с низким клиренсом креатинина [69]. Однако такое предположение должно иметь под собой более объективную экспериментальную основу.

В странах Евросоюза цирроз печени развивается у 10–15% пациентов, находящихся на программном гемодиализе [70]. Соответственно, у значительной части больных пересадка печени будет противопоказана из-за сопутствующего тяжелого процесса в печени [71]. Пегилированные интерфероны приводят к значительно (примерно на 15%) более частой элиминации вируса, чем обычные препараты интерферона. Такая же закономерность встречается у больных, находящихся на хроническом гемодиализе. Кроме того, у данной группы пациентов снижается риск развития диабетических проблем. Высказываются также предположения о необходимости поиска аналога рибавирина, не обладающего гемолитическими свойствами, для комплексной терапии данной группы пациентов.

Таким образом, имеющиеся в современной научной литературе данные свидетельствуют об актуальности изучаемой проблемы. Программный гемодиализ является методом, широко используемым в современной клинической практике. Одной из задач программного гемодиализа является эффективная подготовка пациентов к трансплантации почки. Такая задача предусматривает устранение факторов, способных осложнить как предоперационную подготовку, так и послеоперационный период. Хронические парентеральные гепатиты оказывают существенное влияние на состояние пациентов программного гемодиализа. Установлено, что наличие HCV или HBV-инфекции у пациента в терминальной стадии хронической почечной недостаточности сокращает продолжительность жизни больного, способствует развитию серьезных нарушений обмена, а также резко ухудшает посттрансплантационный прогноз. В то же время целый ряд вопросов остается невыясненным. Во-первых, это особенности течения хронических парентеральных гепатитов у пациентов на программном гемодиализе, и клиническое значение различных лабораторных показателей. Остаются неясными особенности развития мальнутрицио-воспалительного синдрома у больных на гемодиализе. Мало изучены вопросы эффективной этиотропной диагностики вирусов парентеральных гепатитов у больных на

гемодиализе и их влияние на процесс идентификации других вирусов, в частности — оппортунистов. В целом, проблема эффективной диагностики и лечения HCV-инфекции у больных на программном гемодиализе не является хорошо изученной и требует дополнительных комплексных исследований.

## Литература

- [1] Shepard C.W., Finelli L., Fiore A.E., Bell B.P. Epidemiology of hepatitis B and hepatitis C virus infection in United States children // *Pediatr. Infect. Dis. J.* — 2005. — Vol. 24. — P. 755–760.
- [2] Chandra M., Khaja M.N., Farees N. et al. Prevalence, risk factors and genotype distribution of HCV and HBV infection in the tribal population: a community based study in south India // *Trop Gastroenterol* — 2003. — Vol. 24. — P. 193–195.
- [3] Ozaras R., Yilmaz M., Mete B. et al. Recognizing Acute Hepatitis C in Hemodialysis Patients // *Dig Dis Sci.* — 2008. — Vol. 53. — P. 3267–3268.
- [4] Pereira B.J., Levey A.S. Hepatitis C virus infection in dialysis and renal transplantation // *Kidney Int.* — 1997. — Vol. 51. — P. 981–999.
- [5] Lok A.S., Chien D., Choo Q.L. et al. Antibody responses to core, envelope and non structural hepatitis C virus antigens: comparison of immunocompetent and immunocompromised patients // *Hepatology* — 1993. — Vol. 18. — P. 497–502.
- [6] Agarwal S.K., Dash S.C., Mehta S.N. et al. Results renal transplantation on conventional immunosuppression in second decade in India: a single-centre experience // *J Assoc Physicians India.* — 2001. — Vol. 50. — P. 532–536.
- [7] Wasley A., Alter M.J. Epidemiology of hepatitis C; geographic differences and temporal trends // *Semin Liver Dis.* — 2000. — Vol. 20. — P. 1–16.
- [8] Fabrizi F., Martin P., Lunghi G., Ponticelli C. Nosocomial transmission of hepatitis C virus infection in haemodialysis patients: clinical perspectives // *Int. J. Artif. Organs.* — 2000. — Vol. 23. — P. 805–816.
- [9] Schneeberger P.M., Keur I., van Loon A.M. et al. The prevalence and incidence of hepatitis C virus infections among dialysis patients in The Netherlands: A nationwide prospective study // *J. Infect. Dis.* — 2000. — Vol. 182. — P. 1291–1299.
- [10] World Health Organization: Hepatitis C — Global prevalence (update) // *Wkly Epidemiol. Rec.* — December, 1999. — Vol. 49. — P. 4–5.
- [11] Agarwal S.K., Dash S.C., Irshad M. Hepatitis C infection during haemodialysis in India // *J. Assoc Physicians India.* — 1999. — Vol. 47. — P. 1139–1143.
- [12] Pereira B.J., Natov S.N., Bouthot B.A. et al. Effects of hepatitis C infection and renal transplantation on survival in end-stage renal disease. The new England organ bank hepatitis C study group // *Kidney Int.* — 1998. — Vol. 53. — P. 1374–1381.
- [13] Kamyar Kalantar-Zadeh, Eric S. Daar, Viktor E. Eysselein, Loren G. Miller Hepatitis C infection in dialysis patients: a link to poor clinical outcome? // *Int. Urol. Nephrol.* — 2007. — Vol. 39. — P. 247–259.
- [14] Stenvinkel P., Barany P., Heimbürger O. et al. Mortality, malnutrition, and atherosclerosis in ESRD: what is the role of interleukin-6? // *Kidney Int. — Suppl.* — P. 103–108.

- [15] Fissell R.B., Bragg-Gresham J.L., Woods J.D. et al. Patterns of hepatitis C prevalence and seroconversion in hemodialysis units from three continents: the DOPPS // *Kidney Int.* — 2004. — Vol. 65. — P. 2335–2342.
- [16] Okuda K., Yokosuka O. Natural history of chronic hepatitis C in patients on hemodialysis: case control study with 4–23 years of follow-up. // *World J. Gastroenterol.* — 2004. — Vol. 10. — P. 2209–2212.
- [17] Guh J.Y., Lai Y.H., Yang C.Y. et al. Impact of decreased serum transaminase levels on the evaluation of viral hepatitis in hemodialysis patients // *Nephron.* — 1995. — Vol. 69. — P. 459–465.
- [18] Espinosa M., Martin-Malo A., Alvarez de Lara M.A. et al. High ALT levels predict viremia in anti-HCVpositive HD patients if a modified normal range of ALT is applied // *Clin. Nephrol.* — 2000. — Vol. 54. — P. 151–156.
- [19] Al-Harbi A.S., Malik G.H., Subaity Y. et al. Treatment of acute hepatitis C virus infection with alpha interferon in patients on hemodialysis // *Saudi J. Kidney Dis. Transpl.* — 2005. — Vol. 16. — P. 293–297.
- [20] Kalantar-Zadeh K., McAllister C.J., Miller L.G. Clinical characteristics and mortality in hepatitis C positive haemodialysis patients: a population based study // *Nephrol Dial Transplant.* — 2005. — Vol. 5. — P. 1662–1669.
- [21] Abdel-Hamid M., El-Daly M., El-Kafrawy S. et al. Comparison of second- and third-generation enzyme immunoassays for detecting antibodies to hepatitis C virus // *J. Clin. Microbiol.* — 2002. — Vol. 40. — P. 1656–1659.
- [22] Kalantar-Zadeh K., Miller L.G., Daar E.S. Diagnostic discordance for hepatitis C virus infection in hemodialysis patients // *Am J. Kidney Dis.* — 2005. — Vol. 46. — P. 290–300.
- [23] Medhi S., Potukuchi S.K., Polipalli S.K., Swargiary S.S. Diagnostic utility of hepatitis C virus core antigen in hemodialysis patients // *Clinical Biochemistry.* — 2008. — Vol. 41. — P. 447–452.
- [24] Alter M.J., Kuhnert W.L., Finelli L. Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for laboratory testing and result reporting of antibody to hepatitis C virus // *Centers for Disease Control and Prevention. MMWR Recomm. Rep.* — 2003. — Vol. 52. — P. 1–13.
- [25] Hazari S., Acharya S.K., Panda S.K. Development and evaluation of a quantitative competitive reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) for hepatitis C virus RNA in serum using transcribed thio-RNA as internal control // *J. Virol. Methods.* — 2004. — Vol. 116. — P. 45–54.
- [26] Somsouk M., Deston E., Langfield, John M. Cost-Identification Analysis of Screening and Surveillance of Hepatitis C Infection in a Prospective Cohort of Dialysis Patients // *Dig Dis. Sci.* — 2008. — Vol. 53. — P. 1093–1099.
- [27] Fabrizi F. and Martin P. Occult Hepatitis C Virus Infection in Hemodialysis // *J. Am Soc Nephrol.* — 2008. — Vol. 19. — P. 2248–2250.
- [28] Blackhard J.T., Kemmer N., Sherman K.E. Extrahepatic replication of HCV: Insights into clinical manifestations and biological consequences // *Hepatology.* — 2006. — Vol. 44. — P. 15–22.
- [29] Castillo I., Pardo M., Bartolome J. et al. Occult hepatitis C virus infection in patients in whom the etiology of persistently abnormal results of liver function tests is unknown // *J. Infect. Dis.* — 2004. — Vol. 189. — P. 7–14.
- [30] Oesterreicher C., Hammer J., Koch U. et al. HBV and HCV genome in peripheral blood mononuclear cells in patients undergoing chronic hemodialysis // *Kidney International.* — 1995. — Vol. 48. — P. 1967–1971.
- [31] Chan T-M, Lok A., Cheng I., Chan RT. A prospective study of hepatitis C virus infection among renal transplant recipients // *Gastroenterology.* — 1993. — Vol. 104. — P. 862–868.
- [32] Pham T.N., MacParland S.A., Mulrooney P.M. et al. Hepatitis C virus persistence after spontaneous or treatment induced resolution of hepatitis C // *J. Virol.* — 2004. — Vol. 78. — P. 5867–5874.
- [33] Jadoul M., Cornu C., van Ypersele de Strihou C: Universal precautions prevent hepatitis C virus transmission: A 54 month follow-up of the Belgian Multicenter Study. The Universitaires Cliniques St-Luc (UCL) Collaborative Group // *Kidney Int.* — 1998. — Vol. 53. — P. 1022–1025.
- [34] Carboognin S.J., Solomon N.M., Yeo F.E. et al. Acute Renal Allograft Rejection Following Pegylated IFN- $\alpha$  Treatment for Chronic HCV in a Repeat Allograft Recipient on Hemodialysis // *A Case Report. American Journal of Transplantation.* — 2006 — Vol. 6. — P. 1746–1751.
- [35] Roth D., Frenandez J., Demattos A. The impact of hepatitis C virus on potential renal allograft recipients // *J. Am Soc Nephrol.* — 1992 — Vol. 3. — P. 878–891.
- [36] Mousa D.H., Abdala A.H., Al-Shoail G. et al. Alpha-interferon with ribavirin in the treatment of hemodialysis patients with hepatitis C // *Transplant Proc.* — 2004. — Vol. 36. — P. 1831–1834.
- [37] Duarte R., Huraib S., Said R. et al. Interferon-alpha facilitates renal transplantation in hemodialysis patients with chronic viral hepatitis // *Am J. Kidney Dis.* — 1995. — Vol. 25. — P.40–45.
- [38] Natov S.N., Pereira B.J. Hepatitis C virus infection in patients on maintenance dialysis, in *UpToDate* (since Oct 2005), edited by Rose B, Wellesley, MA, UpToDate, Inc.
- [39] Mousa D.H., Abdalla A.H., Al-Shoail G. et al. Alpha-interferon with ribavirin in the treatment of hemodialysis patients with hepatitis C // *Transplant Proc.* — 2004. — Vol. 36. — P. 1831–1834.
- [40] Arrais T.C., Dooren S., Vandamme A., Brechot C. Change in Hepatitis C Virus Genotype in Hemodialysis Patients After End-of-Treatment Response to Interferon Monotherapy — Relapse or Re-Infection? // *Journal of Medical Virology.* — 2008. — Vol. 80. — P. 80–86.
- [41] Meyers C.M., Seeff L.B., Stehman-Breen C.O. et al. Hepatitis C and renal disease: un update // *Am J. Kidney Dis.* — 2003. — Vol. 42. — P. 631–657.
- [42] Tan A., Brouwer J.T., Glue P. et al. Safety of interferon and ribavirin therapy in haemodialysis patients with chronic hepatitis C: results of a pilot study // *Nephrol. Dial. Transplant.* — 2001. — Vol. 16. — P. 193–195.
- [43] Mousa D.H., Abdalla A.H., Al-Shoail G. et al. Alpha-interferon with ribavirin in the treatment of hemodialysis patients with hepatitis C // *Transplant Proc.* — 2004. — Vol. 36. — P. 1831–1834.
- [44] Teta D., Landtwing Lüscher B., Gonvers J-J. et al. Pegylated interferon for the treatment of hepatitis C virus in haemodialysis patients // *Nephrol Dial. Transplant.* — 2005. — Vol. 20. — P. 991–993.

- [45] Woitas R.P., Petersen U., Moshage D. et al. HCV-specific cytokine induction in monocytes of patients with different outcomes of hepatitis C // *World J. Gastroenterol.* — 2002. — Vol. 8. — P. 562–566.
- [46] Watanabe H., Saito T., Shinzawa H. et al. Spontaneous elimination of serum hepatitis C virus (HCV) RNA in chronic HCV carriers: A population-based cohort study // *J. Med. Virol.* — 2003. — Vol. 71. — P. 56–61.
- [47] Dalgard O. Follow-up studies of treatment for hepatitis C virus infection among injection drug users // *Clin. Infect. Dis.* — 2005. — Vol. 40. (Suppl. 5) — P. 336–338.
- [48] Craig E. Gordon, MD, MS, Katrin Uhlig, MD, MS, Joseph Lau, MD Interferon Treatment in Hemodialysis Patients With Chronic Hepatitis C Virus Infection: A Systematic Review of the Literature and Meta-analysis of Treatment Efficacy and Harms.
- [49] Kamar N., Toupance O., Buchler M. et al. Evidence that clearance of hepatitis C virus RNA after alpha-interferon therapy in dialysis patients is sustained after renal transplantation // *J. Am Soc. Nephrol.* — 2003. — Vol. 14(8). — P. 2092–2098.
- [50] Kamar N., Izopet J., Rostaing L. In reply to 'evidence of occult hepatitis C virus infection in hemodialysis patients' // 2009 by the National Kidney Foundation, Inc.
- [51] Barril G., Castillo I., Carreño V. Evidence of occult hepatitis C virus infection in hemodialysis patients // 2009 by the National Kidney Foundation, Inc.
- [52] Lemos L.B., Perez R.M., Matos C.A., Silva I.S. Clinical and Laboratory Characteristics of Acute Hepatitis C in Patients With End-stage Renal Disease on Hemodialysis // 2008 Lippincott Williams & Wilkins
- [53] Jadoul M., Cornu C., van Ypersele, de Strihou C. Incidence and risk factors for hepatitis C seroconversion in hemodialysis: a prospective study. The UCL Collaborative Group. *Kidney Int.* — 1993. — Vol. 44. — P. 1322–1326.
- [54] Okuda K., Hayashi H., Yokozeki K. et al. Acute hepatitis C among renal failure patients on chronic haemodialysis // *J. Gastroenterol Hepatol.* — 1998. — Vol. 13. — P. 62–67.
- [55] Agarwal S.K., Dash S.C., Gupta S. Hepatitis C Virus Infection in Haemodialysis: The 'No-Isolation' Policy Should Not Be Generalized *Nephron Clin. Pract.* — 2009. — Vol. 111. — P.133–140.
- [56] al Meshari K., al Ahdal M., Alfurayh O. et al. New insights into hepatitis C virus infection of haemodialysis patients: the implications // *Am J. Kidney Dis.* — 1995. — Vol. 25. — P. 572–578.
- [57] Kose S., Gurkan A., Akman F. Treatment of hepatitis C in hemodialysis patients using pegylated interferon a-2a in Turkey // *J. Gastroenterol.* — 2009. — Vol. 44. — P. 353–358.
- [58] Vikrant S., Agarwal S.K., Gupta S. et al. Prospective randomised control trial of isoniazid chemoprophylaxis during renal replacement therapy // *Transplant Infect. Dis.* — 2005. — Vol. 7. — P. 99–108.
- [59] Koksai I. Pegylated interferon for treatment in hemodialysis patients with chronic hepatitis C // *J. Gastroenterol. Hepatol.* — 2006. — Vol. 21. — P. 575–580.
- [60] Fabrizi F., Lunghi G., Martin P.. Recent advances in the management of hepatitis C in the dialysis population // *Int. J. Artif. Organs.* — 2002. — Vol. 25. — P. 503–511.
- [61] Yu M.L., Chuang W.L., Chen S.C. et al. Changing prevalence of hepatitis C virus genotypes: molecular epidemiology and clinical implications in the hepatitis C virus hyperendemic areas and a tertiary referral center in Taiwan // *J. Med. Virol.* — 2001. — Vol. 65. — P. 58–65.
- [62] Fabrizi F., Martin P., Bunnapradist S. Treatment of chronic viral hepatitis in patients with renal disease // *Gastroenterol. Clin. North Am.* — 2004. — Vol. 33. — P. 655–670.
- [63] Fabrizi F., Dulai G., Dixit V. et al. Meta-analysis: interferon for the treatment of chronic hepatitis C in dialysis patients // *Aliment Pharmacol. Ther.* — 2003. — Vol. 18. — P. 1071–1081.
- [64] Lamb M.W., Marks I.M., Wynohradnyk L. et al. 40 kDa peginterferon alfa-2a (Pegasys) can be administered safely in patients with end-stage renal disease [Abstract] // *Hepatology.* — 2001. — Vol. 34 (Suppl. 326A).
- [65] Gupta S.K., Pittenger A.L., Swan S.K. et al. Single-dose pharmacokinetics and safety of pegylated interferon-alpha2b in patients with chronic renal dysfunction // *J. Clin. Pharmacol.* — 2002. — Vol. 42. — P. 1109–1115.
- [66] Roth D. Hepatitis C virus: the nephrologist's view // *Am. J. Kidney Dis.* — 1995. — Vol. 25. — P. 3–16.
- [67] Rorstang L., Izopet J., Cisterne J.M. et al. Prevalence of antibodies to hepatitis C virus and correlation with liver disease in renal transplant recipients // *Am. J. Nephrol.* — 1997. — Vol. 17. — P. 46–52.
- [68] Furusyo N., Hayashi J., Kanamoto-Tanaka Y. et al. Liver damage in hemodialysis patients with hepatitis C virus viremia: a prospective 10-year study // *Dig. Dis. Sci.* — 2000. — Vol. 45. — P. 2221–2228.
- [69] Kokoglu O.F., Uçmak H., Hosoglu S. Efficacy and tolerability of pegylated-interferon alpha-2a in hemodialysis patients with chronic hepatitis C // *Journal of Gastroenterology and Hepatology.* — 2006. — Vol. 21. — P. 575–580.
- [70] Martin P, Carter D, Fabrizi F et al. Histopathological features of hepatitis C in renal transplant candidates // *Transplantation.* — 2000. — Vol. 69. — P. 1479–1484.
- [71] Russo M. W., Ghalib R., Sigal S., Joshi V. Randomized trial of pegylated interferon a-2b monotherapy in haemodialysis patients with chronic hepatitis C // *Nephrolog. Dial. Transplant.* — 2006. — Vol. 21. — P. 437–443.

## О двух типах групп с высоким риском инфицирования вирусами гепатитов В и С: эпидемиологическое и клиническое значение

А.Э. Дадашева, М.К. Мамедов, М.И. Михайлов

<sup>1</sup> НИИ гематологии трансфузиологии им. Б. Эйвазова, Баку;

<sup>2</sup> Национальный центр онкологии, Баку, Азербайджан;

<sup>3</sup> Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова РАМН, Московская область

Как известно, инфекции, вызванные вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ), вирусом гепатита В (ВГВ) и вирусом гепатита С (ВГС), характеризуются несколькими существенными особенностями, которые отличают их от многих других вирусных инфекций и в эпидемиологическом отношении сближают их. Именно эти особенности позволяют объединить указанные инфекции под общей рубрикой так называемых трансфузионных (парентеральных или гемоконтактных) вирусных инфекций [1-3].

Одна из таких особенностей состоит в том, что в обусловленные этими вирусами процессы чаще всего вовлекаются лица, принадлежащие к одним и тем же сходным по составу социально-профессиональным группам населения, условно называемым "группами, отличающимися высоким риском инфицирования" или "группами с высоким риском инфицирования". Каждую из таких групп формируют лица, выделяемые из общей популяции населения по общему признаку резко повышенной вероятности инфицирования ВИЧ, ВГВ и ВГС в силу более частых, более длительных или более тесных контактов с потенциальными источниками этих вирусных инфекции [4].

Поскольку ВГВ и ВГС способны распространяться посредством 2 механизмов инфицирования, реализуемых в естественных условиях: контактным механизмом и, по сути

антропоургическим, парентеральным механизмом. Ранее, взяв за основу преимущественно реализуемый механизм инфицирования, мы выделили 2 типа таких групп [5, 6]. Эти группы риска представлены в таблице 1.

Представители групп высокого риска 1-го типа инфицируются посредством контактного механизма передачи вирусов, который обеспечивает их проникновение в организм одним из трех естественных путей: половым, перинатальным или галактогенным.

К группам 2-го типа относят категории лиц, которые инфицируются посредством парентерального (гемоконтактного) механизма передачи вирусов, который обеспечивает их проникновение в организм всеми известными искусственными путями передачи ВГВ и ВГС, реализация которых всегда так или иначе обусловлена активной деятельностью человека.

Нам представляется, что выделение двух указанных выше типов групп с высоким риском инфицирования в отношении ВГВ и ВГС целесообразно не только с теоретической и дидактической точек зрения. Выделение этих типов групп целесообразно и с позиции совершенствования системы эпидемиологического надзора, который по отношению к этим типам групп риска должен проводиться по-разному, с использованием различных подходов к организации профилактических и противоэпидемических мероприятий.

**Таблица 1.** Два типа групп высокого риска инфицирования ВГВ и ВГС

Типы групп	Механизм инфицирования	Лица, относящиеся к группам высокого риска инфицирования ВГВ и ВГС
Первый	Контактный	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Новорожденные дети, родившиеся у инфицированных матерей</li> <li>2. Дети, получающие грудное молоко инфицированных матерей</li> <li>3. Лица, ведущие сверхактивную половую жизнь</li> <li>4. Лица, вовлеченные в проституцию</li> <li>5. Лица, вовлеченные в практику гомосексуальных отношений</li> </ol>
Второй	Парентеральный (гемоконтактный)	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Потребители инъекционных наркотиков</li> <li>2. Некоторые категории медицинских работников</li> <li>3. Лица, подвергающиеся частым гемотрансфузиям</li> <li>4. Лица, подвергающиеся экстракорпоральной детоксикации</li> <li>5. Больные хроническими заболеваниями, длительно пребывающие в клинических учреждениях</li> </ol>

В этой связи, необходимо особо подчеркнуть и то, что, хотя контактный механизм передачи ВГВ и ВГС и сегодня полностью сохранил свою прежнюю эпидемиологическую роль, наибольшее значение приобрел парентеральный механизм инфицирования этими вирусами. Это обусловлено двумя причинами. Во-первых, современная медицина характеризуется широким применением инвазивных лечебно-диагностических методов [7]. Во-вторых, потребление инъекционных наркотиков ныне получило глобальное распространение [8]. Именно поэтому ведущим механизмом распространения ВГВ и ВГС, обеспечивающим непрерывность вызванных ими эпидемических процессов, является именно парентеральный механизм.

Действительно, в силу способности ВГВ и ВГС на протяжении многих лет, а порой и всей жизни, персистировать в организме инфицированных лиц, именно группы риска 2-го типа считаются важнейшими "коллективными" резервуарами этих вирусов, из которых последние регулярно "выносятся" в общую популяцию населения, поддерживая эпидемические процессы в тех масштабах, которые характерны для начала XXI в. Это обстоятельство предопределяет важное эпидемиологическое значение групп высокого риска инфицирования, в первую очередь, 2-го типа [9].

Вместе с тем, широкое распространение указанных инфекций в этих контингентах ставит ряд серьезных вопросов и перед клиницистами, занятыми лечением гепатитов В и С.

Постановка этих вопросов прямо обусловлена тем, что у большинства представителей групп риска 2-го типа имеются хронические заболевания, из-за наличия которых они длительное время находятся на стационарном лечении (или периодически госпитализируются в узкопрофильные стационары) и, потому подвергаются повышенному риску нозокомиального инфицирования этими вирусами. Исключение в этом отношении не составляют и регулярные потребители инъекционных наркотиков, большинство из которых также нуждается в специализированной медицинской помощи. Именно в силу этих особенностей в свое время мы условно назвали такие группы "медицинскими" [10].

Среди хронических заболеваний, наличие которых предопределяет "включение" больных в группу высокого риска инфицирования этими вирусами, наиболее многочисленными являются: 1) больные туберкулезом (сегодня в мире проживает более 100 млн. таких больных); 2) ВИЧ-инфицированные лица, число которых в 2009 г. приближалось к 38 миллионам; 3) лица, непосредственно вовлеченные в инъекционную наркоманию, число которых

лишь по официальным данным в мире ныне превышает 15 млн.; 4) больные злокачественными опухолями и гемобластомами (число таких больных в мире превышает 10 млн. человек); 5) больные почечной недостаточностью, находящихся на программном гемодиализе (сегодня число таких пациентов в мире также исчисляется миллионами) [11].

В свою очередь, в основе особого клинического значения ВГВ- и ВГС-инфекций у лиц из перечисленных выше групп лежат два обстоятельства.

Во-первых, у абсолютного большинства из них регулярно отмечаются вторичные нарушения в функционировании иммунной системы, в итоге приводящие к иммунологической недостаточности и иммунодефициту. Так, у ВИЧ-инфицированных лиц иммунные нарушения являются следствием иммунотропного действия ВИЧ, у больных туберкулезом и злокачественными опухолями иммунологические нарушения обусловлены основными заболеваниями, а у больных гемобластомами и другими заболеваниями крови в формировании иммунологической недостаточности вклад вносит и анемия, которая обуславливает персистентную гипоксию. У пациентов, находящихся на гемодиализе, иммунодепрессия обусловлена как почечной недостаточностью, так и воздействием самого гемодиализа. Дисфункция иммунной системы регулярно отмечается и у потребителей инъекционных наркотиков. Она является следствием продолжительной наркотической интоксикации, при которой страдает и иммунная система [12].

Во-вторых, все перечисленные выше лица из групп риска 2-го типа нуждаются в лечении имеющихся у них и перечисленных выше заболеваний и патологических состояний. Так, ВИЧ-инфицированные лица нуждаются в антиретровирусной терапии, больные туберкулезом — в противотуберкулезном лечении, онкологические больные — в противоопухолевой терапии и т. д. Однако с одной стороны, наличие у них дисфункции печени, обусловленной гонадотропными вирусными инфекциями, может ограничивать возможности такого лечения. С другой стороны, возможности этиотропной терапии хронических гепатитов В и С у них могут быть ограничены из-за наличия упомянутых выше заболеваний.

Эти обстоятельства прямо указывают на то, что инфицированные ВГВ и/или ВГС представители групп высокого риска 2-го типа должны быть признаны особым и, при этом, достаточно многочисленным контингентом больных в том отношении, что развитие этих инфекций у них может отличаться разнообразием форм течения и своеобразием клинико-лабораторных проявлений, а их лабораторная

диагностика и лечение могут потребовать применения особых подходов.

Вместе с тем, необходимо отметить, что имеющиеся в настоящее время данные об особенностях течения и клинических проявлений этих инфекций у лиц, относящихся к числу групп 2-го типа, не могут считаться исчерпывающими, и многие вопросы в этой проблеме остаются без определенного ответа. Поэтому дальнейшее целенаправленное изучение патогенетических и клинических особенностей развития ВГВ- и ВГС-инфекций у этих лиц сегодня имеет весьма важное самостоятельное научно-практическое значение.

### Литература

- [1] Белозеров Е.С., Иоанниди Е.А. Курс эпидемиологии. Элиста: АПП Джангар, 2005. — 136 с.
- [2] Рагимов А.А., Дашкова Н.Г. Трансфузионная иммунология. М.: ВУНМЦ, 2004. — 269 с.
- [3] Шахильдян И.В., Михайлов М.И., Онищенко Г.Г. Парентеральные вирусные гепатиты, М.: ГОУ ВУНМЦ, 2003. — 349 с.
- [4] Мамедов М.К., Михайлов М.И., Семенов Т.А., Дадашева А.Э. Трансфузионных вирусные гепатиты: традиционные и нетрадиционные аспекты медико-социального значения // Мир вирусных гепатитов. — 2005. — № 2. — С. 4–12.
- [5] Мамедов М.К., Дадашева А.Э. Механизм инфицирования как основа классификации групп высокого риска инфицирования вирусами гепатита В и С // Современные достижения азербайджанской медицины. — 2006. — № 2. — С. 42–45.
- [6] Мамедов М.К., Михайлов М.И. Трансфузионных вирусные гепатиты и онкологические заболевания, М.: Кристалл, 2008. — 276 с.
- [7] Мамедов М.К., Дадашева А.Э. Глобальное распространение трансфузионных вирусных гепатитов как непредвиденное последствие технологического прогресса в медицине // Биомедицина. — 2008. — № 2. — С. 3–8.
- [8] Дадашева А.Э., Кадырова А.А. Мамедов М.К. Роль инъекционной наркомании в распространении трансфузионных вирусных инфекций // Биомедицина. — 2008. — № 2. — С. 9–13.
- [9] Дадашева А.Э. Эпидемиологическое и клиническое значение групп с высоким риском парентерального инфицирования вирусами гепатита В и С // Здоровье (Баку). — 2010. — № 1. — С. 198–201.
- [10] Дадашева А.Э., Мамедов М.К. О значении "медицинских" групп с высоким риском инфицирования вирусами гепатитов В и С в поддержании циркуляции этих вирусов в общей популяции / Мат. 3-го Национальн. конгресса Азербайджана по аллергологии, иммунологии и иммунореабилитации, Баку, 2008. — С. 63–65.
- [11] Дадашева А.Э., Михайлов М.И. Значение трансфузионных вирусных гепатитов в контингентах неинфекционных больных, отличающихся высоким риском инфицирования/ Гепатит В, С и D — проблемы диагностики, лечения и профилактики. Мат. 5-й Российской научной конференции, М., 2003. — С. 74–75.
- [12] Дадашева А.Э., Михайлов М.И., Мамедов М.К. Аспекты клинического значения иммунокомпрометации лиц из групп с высоким риском парентерального инфицирования вирусами гепатитов В и С // Биомедицина. — 2010. — № 1. — С. 16–19.

## Телапревир (VX-950) — ингибитор протеазы вируса гепатита С

Л.Ю. Ильченко

*Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова РАМН, Московская область*

### Введение

Вирусный гепатит С является существенной проблемой здравоохранения мира. Среди населения земного шара инфицированность вирусом гепатита С (HCV) достигает 3% и у 170 млн. человек выявляются маркеры этой инфекции [1]. У большей части пациентов с хронической HCV-инфекцией прогрессирование поражения печени приводит к развитию цирроза, гепатоцеллюлярной карциномы (ГЦК) и смерти [2].

Начиная с идентификации в 1989 г. генома HCV, на сегодня достаточно полно изучены его биология, генетическая разнородность, естественное течение инфекции, которую он вызывает. Кроме этого, разработана противовирусная терапия (ПВТ) хронического гепатита С (ХГС).

При прогнозе эффективности персонализированной терапии хронической HCV-инфекции учитывается вирусная кинетика (быстрый вирусологический ответ (БВО) и ранний вирусологический ответ (РВО) — неопределяемый уровень RNA HCV на 12 и 4 неделях ПВТ соответственно), динамика уровня виремии в процессе ПВТ, генотип HCV, квазивиды, возраст, раса и др. критерии.

Особое значение сегодня придается полиморфизму гена интерлейкина 28В — IL28В (rs8099917, rs12980275, rs12979860 и др.), с которым связывают развитие стойкого вирусологического ответа (СВО — недетектируемый уровень RNA HCV через 24 нед. после завершения ПВТ) [3–5]. Между тем опубликованы данные, свидетельствующие о том, что собственно HCV также имеет генетические детерминанты, определяющие устойчивость вируса к ПВТ [6].

В клинических исследованиях продемонстрирована эффективность комбинированной ПВТ (пегилированные интерфероны-альфа (Пег-ИФН-α) в сочетании с рибавирином (РБВ)), которая в целом обеспечивает СВО лишь у 50–60% пациентов. Кроме того, эта терапия сопровождается развитием существенного спектра нежелательных явлений (НЯ) (гриппоподобный синдром, цитопении, депрессия и др.). Недостаточная эффективность, побочные эффекты, а также необходимость уменьшения продолжительности лечения (24–48 нед.) являются основанием для разработки препаратов новых классов. Одним из представ

вителей нового класса ингибиторов протеазы вируса гепатита С является теллапревир (VX-950), завершивший III фазу клинических исследований.

### Структура вируса гепатита С и таргетная терапия

HCV относится к семейству Flaviviridae к роду *Hepacivirus* [7, 8]. Геном вируса представлен одноцепочечной РНК, имеющую положительную полярность. Она содержит одну открытую рамку считывания, ограниченную с 5'- и 3'-концов нетранслируемыми областями, которые кодируют белок-предшественник. При участии клеточных и вирусных ферментов из него образуются все полипептиды HCV: капсидный (core), оболочечные (E1 и E2), виropорин (p7), NS2-протеаза, сериновая протеаза-хеликаза (NS3), кофактор сериновой протеазы (NS4a), компоненты репликативного комплекса (NS4b и NS5a), РНК-зависимая РНК-полимераза (NS5b).

Один из терапевтических подходов, позволяющих повысить эффективность лечения — это разработка препаратов, специфично влияющих на цикл репликации вируса, т.е. препаратов с прямым противовирусным действием (ПППД). Теоретически эти лекарственные средства могут быть направлены на любой этап цикла репликации HCV.

В клинических исследованиях, проводимых в настоящее время, получены доказательства эффективности специфической целенаправленной противовирусной терапии гепатита С (Specifically Targeted Antiviral Therapy for hepatitis C (STAT-C)) или таргетной терапии (target (англ.) — мишень, цель, объект).

Выделяют ПППД, которые оказывают прямое ингибирование сериновой протеазы NS3/4A (обеспечивающей процессинг полипротеина HCV с получением зрелых вирусных белков), NS5B полимеразы (воспроизводящей RNA вирусного генома) и NS5A (функционирующей в составе комплекса репликазы).

Механизм действия ингибиторов протеазы связан с блокадой расщепления вирусного полипротеина на структурные и неструктурные компоненты, которые необходимы для функционирования вируса; противовирусная эффективность ингибиторов полимеразы определяется блокированием репликации вирус-

ной RNA. В настоящее время наиболее хорошо изучены ингибиторы сериновой протеазы NS3/4A HCV.

### **Телапревир (VX-950) в лечении хронического гепатита С**

Телапревир (VX-950), который представляет собой производное  $\alpha$ -кетоамида, является мощным и высокоизбирательным ингибитором протеазы NS3/4A HCV, соединяясь ковалентной обратимой связью с NS3/NS4A протеазой вируса в инфицированных гепатоцитах [9,10].

Опубликованы результаты трех завершившихся мультицентровых рандомизированных исследований фазы II – PROVE-1 [11], PROVE-2 [12], PROVE-3 [13], которые убедительно демонстрируют преимущество тройной терапии у пациентов с ХГС, инфицированных 1 генотипом HCV, в сравнении со стандартной ПБТ, включающей сочетанную терапию Пег-ИФН- $\alpha$ 2а и РБВ.

В исследованиях PROVE-1, PROVE-2 у пациентов, ранее не получавших ПБТ, отмечена более высокая частота СВО (61% и 69% соответственно) при сокращенном вдвое (до 24 нед.) курсе ПБТ в сравнении с частотой СВО у пациентов, получавших стандартную терапию в течение 48 нед. (41% и 46% соответственно).

В исследовании PROVE-3 у пациентов, ранее не ответивших на стандартную ПБТ, присоединение теллапревира значительно увеличивало частоту СВО (52%) при 24 нед. терапии в сравнении с пациентами, получавшими курс стандартного лечения – Пег-ИФН- $\alpha$ 2а и РБВ (14%). Наибольшая эффективность была отмечена в группе пациентов с рецидивом виремии (обнаружение RNA HCV в течение 24 недель после формирования СВО) в сравнении с пациентами, не ответившими на лечение, а также у пациентов с ХГС в отсутствие мостовидных некрозов и без формирования ЦП.

В процессе изучения прямого противовирусного действия также анализировалась эффективность различных доз теллапревира (протокол C208). Так, P. Marcellin и соавт., 2009 [14] у пациентов с ХГС, ранее не получавших лечения, наблюдали высокую частоту развития БВО независимо от дозы теллапревира (1125 мг x 2 раза в сут. или 750 мг x 3 в сут.), включенного в 12-и недельный курс комбинированной ПБТ Пег-ИФН- $\alpha$ 2а(2b) в сочетании с РБВ (80% и 83% против 69% и 67% при стандартной терапии Пег-ИФН- $\alpha$ 2а(2b) и РБВ соответственно).

Наиболее распространенными нежелательными явлениями (НЯ) в группе пациентов, принимавших теллапревир, являлись кожный зуд и сыпь (47–59% против 35–41% в контроле). Так, в исследовании PROVE-1 ча-

стота прекращения лечения вследствие развития нежелательных явлений (НЯ) была выше в группах у пациентов с ХГС, получающих теллапревир, в сравнении с больными из контрольной группы (12–21% и 7–11% соответственно). Часть больных отмечала тошноту, рвоту и диарею. Кроме этого, на фоне терапии теллапревиром несколько чаще, чем при стандартной схеме лечения, выявляли анемию. Однако отказ от продолжения ПБТ в основном был связан с беспокоящей пациентов кожной сыпью [11]. Аналогичные НЯ отмечены в ходе ПБТ у пациентов с исследованиях PROVE-2 и PROVE-3.

Проведен анализ завершившегося рандомизированного двойного слепого плацебо контролируемого исследования (протокол C210), в ходе которого было оценено влияние предварительного двухнедельного курса теллапревира на частоту достижения СВО у больных ХГС с генотипом 4 HCV [15].

Оценка эффективности теллапревира проводилась в трех группах (по 8 пациентов в каждой). Препарат назначался в качестве предварительной монотерапии, в сочетании со стандартной ПБТ (Пег-ИФН- $\alpha$ 2а + РБВ) и в качестве плацебо. Доза теллапревира составила 750 мг x 3 в сут., Пег-ИФН- $\alpha$ 2а – 180 мкг, РБВ – 1000–1200 мг/сут. Общая длительность проведенного курса двойной терапии ХГС составила не менее 48 нед.; с предварительным курсом теллапревира – 50 нед. Все пациенты, включенные в исследование, ранее не получали ПБТ. У половины из них до начала лечения уровень виремии превышал 800000 МЕ/мл. Двухнедельная монотерапия теллапревиром не привела к значимому снижению уровня виремии (0,72 log<sub>10</sub> МЕ/мл). В то же время включение теллапревира в тройную ПБТ привело к значимому снижению виремии на 4,32 log<sub>10</sub> МЕ/мл, а в группе с плацебо – на 1,58 log<sub>10</sub>. Достижение СВО отмечено у 5/8 пациентов, получавших предварительный курс монотерапии теллапревиром, у 5/8 – в группе с плацебо и у 4/8 – при тройной ПБТ. Уровень виремии после двухнедельного курса ПБТ не сказывался на частоте достижения раннего вирусологического ответа на 12 нед. (РВО – снижение уровня виремии до <25 МЕ/мл или недетектируемого) и СВО.

Спектр НЯ и причины прекращения терапии не отличались от таковых у пациентов с ХГС, наблюдавшихся с целью оценки профиля безопасности теллапревира в других исследованиях [11–13].

Опубликованы данные экспериментальных и клинических исследований, касающиеся эффективности теллапревира и других ингибиторов вирусной протеазы, в которых отмечен высокий риск развития резистентных



штаммов HCV. Популяционное секвенирование протеазы NS3/4A у пациентов с хронической HCV-инфекцией, ранее не получавших ПВТ, показало, что варианты, в разной степени устойчивые к ингибиторам протеазы вируса, встречаются очень редко (1%) [12]. Однако для развития резистентности достаточно формирования одной мутации, что указывает на низкий генетический барьер к устойчивости не только у телупревира, но и у других представителей этой группы лекарственных средств. Кроме того, при появлении множества общих мутаций имеется высокий риск развития перекрестной резистентности между препаратами [16].

Так, при очевидном преимуществе, т.е. более высокой частоте достижения БВО и СВО при сочетании телупревира с Пег-ИФН- $\alpha$ 2а и РБВ и даже при более коротком курсе ПВТ, наблюдается увеличение частоты НЯ и риск селекции резистентных штаммов HCV. При ПВТ уже в течение нескольких дней лечения могут развиваться резистентные к телупревиру варианты HCV, снижающие его эффективность. При этом уровень вирусемии вначале снижается (даже до неопределяемого), а затем, в ходе ПВТ, увеличивается (не менее чем на 1–2  $\log_{10}$  МЕ/мл), т.е. регистрируется вирусологический прорыв (как правило, в течение первых 12 нед. приема телупревира). Так, вирусологический прорыв, отмеченный у 7% (12/175) пациентов с ХГС, получавших телупревир, наблюдался на 1–4 нед. (9/12) и у 3/12 — на 5–12 нед. тройной терапии ПВТ (Пег-ИФН- $\alpha$ 2а, РБВ и телупревир) [11].

Наиболее частой причиной развития лекарственной устойчивости к телупревиру оказалась сочетанная мутация V36M/V + R155K. Вирусологический прорыв чаще наблюдали у пациентов, инфицированных подтипом 1a HCV, чем подтипом 1b [17].

В исследовании PROVE-2 частота развития вирусологического прорыва была в восемь раз выше у пациентов, получавших двойную комбинированную терапию телупревиrom и Пег-ИФН- $\alpha$  по сравнению с тройной комбинацией (телупревир, Пег-ИФН- $\alpha$ 2а, РБВ) [12]. Эти результаты позволяют предположить, что РБВ играет важную роль в супрессии репликации HCV и снижении частоты развития прорыва.

Снижение вероятности формирования резистентности HCV к ПППД во многом достигается увеличением частоты достижения СВО. В оптимизации частоты достижения СВО при применении ПППД важную роль играют множество факторов, а именно: мощность и внутриклеточная концентрация ингибитора, генетические барьер для развития лекарственной резистентности, жизнеспособность устойчивых вариантов HCV, факторы организма

хозяина, продолжительность и схемы комбинированного лечения, дозы ПППД, интервал дозирования препарата, соблюдение режима лечения.

Результаты исследований II фазы были подтверждены в ходе рандомизированных двойных слепых плацебо-контролируемых исследований фазы III ADVANCE, ILLUMINATE и REALIZE, проведенных с участием более 2 тыс. пациентов.

В исследование ADVANCE были включены пациенты с ХГС, генотипом 1, ранее не получавшие ПВТ [18]. Целью исследования являлась оптимизация частоты достижения СВО при использовании комбинации стандартной терапии Пег-ИФН- $\alpha$ 2а и РБВ с включением телупревира в дозе 750 мг x 3 в сут.

Пациенты (n=1095) были разделены на три группы в зависимости от длительности применения телупревира (8 нед., 12 нед. и прием плацебо в течение 12 нед.). Общая продолжительность ПВТ составила 48 нед. для всех групп. В зависимости от включения в схему ПВТ телупревира и длительности его приема СВО составил 69%, 75% и 44% соответственно. Исследователи отметили значительное число пациентов с различными НЯ (25%). Но кожный зуд, тошнота, кожные высыпания, анемия и диарея наблюдались чаще у пациентов с ХГС при тройной терапии (на 10%), чем при стандартной ПВТ (Пег-ИФН- $\alpha$ 2а и РБВ). В целом прекращение терапии и частота НЯ чаще регистрировались у больных, получавших двойную терапию, в сравнении с пациентами при проведении ПВТ с включением телупревира (33% и 10% соответственно).

Исследование ILLUSTRATING THE EFFECTS OF COMBINATION THERAPY WITH TELAPREVIR было нацелено на подтверждение возможности сокращения общей длительности терапии до 24 нед. в случае достижения БВО у пациентов, ранее не получавших ПВТ [19]. Проводили сравнительный анализ достижения СВО у ранее нелеченных пациентов с ХГС и наличием 1 генотипа HCV (n=540) в зависимости от развития БВО и продолжительности комбинированной ПВТ (Пег-ИФН- $\alpha$ 2а и РБВ), включавшей телупревир (в дозе 750 мг x 3 в сут. в течение 12 нед.). СВО через 24 нед. и 48 нед. при неопределяемом уровне RNA HCV (< 25 МЕ/мл) на 4 нед. лечения наблюдался у 92% и 88% пациентов соответственно. Отмечено снижение частоты рецидивов среди пациентов с ХГС, ПВТ которых составила 48 нед. в сравнении с больными, получавшими курс лечения в 24 нед. (1,9% и 5,7% соответственно). У 12% пациентов (против 7% больных, не получавших телупревир) терапия была прекращена. При этом сыпь (7% и 1% соответственно) и анемия (2% и 1% соответственно) наряду с

гриппоподобным синдромом, цитопенией и депрессией чаще наблюдалась у пациентов, получавших ПВТ, включавшую теллапревир. Это НЯ также были основными причинами прекращения лечения.

Таким образом, результаты исследования ILLUMINATE свидетельствуют о возможности сокращения срока лечения до 24 нед. в случае достижения БВО.

Полученные данные о высокой эффективности и достаточной безопасности теллапревира в протоколах ILLUMINATE и ADVANCE получили подтверждение и в группе из 662 пациентов с ХГС, генотип 1, ранее не отвечавших на лечение, вошедших в исследование III фазы REALIZE (Re-treatment of Patients with Telaprevir-based Regimen to Optimize Outcomes) [20–22].

Критериями включения явились: отсутствие РВО в ходе предшествующей ПВТ; недектируемый уровень RNA HCV к 24 нед. при наличии частичного РВО или рецидива виремии после развития СВО. В исследовании изучалось применение 2 режимов терапии теллапревира: в комплексной терапии (в дозе 750 мг трижды в сут.) в течение первых 12 нед. и после 4 нед. стандартной терапии (Пег-ИФН- $\alpha$ 2а и РБВ + плацебо) в течение последующих 12 нед. (с 5 нед. по 16 нед.). Общая продолжительность лечения для всех пациентов исследования REALIZE составила 48 нед. Контрольная группа больных ХГС получала стандартную терапию (Пег-ИФН- $\alpha$ 2а и РБВ) в сочетании с плацебо.

По предварительным данным, более высокую частоту достижения СВО продемонстрировали пациенты, получившие вначале 12-и недельный курс тройной ПВТ. Частота СВО составила соответственно 83%, 59% и 29% у больных ХГС, имевших рецидив виремии; у пациентов с частичным РВО и среди пациентов, не ответивших на ранее проводимую стандартную ПВТ. НЯ (усталость, кожный зуд, гриппоподобные симптомы, тошнота и анемия) чаще наблюдались у пациентов, в ПВТ которых был включен теллапревир.

Таким образом, многоцентровые рандомизированные плацебо-контролируемые исследования оценки эффективности и безопасности режима, включающего теллапревир, свидетельствуют об его достаточном уровне безопасности и выраженном противовирусном эффекте, позволяющем существенно увеличить частоту достижения СВО у пациентов с ХГС генотипа 1, наиболее трудно отвечающих на стандартную ПВТ.

Теллапревир является одним из первых представителей таргетной терапии, благодаря внедрению которой в клиническую практику возможность успешного подавления реплика-

ции HCV становится реальной. Дальнейшее развитие таргетной терапии, начало которой уже положено, позволит решить проблемы, обусловленные наличием генетической (первичной) резистентности HCV к препаратам, уменьшить селекцию резистентных штаммов в ходе терапии и снизить частоту развития побочных эффектов.

### Литература

- [1] World Health Organization 2008. Available at: <http://www.who.int/ith/es/index.html>.
- [2] Chevaliez S., Pawlotsky J.M. Hepatitis C virus: virology, diagnosis and management of antiviral therapy // *World J. Gastroenterol.* — 2007. — Vol. 13. — P. 2461–2466.
- [3] Thompson A.J., Muir A.J., Sulkowski M.S. et al. Interleukin-28B polymorphism improves viral kinetics and is the strongest pretreatment predictor of sustained virologic response in genotype 1 hepatitis C virus // *Gastroenterol.* — 2010. — Vol. 139. — P. 120–129.
- [4] Ge D., Fellay J., Thompson A.J. et al. Genetic variation in IL28 predicts hepatitis C treatment-induced viral clearance // *Nature.* — 2009. — Vol. 461. — P. 399–401.
- [5] Kawaoka T., Hayes C.N., Ohishi W. et al. Predictive value of the IL28B polymorphism on the effect of interferon therapy in chronic hepatitis C patients with genotypes 2a and 2b // *J. Hepatol.* — 2010. — Sep 19. [Epub ahead of print].
- [6] Munoz de Rueda P., Casado J., Paton R. et al. Mutation in E2-PePHD, NS5A-PKRBD, NS5A-ISDR, and NS5A-V3 of hepatitis C virus genotypes 1 and their relationships to pegylated interferon-ribavirin treatment responses // *J. Virol.* — 2008. — Vol. 82. — P. 6644–6653.
- [7] Михайлов М.И. Вирусы гепатитов / Сб. тр. ИПВЭ им. М.П. Чумакова РАМН: Мед. вирусол., М., 2007. — Т. XXIV. — С. 205–223.
- [8] Chevaliez S., Pawlotsky J.M. Hepatitis C virus: virology, diagnosis and management of antiviral therapy // *World J. Gastroenterol.* — 2007. — Vol. 13. — P. 2461–2466.
- [9] Jennings T.A., Chen Y., Sikora D. et al. RNA unwinding activity of the hepatitis C virus NS3 helicase is modulated by the NS5B polymerase. // *Biochemistry.* — 2008. — Vol. 47. — P. 1126–1135.
- [10] Li X.D., Sun L., Seth R.B. et al. Hepatitis C virus protease NS3/4A cleaves mitochondrial antiviral signaling protein off the mitochondria to evade innate immunity // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* — 2005. — Vol. 102. — P. 17717–17722.
- [11] McHutchison J.G., Everson G.T., Gordon S.C. et al. PROVE1 Study Team. Telaprevir with peginterferon and ribavirin for chronic HCV genotype 1 infection // *N. Engl. J. Med.* — 2009. — Vol. 360. — P. 1827–1838.
- [12] Hézode C., Forestier N., Dusheiko G. et al. PROVE2 Study Team. Telaprevir and peginterferon with or without ribavirin for chronic HCV infection // *N. Engl. J. Med.* — 2009. — Vol. 360. — P. 1839–1850.
- [13] McHutchison J.G., Manns M.P., Muir A.J. et al. PROVE3 Study Team. Telaprevir for previously treated chronic HCV infection // *N. Engl. J. Med.* — 2010. — Vol. 362. — P. 1292–1303.
- [14] Marcellin P., Forns X., Gooser T. et al. Virological analysis of patients receiving telaprevir administered q8h or

- q12h with peginterferon-alfa-2a or -alfa-2b and ribavirin in treatment-naïve patients with genotype 1 hepatitis C: Study C208 // *Hepatology*. — 2009. — Vol. 50. — P. 395 A.
- [15] Benhamou Y., Moussalli J., Ratzin V. et al. Activity of telaprevir monotherapy or in combination with peginterferon-alfa-2a and ribavirin in treatment-naïve genotype 4 hepatitis-c patients: final results of study C210 / Program and abstracts of the 61st Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases; October 29 – November 2, 2010; Boston, Massachusetts. Abstract 828.
- [16] Sarrazin C., Zeuzem S. Resistance to direct antiviral agents in patients with hepatitis C virus infection // *Gastroenterology*. — 2010. — Vol. 138. — P. 447–462.
- [17] Berg T., McHutchison J.G., Adda N. et al. SVR with telaprevir, peginterferon alfa-2a and ribavirin in HCV patients with well characterized prior null response, partial response, viral breakthrough or relapse after PR / Program and abstracts of the European Association for the Study of the Liver (EASL) 45th Annual Meeting; April 14–18, 2010; Vienna, Austria.
- [18] Jacobson I.M., McHutchison J.G., Dusheiko G.M. et al. Telaprevir in combination with peginterferon and ribavirin in genotype 1 HCV treatment-naïve patients: final results of phase 3 ADVANCE study / Program and abstracts of the 61st Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases; October 29 – November 2, 2010; Boston, Massachusetts. Abstract 211.
- [19] Sherman K.E., Flamm S.L., Afdhal N.H. et al. Telaprevir in combination with peginterferon alfa2a and ribavirin for 24 or 48 weeks in treatment-naïve genotype 1 HCV patients who achieved an extended rapid viral response: final results of phase 3 ILLUMINATE study // Program and abstracts of the 61st Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD 2010); October 29–November 2, 2010; Boston, Massachusetts. Abstract LB-2.
- [20] Nelson D.R. Hepatitis C drug development at a crossroads // *Hepatology*. — 2009. — Vol. 50. — P. 997–999.
- [21] Ghany M.G., Strader D.B., Thomas D.L., Seef L.B. Diagnosis, management and treatment of hepatitis C: an update // *Hepatology*. — 2009. — Vol. 49. — P. 1–40.
- [22] Chronic hepatitis C virus infection: developing direct-acting antiviral agents for treatment. United States Food and Drug Administration. <http://www.federalregister.gov/articles/2010/09/14/2010-22806/draft-guidance-for-industry-on-chronic-hepatitis-c-virus-infection-developing-directacting-antiviral>.

## Латентная HBV-инфекция и алгоритм ее выявления у пациентов с хроническими заболеваниями печени

И.А. Морозов<sup>1</sup>, Л.Ю. Ильченко<sup>1,2</sup>, К.К. Кюрегян<sup>1</sup>, Г.Г. Тотолян<sup>2</sup>, И.Г. Федоров<sup>2,3</sup>,  
И.В. Гордейчук<sup>1</sup>, А.К. Княженцева<sup>1</sup>, М.И. Михайлов<sup>1</sup>, Н.В. Петренко<sup>3</sup>, А.В. Патюков<sup>3</sup>,  
Г.И. Сторожаков<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова РАМН, Московская область;

<sup>2</sup> Российский государственный медицинский университет им. Н.Н. Пирогова, Москва;

<sup>3</sup> Городская клиническая больница № 12, Москва

### Введение

Гепатит В по-прежнему является актуальной медико-социальной проблемой здравоохранения. По оценкам экспертов [1] им страдает до 6% населения земного шара.

К настоящему моменту на основании многочисленных исследований установлены маркеры инфицирования, изучены фазы вирусной инфекции, определены показания и критерии эффективности терапии, разработаны методы оценки вероятности развития резистентности при использовании аналогов нуклеоз(т)идов.

Благодаря широкому внедрению в практику методов детекции вирусной ДНК, было отмечено такое явление, как скрытая (латентная — occult, silent) HBV-инфекция. При этом вирус гепатита В персистирует в организме пациентов, но HBsAg в сыворотке крови доступными методами не выявляется [2].

В 2008 г. группой экспертов на конференции, организованной Европейской ассоциацией изучения печени (EASL), понятие «скрытая

HBV-инфекция» было определено как «присутствие ДНК HBV в печени пациентов (вне зависимости от наличия DNA HBV в крови), в сыворотке крови которых доступными методами не определяется HBsAg» [3].

Серологический профиль латентной HBV-инфекции может включать anti-HBc (50%), anti-HBs (35%). У 20% обследованных лиц серологические маркеры инфицирования вирусом гепатита В не выявляются [4]. Распространенность скрытой HBV-инфекции по данным различных публикаций варьирует от 0% до 2,4% среди доноров крови в западных странах [5].

К основным причинам невозможности выявления HBs Ag относят:

- совпадение времени проведения исследования с фазой серологического «окна», когда HBsAg уже не определяется, а концентрация anti-HBs еще не достигла необходимого уровня для его обнаружения коммерческими тест-системами;
- циркуляцию иммунных комплексов HBsAg и anti-HBs [6];

- подавление вирусной репликации при суперинфицировании HCV, HDV и/или HIV, что, в свою очередь, приводит к уменьшению синтеза HBsAg;
- «ускользание» (мутантного) варианта вируса, HBsAg которого не выявляется коммерческими тест-системами [4,7];
- интеграцию DNA HBV в клеточный геном, длительную персистенцию в ядре гепатоцита ковалентной замкнутой кольцевидной DNA (HBV cccDNA) в виде стабильного эписома [8];
- инфицирование HBV мононуклеаров (В-лимфоцитов, моноцитов) периферической крови;
- наличие иммунологической памяти Т-лимфоцитов;
- изменения иммунного статуса пациента при хронической алкогольной интоксикации, применении психоактивных веществ и др.)

Однако главной причиной латентного течения HBV-инфекции является выраженная супрессия вирусной репликации и/или ингибирование экспрессии S гена.

Описано присутствие DNA HBV в ткани печени HBsAg-негативных пациентов с хроническим гепатитом неустановленной этиологии. При этом в сыворотке крови пациентов отсутствовали как серологические, так и молекулярные маркеры HBV-инфекции [9].

Скрытая HBV-инфекция является серьезной проблемой для здравоохранения. Ее клиническое значение определяется следующими данными:

- показана возможность развития гепатита В у реципиентов при применении препаратов крови от доноров с латентной HBV-инфекцией;
- описана реактивация HBV-инфекции при иммуносупрессивной терапии (или после трансплантации органов, тканей), полихимиотерапии;
- установлено неблагоприятное влияние латентной HBV-инфекции на течение и эффективность противовирусной терапии у больных хроническим гепатитом С;
- отмечен повышенный риск прогрессирования цирроза печени и развития гепатоцеллюлярной карциномы у пациентов с латентной HBV-инфекцией.

Кроме того, неполный биохимический ответ у больных хроническим гепатитом С, не ответивших на интерферонотерапию, а также длительная персистенция anti-HBs (> 100 МЕ/мл) в отсутствие вакцинации против гепатита В являются основанием для исключения латентной HBV-инфекции. Таким образом,

для выявления скрытой HBV-инфекции необходимо не только проведение эпидемиологических исследований, но и оценка клинико-биохимических показателей и данных морфологического исследования печени больных, которые по всем критериям соответствуют понятию «скрытой HBV-инфекции».

Учитывая все изложенное выше, целью исследования явилась разработка алгоритма выявления скрытой HBV-инфекции у HBsAg-негативных пациентов с хроническими заболеваниями печени и ее клинико-морфологическая характеристика.

### Материалы и методы исследования

Для определения частоты встречаемости скрытой HBV-инфекции среди лиц с хронической патологией печени обследовано 168 пациентов (94 мужчины и 74 женщины в возрасте от 16 до 82 лет), не имевших HBsAg (на клинической базе кафедры госпитальной терапии № 2 лечебного факультета РГМУ им. Н.Н. Пирогова, зав. кафедрой – академик РАМН, проф. Г.И. Сторожаков). Среди них: алкогольный гепатит установлен в 55 случаях, хронический гепатит С – в 45, неалкогольный стеатогепатит – в 12, аутоиммунный гепатит – в 7. ЦП диагностирован у 11 пациентов. У 38 больных этиологию хронического заболевания печени установить не удалось.

Для обнаружения латентной HBV-инфекции были предложены два этапа исследований. Первый этап включал проведение ИФА и ПЦР всех образцов сывороток HBsAg-негативных пациентов с хронической патологией печени (табл. 1).

Забор крови и биоптатов печени проводился при наличии подписанного пациентами информированного согласия. Анамнез, физикальные данные и клинико-биохимические показатели пациентов оценивались согласно информации, представленной в картах пациента стационара.

Образцы крови были подвергнуты центрифугированию для отделения сыворотки, разделены на аликвоты и хранились перед постановкой на HBsAg и DNA HBV от 3 дней до 1 месяца при температуре –20 °С.

HBsAg определяли тест-системой с чувствительностью 0,01 нг/мл исследуемого образца («ДС ИФА HBsAg 0,01», НПО «Диагностические системы», г. Нижний Новгород). При получении положительных результатов проводились дополнительные исследования с использованием тест-системы для подтверждения результатов выявления HBsAg того же производителя. Anti-HBc определяли тест-системой «ДС АНТИ-HBc», «Диагностические системы», г. Нижний Новгород.

**Таблица 1.** Серологические этапы выявления латентной HBV-инфекции

<p><b>1. Первичное исследование на HBsAg (ИФА)</b> (чувствительность 0,01 нг/мл)</p> <p>HBsAg «+» <math>\longrightarrow</math> HBV-инфекция HBsAg «-» <math>\longrightarrow</math> отсутствие HBV</p>
<p><b>2. Исследование на anti-HBc</b></p> <p>anti-HBc «-» <math>\longrightarrow</math> отсутствие HBV-инфекции anti-HBc «+» <math>\longrightarrow</math> предварительный диагноз «HBV-инфекция»</p>
<p><b>3. Исследование на DNA HBV в сыворотке крови</b> (ПЦР, чувствительность 100 и менее копий/мл)</p> <p>DNA HBV «+» <math>\longrightarrow</math> диагноз «HBV-инфекция»</p> <p>DNA HBV «-» <math>\begin{cases} \longrightarrow &amp; \text{перенесенный гепатит В} \\ \longrightarrow &amp; \text{ложноположительный результат анти-HBc} \end{cases}</math></p>

Кроме того, дополнительно проводились ПЦР и электронно-микроскопическое исследование образцов биопсии печени, полученных у 50/168 пациентов. Среди них: алкогольный гепатит установлен в 25 случаях, хрониче-

ский гепатит С — в 3, неалкогольный стеатогепатит — в 3, аутоиммунный гепатит — в 2. ЦП диагностирован у 2 больных. 15 пациентов имели хронический криптогенный гепатит. В табл. 2 представлен второй этап исследований.

**Таблица 2.** Тканевые этапы выявления латентной HBV-инфекции

<p><b>1. Обязательное получение биопсии печени</b></p> <p><b>2. Обязательное патогистологическое исследование активности и стадии заболевания</b></p> <p><b>3. Специальные методы исследования ткани печени</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Гистологическая окраска HBsAg орсеином по Shikata</li> <li>• Иммуногистохимическое выявление HBsAg</li> <li>• ПЦР для определения DNA HBV в ткани печени</li> <li>• Электронномикроскопическое изучение биоптата печени для выявления вирионов, их видовой принадлежности к HBV (иммуноцитохимия HBsAg) и характерных для HBV-инфекции изменений</li> </ul> <p>Положительный результат любого из специальных методов служит основанием для окончательного диагноза «HBV-инфекция», либо «латентная форма хронического HBV-гепатита»</p>
--

Биоптаты, полученные путем чрескожной биопсии печени, разделялись на две части. Первая часть в течение 3 мин. с момента проведения биопсии замораживалась при температуре  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  на период до 1 недели с последующей транспортировкой с соблюдением режима заморозки и глубоким замораживанием при температуре  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  продолжительностью до 1 месяца.

Вторая часть биоптата помещалась в 4% раствор параформальдегида в буфере Хенкса, постфиксировалась в 1% растворе четырехокси осмия и, после обезвоживания, заключалась

в эпоксидную смолу эпон-аралдит и сохранялась до проведения электронно-микроскопического исследования в лаборатории патоморфологии вирусных заболеваний ИПВЭ им. М.П. Чумакова РАМН.

Ультратонкие срезы, контрастированные уранилацетатом и цитратом свинца, изучались в электронном микроскопе JEM-100C (Jeol, Япония). Для проведения морфометрического анализа диаметра вирионов по программе Bio Vision 4,0 (Австрия) съемку осуществляли при увеличении в 30 тысяч раз. Сохраненные в эпоксидной смоле образцы пече-

ни, полученные от пациентов, в сыворотке крови которых не определялся HBsAg, а в ткани печени выявлялась DNA HBV и подтверждалось ее наличие, подвергались электронной микроскопии с последующим описанием клеточных структур, выявлением вирионов и их морфометрическим анализом.

Иммуноцитохимическое исследование HBsAg проводилось на ультратонких срезах, смонтированных на никелевых сетках, покрытых формваром и напыленных углеродом. Демаскирование антигена осуществляли на капле насыщенного водного раствора метаперийодата натрия в течение 1 часа. Иммуноцитохимическую реакцию и ее маркирование проводили по стандартной методике Bendayan M. [10]. Использовались моноклональные антитела к HBs-антигену (Cell Marque) в разведении 1:100 и готовый к употреблению комплекс Protein A - Colloidal Gold 15 nm (Serva).

Выделение DNA HBV проводилось из 50 мкл сыворотки крови и биоптатов печени фенол-хлороформом с использованием набора для выделения нуклеиновых кислот (НПФ «Литех», г. Москва) согласно протоколу производителя. Для выделения нуклеиновых кислот из ткани печени увеличивалась длительность лизиса в феноле.

Детекция нуклеиновых кислот в сыворотках крови и биоптатах печени проводилась методом двухступенчатой ПЦР с праймерами, фланкирующими участки Core, S и Р-гена DNA HBV, предложенными A. Vasuni и W. Carman [11]. Специфичность ПЦР подтверждалась с использованием отрицательных контрольных образцов. Контроль чувствительности метода проводился с применением образцов плазмидной DNA, содержащих клонированные участки DNA HBV в известной концентрации (Bayer). Чувствительность применяемой ПЦР составляла около 125 копий/мл исследуемого материала. Контроль ингибирования ПЦР при исследовании образцов биопсии печени проводили с помощью дополнительного контрольного образца биопсийного материала с внесенной плазмидной DNA. Как и для определения DNA HBV в сыворотке крови, чувствительность ПЦР при выявлении DNA HBV в ткани составила около 125 копий/мл. Результат обнаружения DNA HBV при помощи ПЦР с первым набором праймеров подтверждался реакцией с праймерами, фланкирующими участок X-гена HBV по протоколу, предложенному S. Matsuoka и соавт. [12].

### Результаты и обсуждение

Среди 168 пациентов с хроническими заболеваниями печени антитела к HBc были обнаружены у 60 (35,7%). При этом ни у одного из

пациентов в сыворотке крови не была выявлена DNA HBV. Также во всех образцах отсутствовал HBsAg.

С целью выявления скрытой HBV-инфекции было проведено определение DNA HBV в ткани печени 50/168 HBsAg-негативных пациентов. У 11/50 (22%) из них в сыворотке определялись анти-HBc, при этом в 1 случае в биоптате печени была выявлена DNA HBV. Детальное клинико-морфологическое исследование данного случая скрытой HBV-инфекции вынесено в отдельное клиническое наблюдение.

Таким образом, общая частота встречаемости скрытой HBV-инфекции среди HBsAg-негативных пациентов с ХЗП при исследовании DNA HBV в биоптатах составила 2% (1/50) и 9,1% (1/11) среди пациентов с анти-HBc.

Явление скрытой HBV-инфекции во многом является проблемой диагностики. Анализ публикаций отечественных и зарубежных авторов показывает, что частота ее выявления увеличивается с повышением чувствительности методов детекции DNA HBV и снижается при повышении чувствительности тест-систем для детекции HBsAg.

Так, в исследовании распространенности скрытой HBV-инфекции среди лиц, инфицированных вирусом гепатита С, принимающих внутривенно психоактивные вещества, было показано, что при использовании количественного теста COBAS HBV AMPLICOR в сыворотках крови, взятых от 180 пациентов, DNA HBV не выявлялась. При исследовании тех же образцов методом качественной двухступенчатой ПЦР DNA HBV была обнаружена в 81 из 180 (45%) образцов [13].

Первоначально с целью выявления случаев скрытой HBV-инфекции нами был проведен анализ серологических и молекулярных маркеров HBV в сыворотках крови пациентов. Предварительное определение анти-HBc проводилось по причине описанной корреляции их присутствия в сыворотке крови пациентов со скрытой HBV-инфекцией [14, 15].

В настоящее время оптимальным способом выявления скрытой HBV-инфекции является определение DNA HBV в сыворотке крови при помощи двухступенчатой ПЦР. Для исключения ложноположительных результатов необходимо использовать праймеры, перекрывающие не менее трех участков вирусного генома. Валидация положительного результата осуществляется при положительной реакции с праймерами не менее чем к двум генам [4].

Отсутствие детектируемого уровня DNA HBV в сыворотке крови не является фактом, исключая наличие скрытой инфекции. Даже в таких случаях в ткани печени может находиться HBV. В основе этого явления лежит

сам механизм репликации этого вируса. В ядре инфицированного гепатоцита может содержаться в среднем около 1,5 копий кольцевой ковалентно замкнутой DNA — крайне стабильной матрицы для транскрипции вирусных белков и репликации вирионов [8].

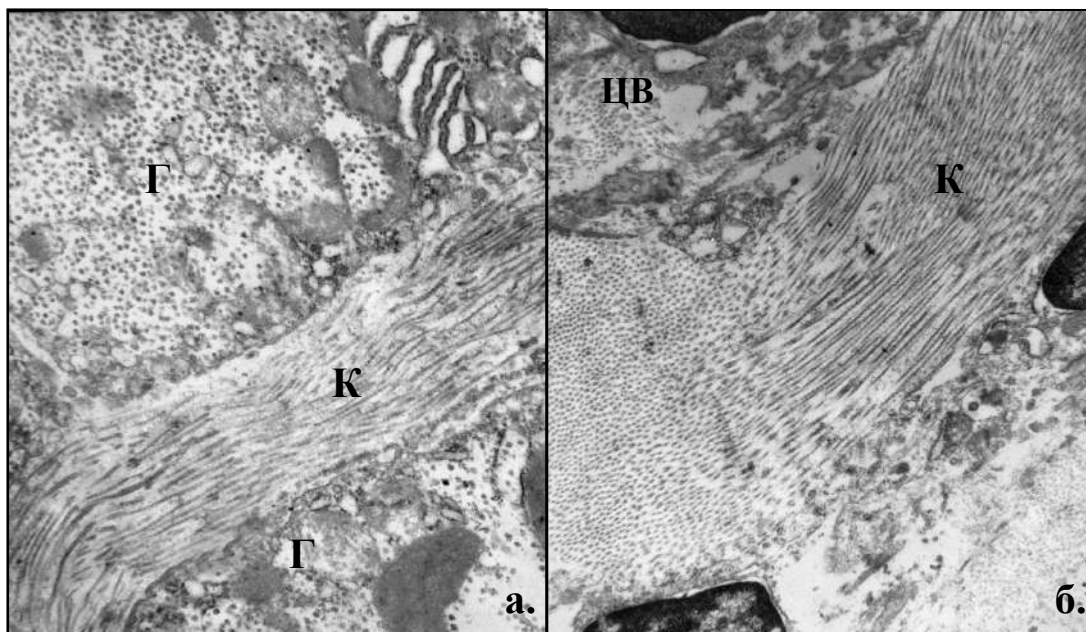
### Клиническое наблюдение

Пациентка М., 62 лет поступила в стационар с жалобами на периодические тянущие боли в правом подреберье. На догоспитальном этапе было впервые выявлено повышение активности aminotрансфераз (2-3 нормы). Острый вирусный гепатит в анамнезе отрицала. Сопутствующие заболевания: артериальная гипертензия и сахарный диабет 2 типа.

Состояние удовлетворительное. Кожные покровы и склеры нормальной окраски. Ин-

декс массы тела — 27 кг/м<sup>2</sup>. «Малые» печеночные знаки не обнаружены. Дыхание везикулярное, тоны сердца ясные, ритм правильный. ЧСС — 80/мин, АД — 150 и 90 мм рт. ст. При пальпации живот мягкий, болезненный в правом подреберье. Печень выступала из-под правого края реберной дуги на 2 см, нерезко уплотнена, край закруглен. Селезенка не пальпировалась. Асцит, отеки отсутствовали.

В клиническом анализе крови патологических отклонений не выявлено. В биохимическом анализе крови отмечены следующие изменения: АЛТ — 51 Е/л (норма — 0–32 Е/л); АСТ — 34 Е/л (норма — 5–34), глюкоза — 7,5 (норма — до 5,5 ммоль/л). УЗИ органов брюшной полости: диффузные изменения печени и поджелудочной железы, селезенка не увеличена.



**Рисунок 1.** Отложения коллагена в перичеллюлярном пространстве (а) и вокруг центральной вены (б)  $\times 10$  тыс. К — коллаген, ЦВ — центральная вена, Г — гепатоцит.

Результаты определения сывороточных маркеров вирусов гепатитов: анти-HCV (-); HBsAg (-); анти-HBc (+); РНК HCV (-); ДНК HBV (-).

С целью уточнения стадии и активности патологического процесса пациентке проведена чрескожная пункционная биопсия печени.

**Морфологическое исследование ткани печени:** порталы не расширены, без пролиферации желчных протоков, с незначительной лимфоидной инфильтрацией. Выявляются гепатоциты с мелкокапельной жировой инфильтрацией. При окраске по Ван-Гизону обнаружен фиброз порталных трактов и перисинусоидальный фиброз. Окраска на железо отрицательная. Матово-стекловидные гепатоциты, а также гепатоциты в виде «песочных ядер» не обнаружены. Активность воспаления — А1, индекс фиброза

(ИФ) — 1 балл (по METAVIR). До проведения исследования ткани печени на наличие ДНК HBV пациентке ставился диагноз неалкогольный стеатогепатит (НАСГ).

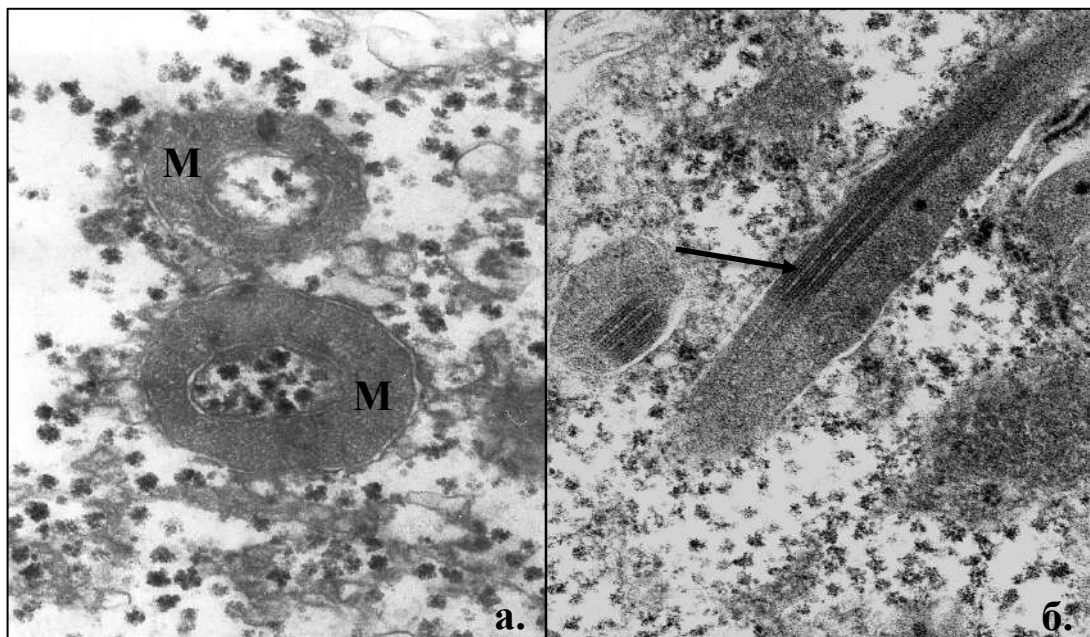
В ходе светооптического изучения биоптата печени активность процесса и стадия развития фиброза были расценены как минимальные, однако в ходе электронномикроскопического исследования в ткани печени были обнаружены массивные отложения коллагеновых волокон между гепатоцитами (рис. 1а), в перисинусоидальном пространстве Диссе, а также вокруг центральных вен (рис. 1б). На основании описанных наблюдений стадия развития фиброза была установлена как умеренная (2-я), что свидетельствует о значительной продолжительности хронического гепатита.

В ткани печени обнаружены не только неспецифические признаки воспалительной ре-

акции в виде мононуклеарной инфильтрации и фиброза, но и такие специфические для HBV-инфекции признаки, как наличие в цитоплазме гепатоцитов множества вирионов, гигантских и торообразных (кольцевидных) митохондрий (рис. 2а), а также паракристаллических включений в матриксе митохондрий (рис. 2б). Подобные изменения митохондриального аппарата гепатоцитов постоянно обнаруживаются при хроническом гепатите В в процессе развития цитопатической реакции и

до настоящего времени не были обнаружены при инфицировании другими гепатотропными вирусами.

Наиболее специфическим признаком HBV-инфекции являются выявленные в гепатоцитах множественные вирусные частицы (рис. 2б). Морфометрический анализ установил, что диаметр вирионов составляет  $49,28 \pm 2,63$  нм, что соответствует размерам вирионов гепатита В при трансмиссионной микроскопии биоптатов печени [16].



**Рисунок 2.** Характерные для HBV-инфекции торообразных митохондрий (М) (а)  $\times 30$  тыс. Паракристаллические включения (стрелка) в матриксе митохондрий. Множественные вирионы в цитоплазме (б)  $\times 15$  тыс.

Абсолютным доказательством принадлежности вирионов в гепатоцитах больной является иммуноцитохимическая верификация HBsAg на поверхности вирионов с помощью моноклональных антител и реакции антиген-антитело с комплексом Protein A - Colloidal Gold 15 nm (рис. 3). В результате проведенного комплексного обследования в клинический диагноз пациентки включена «скрытая HBV-инфекция». Данный клинический случай был отнесен к «скрытому» хроническому гепатиту В на основании критериев, предложенных экспертами научного сообщества.

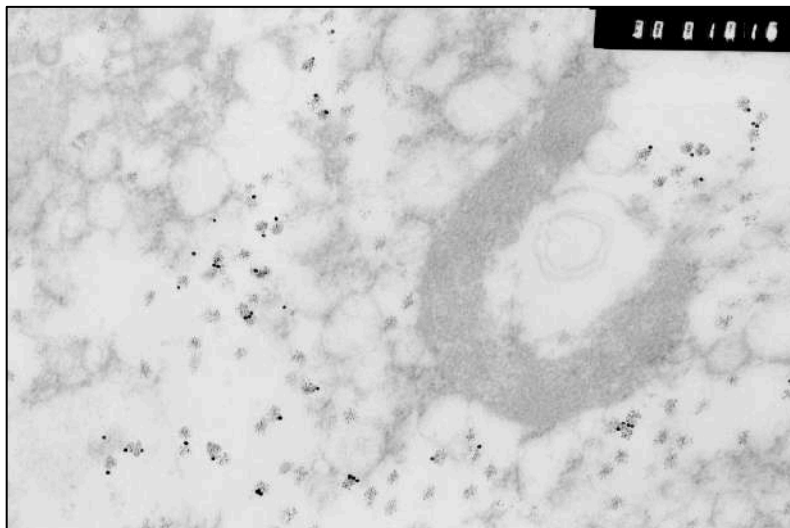
Следует также отметить, что у больной при электронно-микроскопическом исследовании был обнаружен цитомегаловирус (CMV), вирионы которого располагались в вакуолях цитоплазмы гепатоцитов (рис. 4), что свидетельствовало об их эндоцитозном проникновении

через сосудистый полюс клетки. Наличие маркеров этой инфекции было подтверждено с помощью ИФА.

Согласно представленному клиническому наблюдению и оценке расширенного алгоритма диагностического поиска, данный случай отнюдь не является истинно «скрытым», а лишь демонстрирует недостаточность стандартных диагностических критериев не только национальных, но и мировых стандартов.

Так при включении в обследование у данной больной определения анти-HBc в сыворотке крови, представления об этиологии хронического заболевания печени могли бы измениться. Однако для диагностики в этом случае потребовалось обязательное проведение пункционной биопсии печени, показания к которой в настоящий период продолжают постоянно сужаться.

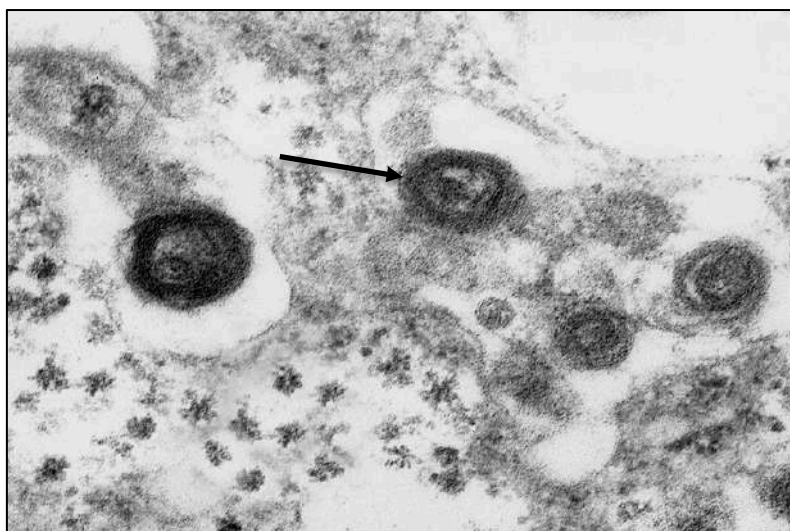




**Рисунок 3.** Иммуноцитохимическая реакция на HBsAg в виде частиц коллоидного золота на поверхности вирионов в цитоплазме гепатоцита биоптата печени больной М. Материал после приготовления срезов не контрастировался. x 30 тыс.

Обнаружение с помощью ПЦР ДНК HBV в ткани печени является критерием постановки диагноза «скрытой HBV-инфекции», а патоло-

гоанатомическое описание данного случая полностью подтверждает его хроническое течение (наличие «скрытого» гепатита В).



**Рисунок 4.** Вирионы CMV (стрелка) внутри вакуолей в цитоплазме гепатоцита. x 50 тыс.

### Заключение

Встречаемость латентной HBV-инфекции как среди условно здорового населения, так и в группах пациентов с повышенным риском инфицирования HBV низкая. Проведенное комплексное обследование позволило установить наличие скрытой HBV-инфекции у 2% (1/50) HBsAg-негативных пациентов с хронической патологией печени и 9,1% (1/11) среди пациентов, имевших анти-HBc.

Клинико-биохимические показатели и результаты морфологического исследования ткани печени пациентки установили наличие гепатита минимальной степени активности. В этом случае в нуклеотидных последовательностях вирусного генома не было выявлено мутаций, способных

обусловить снижение эффективности детекции HBsAg в иммуноферментных тест-системах.

Отрицательный результат выявления HBsAg в сыворотке крови был связан с супрессией репликативной активности HBV.

Алгоритм диагностики латентной HBV-инфекции у пациентов с ХЗП неясной этиологии должен включать исследование биоптатов печени с применением молекулярных, электронно-микроскопических и иммуноцитохимических методов.

На основании полученных результатов можно заключить, что «скрытый гепатит» — одна из форм хронической HBV-инфекции, сложность диагностики которой во многом обусловлена недостатками диагностических подходов [17].

## Литература

- [1] McMahon B.J. Epidemiology and natural history of hepatitis B // *Semin. Liver Dis.* — 2005. — Vol. 25. — P. 3–8.
- [2] Katchaki J.N., Siem T.H., Brouwer R. Serological evidence of presence of HBsAg undetectable by conventional radioimmunoassay in anti-HBc positive blood donors // *J. Clin. Pathol.* — 1978. — Vol. 31. — P. 837–839.
- [3] Raimondo G., Navarra G., Mondello S. et al. Occult hepatitis B virus in liver tissue of individuals without hepatic disease // *Hepatology.* — 2008. — Vol. 48. — P. 743–746.
- [4] Hollinger F.B., Sood G. Occult hepatitis B virus infection: a covert operation // *J. Viral Hepat.* — 2010. — Vol. 17. — P. 1–15.
- [5] Ганина А.А., Кюрегян К.К., Исаева О.В. и др. Частота выявления «скрытого» ГВ среди лиц с наркотической зависимостью и доноров крови // *Наркология.* — 2008. — № 86. — С. 70–74.
- [6] Yotsuyanagi H., Yasuda K., Moriya K. et al. Frequent presence of HBV in the sera of HBsAg-negative, anti-HBc-positive blood donors // *Transfusion.* — 2001. — Vol. 41. — P. 1093–1099.
- [7] Jeantet D., Chemin I., Mandrand B. et al. Cloning and expression of surface antigens from occult chronic hepatitis B virus infections and their recognition by commercial detection assays // *J. Med. Virol.* — 2004. — Vol. 73. — P. 508–515.
- [8] Laras A., Koskinas J., Dimou E. et al. Intrahepatic levels and replicative activity of covalently closed circular hepatitis B virus DNA in chronically infected patients // *Hepatology.* — 2006. — Vol. 44. — P. 694–702.
- [9] Wright T.L., Mamish D., Combs C. et al. Hepatitis B virus and apparent fulminant non-A, non-B hepatitis // *Lancet.* — 1992. — Vol. 339. — P. 95–955.
- [10] Bendayan M. Protein A – Gold and Protein G – Gold postembedding immunoelectron microscopy in Colloidal Gold // *Principles, methods, and applications* / ed. M.A. Hayat, 1989. — Vol. 1. — P. 33–94.
- [11] Basuni A.A., Carman W.L. HBV vaccine-escape variants // *Methods Mol. Med.* — 2004. — Vol. 95. — P. 115–124.
- [12] Matsuoka S., Nirei K., Tamura A. et al. Influence of occult hepatitis B virus coinfection on the incidence of fibrosis and hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis C // *Intervirology.* — 2008. — Vol. 51. — P. 352–361.
- [13] Torbenson M., Kannangai R., Astemborski J. et al. High prevalence of occult hepatitis B in Baltimore injection drug users // *Hepatology.* — 2004. — Vol. 39. — P. 51–57.
- [14] Cacciola I., Pollicino T., Squadrito G. et al. Occult hepatitis B virus infection in patients with chronic hepatitis C liver disease // *NEJM.* — 1999. — Vol. 341. — P. 22–26.
- [15] Iizuka H., Ohmura K., Ishijima A. et al. Correlation between anti-HBc titers and HBV DNA in blood units without detectable HBsAg // *Vox Sang.* — 1992. — Vol. 63. — P. 107–111.
- [16] Seitz S., Urban S., Antoni C., Böttcher B. Cryo-electron microscopy of hepatitis B virions reveals variability in envelope capsid interactions // *EMBO.* — 2007. — Vol. 26. — P. 4160–4167.
- [17] Морозов И.А., Гордейчук И.В., Ильченко Л.Ю., Княженцева А.К., Михайлов М.И., Федоров И.Г., Петренко Н.В., Патюков А.В., Сторожаков Г.И. Скрытая HBV-инфекция среди HBsAg-негативных пациентов с хроническими заболеваниями печени / Сб. трудов ИПВЭ им. М.П. Чумакова РАМН. М., 2010 (в печати).

## Поиск генетических факторов вируса гепатита С у пациентов с хроническим гепатитом С, ассоциированных с формированием устойчивого вирусологического ответа на противовирусную терапию

Л.И. Николаева<sup>1</sup>, Л.М. Самоходская<sup>2</sup>, В.В. Макашова<sup>3</sup>, А.В. Колотвин<sup>2</sup>, Е.И. Самохвалов<sup>1</sup>,  
С.В. Альховский<sup>1</sup>, М.А. Арутюнова<sup>1</sup>, О.В. Таратина<sup>2</sup>, Р.А. Гибадулин<sup>1</sup>, С.М. Клименко<sup>1</sup>,

Л.Ф. Лидеман<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Научно-исследовательский институт вирусологии им. Д.И. Ивановского;

<sup>2</sup> Факультет фундаментальной медицины Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова;

<sup>3</sup> Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии, Москва

По оценкам специалистов, вирусом гепатита С (ВГС) заражено около 3% населения нашей планеты, и ожидается дальнейший рост числа инфицированных людей [1, 2]. Особенностью инфекции, вызываемой этим вирусом, является частое развитие ее хронической формы, которая неуклонно прогрессирует, приводя к развитию фиброза, цирроза печени и, реже, к гепатоцеллюлярной карциноме. В последние годы возрастает интерес к изучению роли генетических факторов ВГС и больных людей в формировании хронической инфекции и эффективности противовирусной терапии (ПВТ) [3, 4].

ВГС относится к семейству *Flaviviridae* к роду *Hepacivirus* [5]. Геном вируса представлен одно-

цепочечной РНК, которая имеет положительную полярность и содержит одну открытую рамку считывания, ограниченную с 5'- и 3'-концов нетранслируемыми областями. Эта рамка кодирует белок-предшественник. Из него с участием клеточных и вирусных ферментов образуются все полипептиды ВГС: капсидный (core), оболочечные (E1 и E2), виropорин (p7), NS2-протеаза, сериновая протеаза-хеликаза (NS3), кофактор сериновой протеазы (NS4a), компоненты репликативного комплекса (NS4b и NS5a), РНК-зависимая РНК-полимераза (NS5b).

Отличительной особенностью этого вируса является наличие в геноме участков с высокой частотой мутаций, которые приводят к генети-

ческой неоднородности вируса и варибельности его антигенов. Поэтому изоляты ВГС классифицируют по генетическим параметрам на 6 генотипов и около 100 подтипов, или субтипов [6]. Однако при ВГС-инфекции существует еще один уровень варибельности, так как в каждом инфицированном человеке вирус представлен набором близкородственных генетических вариантов, так называемых квазивариантов.

На такое генетическое разнообразие ВГС накладывается полиморфизм генов инфицированных людей, что, очевидно, приводит к разнообразию степени тяжести клинических проявлений гепатита, к разной скорости формирования фиброза печени и к различной чувствительности к ПВТ. В настоящее время у ВГС-инфицированных людей выявляют несколько основных групп генов, для которых показана зависимость между их полиморфизмом и вариантами течения гепатита. Это гены, (1) определяющие особенности иммунного ответа, (2) контролирующие продукцию и деградацию внеклеточного матрикса, (3) кодирующие вазоактивные пептиды, (4) вовлеченные в окислительный стресс и (5) особенности обмена липидов и (6) контролирующие катаболизм эндогенных и экзогенных молекул [7]. Несмотря на значительное число исследований, посвященных поиску взаимосвязи между аллельными вариантами генов-кандидатов и ответом на ПВТ, убедительные данные установлены для небольшого числа полиморфизмов [8–12]. При этом во многих исследованиях получены противоречивые данные, что может быть связано с разными схемами лечения, методиками оценки эффективности терапии, с анализом больных из различных этнических групп и популяций.

Перечисленные причины определяют актуальность проведения исследования по выявлению аллельных вариантов отдельных генов человека в комбинации с особенностями генома ВГС, влияющими на эффективность ПВТ. Учитывая значение иммунных механизмов, интенсивности окислительного стресса и нарушения обмена железа в прогрессировании хронического гепатита С (ХГС) и формировании ответа на ПВТ, нами был исследован однонуклеотидный полиморфизм генов, продукты которых участвуют в иммунных реакциях: синтезе цитокинов (IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10, TGF- $\beta$ 1), в обмене железа (HFE), в эндотелиальной дисфункции и окислительном стрессе (эндотелиальная NO-синтаза и p22 phox-субъединица NADPH-оксидазы).

В настоящее время накоплены данные в пользу того, что сам вирус имеет генетические детерминанты устойчивости к ПВТ [13–15], однако до сих пор они четко не локализованы. Общеизвестно, что генотипы вируса, его квазиварианты и вирусная нагрузка являются важными генетическими факторами, влияющими

на эффективность ПВТ, поэтому в нашем исследовании они были изучены в комбинации с генетическим полиморфизмом отмеченных выше генов человека.

## Пациенты и методы

Исследованы образцы крови от 64 пациентов (38 мужчин и 26 женщин восточно-славянского происхождения в возрасте 26–60 лет, средний возраст  $42,4 \pm 2,4$  года) с ХГС, без маркеров других острых и хронических вирусных гепатитов и ВИЧ-инфекции. Больным был проведен 24-х и 48-и недельный курс терапии интерфероном-альфа (ИФН- $\alpha$ ) ( $3 \times 10^6$  МЕ трижды в неделю) в комбинации с рибавирином (в дозе 13 мг/кг). При выборе длительности лечения учитывали субтип вируса. Через 6 месяцев после окончания терапии были сформированы равные по численности (по 32 участника) группы больных с устойчивым вирусологическим ответом (УВО) и негативным результатом лечения (НРЛ). Более детальные сведения о группах пациентов представлены в таблице 1.

РНК ВГС выявляли в ОТ-ПЦР (полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией) с помощью коммерческой тест-системы «Ампли-Сенс-100-R» («ИнтерЛабСервис», Россия) или по методике, описанной ранее [16]. Генотипирование и определение межгенотипной рекомбинации проводили после секвенирования областей генома 5'-NTR-core и NS5b и сопоставления с референс-последовательностями базы данных GenBank NCBI (США). Вирусную нагрузку определяли с помощью коммерческого количественного теста Cobas Amplicor HCV Monitor («Roche Diagnostics», США). Образцы ниже предела чувствительности (600 МЕ/мл) исследовали коммерческим тестом «РеалБест РНК ВГС» с чувствительностью 15 МЕ/мл («Вектор-Бест», Россия). Определение количества квазивариантов по участку генома, соответствующему 1-му гипервариабельному региону (1 ГВР) белка E2, проводили методом одноцепочечного конформационного полиморфизма [17, 18], разделяя продукты ПЦР в градиентном (7–15%) полиакриламидном геле. Иммуноглобулины G специфичные к вирусным антигенам core, NS3, NS4ab и NS5a выявляли, используя иммуноферментную тест-систему «РекомбиБест анти-ВГС-спектр IgG» («Вектор-Бест», Россия). Титрование и сравнительный анализ выполняли по описанной ранее методике [19]. Анти-ВГС IgM к антигенам core, NS3, NS4ab и NS5a определяли с помощью тест-системы «РекомбиБест анти-ВГС IgM» («Вектор-Бест», Россия). Содержание интерлейкинов IL-1 $\beta$ , IL-6 и IL-10 в сыворотке крови пациентов определялось с помощью тест-наборов «Интерлейкин-1бета – ИФА – Бест», «Интерлейкин-6 – ИФА – Бест» и «Интерлейкин-10 – ИФА – Бест» («Вектор-Бест», Россия).

**Таблица 1.** Сравнительная характеристика групп больных с ХГС

Показатели	Группа с УВО (n=32)	Группа с НРЛ (n=32)
Возраст, годы	38,0±2,0	46,9±2,7
Мужчины	18 (56,2%)	21 (65,6%)
Женщины	14 (43,8%)	11 (34,8%)
<sup>1</sup> Длительность ХГС, годы	9,2±0,8	12,8±1,6
<sup>2</sup> Период наблюдения, годы	4,2±0,7	4,9±0,6
Сывороточное железо, мкмоль/л	14,5±1,4	17,9±1,4
<sup>3</sup> АЛТ, Е/л	≤ ВГН	2,17±0,29
<sup>3</sup> АСТ, Е/л	≤ ВГН	1,26±0,17
<sup>4</sup> Анти-ВГС IgM	1,025±0,147	4,769±0,179
Анти-core IgG	8,789±0,302	12,25±0,441
Анти-NS3 IgG	4,071±0,446	8,772±0,772
Анти-NS4ab IgG	4,647±0,148	8,562±0,179
Анти-NS5a IgG	4,833±0,345	8,143±0,179
IL-1β, пг/мл	1,4±0,12	0,83±0,21
IL-6, пг/мл	2,75±0,97	1,9±0,61
IL-10, пг/мл	0,75±0,37	2,35±0,90

**Комментарии.** 1 — длительность ХГС от первой детекции анти-ВГС, годы; 2 — период наблюдения после завершения ПВТ; 3 — АЛТ и АСТ даны как кратности превышения верхней границы нормы (ВГН); 4 — анти-ВГС IgM обнаружены у 12,5% участников группы с УВО и у 71,9% больных с НРЛ. Содержание антител выражено как логарифм по основанию 2.

Геномную ДНК пациентов выделяли из лимфоцитов периферической крови, стабилизированной ЭДТА, с помощью коммерческого набора «ДНК-сорб-В вариант 100» («ИнтерЛаб-Сервис», Россия). Определение генотипов полиморфных локусов генов цитокинов: IL-1b (-511 C/T), IL-6 (-174 G/C), IL-10 (-1082 G/A), TGF-β1 (+915 G/C) и генов эндотелиальной дисфункции и оксидативного стресса: eNOS (+894 C/T) и CYBA (+242 C/T) осуществляли методом рестрикционного анализа продуктов амплификации специфических участков генома. ПЦР, праймеры для которой представлены в таблице

2, проводили в 25 мкл смеси, содержащей 100 мМ Tris-HCl, pH 8,3 (при 25°C), 50 мМ KCl, MgCl<sub>2</sub>, четыре дезоксинуклеозидтрифосфата (по 200 мкМ каждого), Taq-полимераза (0,5 ЕД/реакцию) и 1–2 мкг геномной ДНК. Затем ПЦР-продукты инкубировали при 37°C с 0,5 мкл (3 ЕД/реакцию) соответствующей рестриктазы (табл. 2) и 1,2 мкл 10-кратного буфера для рестрикции. Молекулярная масса продуктов рестрикции, разделенных электрофорезом в 2% агарозном геле с бромистым этидием, рассчитывалась с помощью стандартов Ladder (Life Technologies, Англия).

**Таблица 2.** Праймеры и рестриктазы для определения аллельных вариантов

Полиморфизм	Праймеры	Рестриктаза
IL-1b -511 C/T	S 5' – TGG CAT TGA TCT GGT TCA TC – 3' AS 5' – GTT TAG GAA TCT TCC CAC TT – 3'	Ava-I
IL-6 -174 G/C	S 5' – TGA CTT CAG CTT TAC TCT TTG T – 3' AS 5' – CTG ATT GGA AAC CTT ATT AAG – 3'	SfaN1
IL-10 -1082 G/A	S 5' – TTC CCC AGG TAG AGC AAC ACT – 3' AS 5' – GAT GGG GTG GAA GAA GTT GAA – 3'	MnII
TGF-b1 +915 G/C	S 5' – TTC CCT CGA GGC CCT CCT A – 3' AS 5' – GCC GCA GCT TGG ACA GGA TC – 3'	Bgl1
eNOS +894C/T	S 5' –GGC TGG ACC CCA GGA AAC– 3' AS 5' –CCA CCC AGT CAA TCC CTT TG– 3'	MboI
p22phox +242C/T	S 5' –CTC TGT GTT GTC TTC AGT AAA GG– 3' AS 5' –ACT CAC AGG AGA TGC AGG ACG– 3'	RsaI

Генотипирование полиморфных локусов (+63H/D, +282 H/Y) гена наследственного гемохроматоза (HFE) осуществляли методом ПЦР в режиме реального времени (табл. 3) с использо-

ванием зондов TaqMan и режима «горячего старта» в амплификаторе Rotorgene (Corbett Ltd., Англия). Реакцию проводили в 25 мкл смеси, содержащей 500 мМ KCl, 100 мМ Tris HCl, pH

9,0 (при 25°C), 15 мМ MgCl<sub>2</sub>, 1% Triton X-100, четыре дезоксирибонуклеозидтрифосфата (по 200 мкМ каждого), Taq-полимераза (3 ЕД/реакцию) и 1 мкг геномной ДНК. Режимы ПЦР: денатурация при 95°C в течение 3,5 мин, за которой следуют

60 циклов, включающих: 95° С – 10 сек и 59,0°С – 45 сек. Анализ продуктов реакции выполняли, используя программного обеспечения Rotor-Gene Real-Time Analysis Software (Corbett Research Ltd., 2000, Англия).

**Таблица 3.** Последовательности праймеров и зондов

Праймеры и зонды	Последовательности
Праймер (прямой) для +63 Н/D	ctt ggt ctt tcc ttg ttt gaa g
Праймер (обратный) для +63 Н/D	aca tct ggc ttg aaa ttc tac t
Зонд для +63 Н (немутантный тип)	FAM – act tct atg atc atg aga gtc gc – BHQ1
Зонд для +63 D (мутантный тип)	R6G – act tct atg atg atg aga gtc gc – BHQ1
Праймер (прямой) для +282 С/У	ctg gat aac ctt ggc tgt ac
Праймер (обратный) для +282 С/У	tca gtc aca tac ccc aga t
Зонд для +282 С (немутантный тип)	ROX – ata tac gtg cca ggt gga – BHQ2
Зонд для +282 У (мутантный тип)	Cy 5 – aga tat acg tac cag gtg gag – BHQ3

Статистически значимые различия в группах больных рассчитывали с помощью t-теста Стьюдента и  $\chi^2$ -критерия Пирсона с поправкой Йетса на непрерывность для таблиц 2x2. Различия считались достоверными при  $p < 0,05$ . Отношение шансов (OR) определяли как отношение вероятности того, что событие произойдет, к вероятности того, что событие не произойдет.

### Результаты и обсуждение

Сравниваемые группы больных с УВО и без него имели сходные данные по соотношению полов и по времени окончания ПВТ (табл. 1). Однако группа с НРЛ была старше, и временной период от первого обнаружения антител к ВГС до начала лечения в ней был больше ( $p < 0,05$ ). По содержанию сывороточного железа группы участников достоверно не различались, хотя оно было несколько выше (но в пределах нормы) в группе пациентов с НРЛ. Уровень специфических антител был значимо выше в груп-

пе без УВО ( $p < 0,01$ ). Достоверных различий в сывороточном содержании IL-1 $\beta$ , IL-6 и IL-10 в сравниваемых группах больных не выявлено. Такой же результат был получен ранее Z. Abbas и соавт. [20].

Данные по анализу генетических параметров ВГС у больных двух сравниваемых групп перед началом терапии представлены в таблице 4.

В группе с УВО достоверно чаще регистрировался вирус подтипа 3a, в группе с НРЛ – 1b, что согласуется с результатами других исследований, выполненных как в Российской Федерации, так и за рубежом [3, 20, 21]. Доля пациентов с вирусом подтипа 1b, достигших УВО, составила 38,9% (14 пациентов из 36), что не противоречит опубликованным сведениям – 36–46% [3, 23]. Количество пациентов, инфицированных вирусом подтипа 3a, достигших УВО в нашем исследовании составило 66,7% (18/27), что входит в диапазон значений, полученных другими авторами – 65–80% [3, 23, 24].

**Таблица 4.** Генетические параметры ВГС в группах больных

Показатели	Группа с УВО (n=32)	Группа с НРЛ (n=32)
Субтипы вируса:		
1b	14	21
1b/2k	—	1
2a	—	1
3a	18	9
Содержание РНК до терапии:	(4,65±2,13) x 10 <sup>6</sup>	(7,87±3,03) x 10 <sup>6</sup>
>10 <sup>6</sup> (МЕ/мл)	13	21
<10 <sup>6</sup> (МЕ/мл)	19	11
Содержание РНК после ПВТ:		(7,72±2,86) x 10 <sup>6</sup>
>10 <sup>6</sup> (МЕ/мл)	не определялась	19
<10 <sup>6</sup> (МЕ/мл)		13
Количество квазивариантов, диапазон и среднее значение	2–4 2,83±0,45	2–6 3,27±0,36

Вирусная нагрузка перед началом терапии была несколько выше в группе пациентов с НРЛ, чем в группе с УВО (табл. 4). Однако разница не достигла статической достоверности. Подобный факт отмечался и другими авторами [20]. В нашем исследовании у пациентов из обеих групп имела большая вариабельность вирусной нагрузки. Общеизвестным считается, что при высокой вирусемии (более 600 000 МЕ/мл) вероятность достижения УВО меньше, чем при более низких значениях вирусной нагрузки [25]. Как представлено в табл. 4, различие в количестве пациентов с высокой и низкой вирусной нагрузкой в двух сравниваемых группах больных перед началом терапии было достоверным ( $p=0,04$ ).

В группе больных с УВО перед началом терапии среднее количество квазивариантов по 1 ГВР было меньше, чем в группе с НРЛ (табл. 4), однако это различие не было статистически достоверным. Близкие нашим количественные показатели для групп с УВО и с НРЛ недавно были получены А.А. Al-Qahtani и др. при анализе групп больных, инфицированных вирусом генотипа 4 [26]. Известно, что набор вирусных квазивариантов по 1 ГВР и их динамика во времени являются важным показателем взаимоотношений ВГС и макроорганизма. Ранее было однозначно установлено, что уменьшение набора квазивариантов ВГС по 1 ГВР в острой фазе инфекции является показателем начала элиминации вируса [27]. Вероятно, чем меньше количество вирусных квазивариантов, тем более эффективный контроль за вирусом осуществляет организм-хозяин. Относительно роли вирусных квазивариантов в формировании УВО до сих пор встречаются противоречивые публикации. В ряде работ показано, что если количество квазивариантов по 1 ГВР равно 5 и более, то пациент имеет низкую вероятность достижения

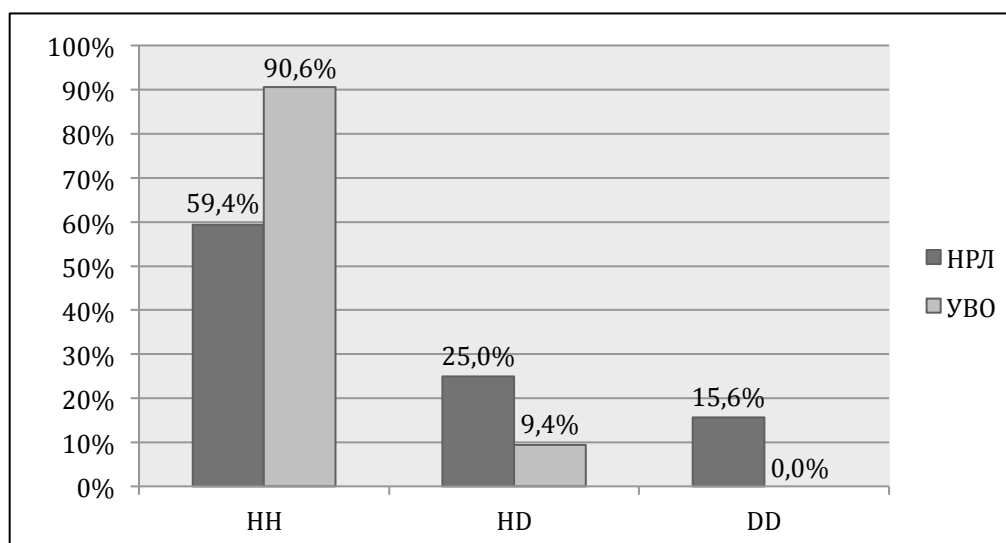
УВО [26, 28–31]. Однако, этот факт в других публикациях не подтверждается [32–34]. Возможно, такое противоречие вызвано тем, что были исследованы группы больных из разных популяций населения, применяли различные методики выделения вирусной РНК и детекции квазивариантов.

В нашем исследовании лишь у одного участника (с НРЛ) удалось обнаружить межгенотипную рекомбинацию вирусной РНК (рекомбинант 1b/2k), что свидетельствует о редкости данного явления среди больных г. Москвы. По данным П.Н. Дмитриева и соавт., среди 47 пациентов с ХГС из Московской области межгенотипная рекомбинация была обнаружена у 2 больных [35].

Известно, что при ХГС у пациентов часто отмечают нарушение гомеостаза железа, причиной которого может быть неблагоприятный аллельный вариант HFE, дисфункция обменных процессов из-за хронической ВГС-инфекции и сочетание обоих факторов.

Ген HFE кодирует белок-регулятор метаболизма железа, имеющий однонуклеотидный полиморфизм по двум локусам +63 Н/Д и +282 С/У. В генетических исследованиях доминантный аллельный вариант часто называют «диким» (или немутантным), а минорные варианты – мутантными. В ряде публикаций было показано, что для больных ХГС с мутантными аллелями гена HFE характерно более тяжелое течение гепатита, а при ПВТ эти пациенты реже достигают УВО [36, 37]. В российской популяции гетерозиготные носители +63 Н/Д составляют около 20–27% [12, 39].

В нашем исследовании немутантный (НН) аллельный вариант гена HFE достоверно чаще ( $p=0,009$ ) обнаруживался в группе больных с УВО, а мутантный вариант (DD – в группе пациентов с НРЛ (рис. 1).



**Рисунок 1.** Частота встречаемости аллельных вариантов гена HFE по локусу +63Н/Дв группах больных с УВО и с НРЛ

Эти данные согласуются с результатами, недавно полученными К. Sikorska и соавт. при анализе больных ХГС, проживающих в Польше [40]. Ранее в нескольких исследованиях, выполненных в США и Франции, было установлено, что гетерозиготное состояние по +63 H/D и +282 C/Y ассоциировано с достижением первичного [38] и УВО [41]. Последний факт противоречит нашим данным. Возможно, это расхождение отражает популяционные различия, но, вероятнее всего, оно объясняется более жестким критерием включения в группу с УВО в нашем исследовании.

В российской популяции среди доноров восточно-славянского происхождения гетерозиготные носители гена HFE по локусу +282 C/Y составляют около 6,4% [39]. Вклад этого полиморфизма в развитие гемохроматоза зависит от популяции, достигая максимально высокого значения в странах Европы, Америки, Австралии и минимального значения — в странах Азии, Африки, у коренных жителей Америки и Австралии и, вероятно, у россиян [39]. В нашем исследовании не обнаружено ассоциации между данным полиморфизмом и эффективностью ПВТ. Ранее S. Distantе и соавт. при анализе гена HFE у больных ХГС жителей Норвегии выявили такую закономерность [42].

Роль сосудистых нарушений, вызванных действием NO на эндотелиальную стенку, у больных ХГС при проведении ПВТ, не изучена. Известно, что повышенный уровень NO может стимулировать ангиогенез, образование микротромбов, ишемические нарушения и фиброз печени [43]. В нашем исследовании был проанализирован полиморфизм эндотелиальной NO-синтетазы (+894 G/T). Установлено, что при аллельном варианте TT в положении +894 вместо глутаминовой кислоты включается аспарагиновая, что приводит к снижению ферментативной активности этой NO-синтетазы. В нашем исследовании была выявлена тенденция к преобладанию гомозиготного мутантного аллельного варианта TT у больных группы с НРЛ (9,4%), у участников группы с УВО такой аллель не обнаружен. Установлена ассоциация варианта TT гена eNOS с развитием сердечно-сосудистой патологии [44]. Потенциальная роль полиморфизма этого гена в достижении УВО при терапии больных ХГС ранее не исследовалась.

С сосудистой дисфункцией и окислительным стрессом связан генетический полиморфизм еще одного фермента — никотинамидадениндинуклеотид фосфат (НАДФ)-оксидазы, в субъединице p22phox (CYBA +242C/T). Мы предположили, что разные его генетические варианты могут быть вовлечены в патогенез ХГС и, возможно, оказывать влияние на эффектив-

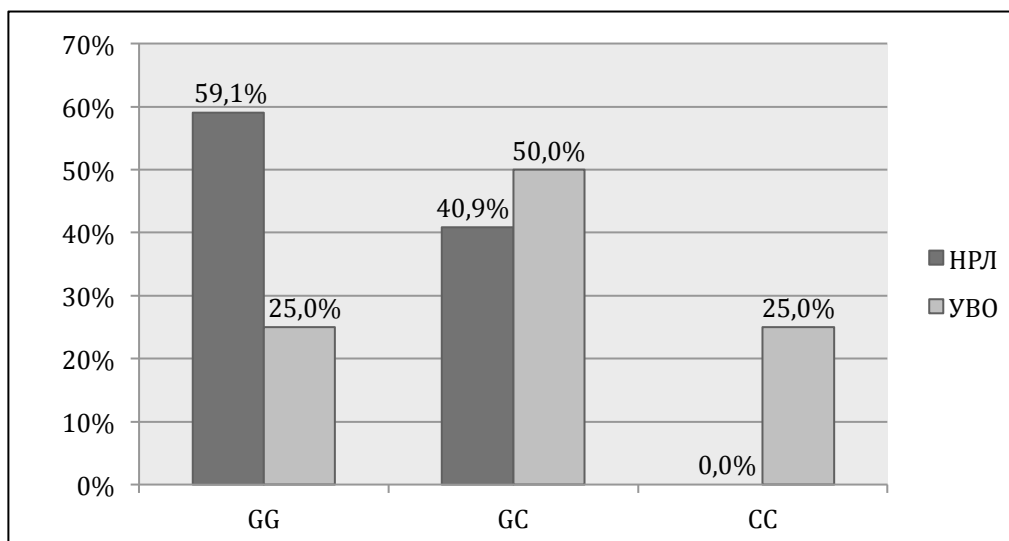
ность терапии. Однако нам не удалось выявить ассоциацию этого полиморфизма субъединицы p22phox НАДФ-оксидазы с результатом ПВТ ( $p=0,608$ ;  $OR=2,14$ ). Ассоциация этого полиморфизма гена CYBA с эффективностью ПВТ никем не исследовалась.

Иммунный статус пациентов с хронической ВГС-инфекцией во многом определяется их генетическими факторами. В последнее время возрастает интерес к изучению роли полиморфизма генов цитокинов как медиаторов антивирусного иммунного ответа, несомненно влияющих на эффективность ПВТ. Участие провоспалительного IL-1 $\beta$  в формировании УВО исследована не достаточно полно. Этот цитокин инициирует и регулирует воспалительные и иммунные процессы (активирует В- и Т-лимфоциты), стимулирует синтез белков острой фазы, некоторых цитокинов, молекул адгезии и простагландинов. Кроме того, он повышает хемотаксис, фагоцитоз, проницаемость сосудистой стенки, стимулирует синтез коллагена и является медиатором взаимодействий между иммунной и нервной системами. Учитывая вовлеченность этого цитокина в столь широкий круг процессов, можно ожидать, что разные аллельные варианты будут влиять на результат ПВТ. Однако в нашем исследовании обнаружено практически равномерное распределение отдельных аллельных вариантов гена IL-1 $\beta$  по локусу -511 C/T в группах больных с УВО и с НРЛ. Аналогичный результат был получен Z. Abbas и соавт. [20]. Есть данные об ассоциации повышенного сывороточного уровня этого цитокина и фактора- $\alpha$  некроза опухолей в развитии депрессии у больных ХГС [45].

Мультифункциональный провоспалительный цитокин IL-6 принимает участие в регенерации и защите печени, в индукции белков острой фазы в гепатоцитах, а также в регуляции созревания В-клеток и продукции иммуноглобулинов, в гемопоэзе и онкогенезе. Установлено, что полиморфизм промоторной части гена IL-6 (-174 G/C) влияет на уровень этого цитокина в крови [46]. Люди с аллельными вариантами GG и GC имеют более высокое сывороточное содержание этого цитокина, чем лица с генотипом CC.

В нашем исследовании обнаружено статистически достоверное более частое ( $p=0,008$ ) выявление аллельного варианта CC в группе больных с УВО (рис. 2), что не совпадает с данными J. Nattermann и соавт. [47].

Такое расхождение, возможно, обусловлено популяционными различиями. Частота встречаемости аллеля C в различных популяциях варьирует от 2 до 54,7%, составляя около 40% у жителей Европы, но лишь 16% у россиян [7].



**Рисунок 2.** Частота встречаемости аллельных вариантов гена IL-6 по локусу -174G/в группах больных с УВО и с НРЛ

Интересный факт выявили S. Barrett и соавт., анализируя частоту встречаемости аллеля С, приводящего к более низкой продукции IL-6, среди пациентов с ХГС и лиц, у которых острый гепатит С завершился естественной элиминацией вируса [48]. В последнем случае аллель С выявлялась достоверно чаще. Известно, что при ХГС наблюдается преобладание В-клеточного ответа над Т-клеточным, а элиминация ВГС в острой фазе отмечается у людей с хорошо выраженным Т-клеточным ответом. Тогда логично ожидать, что лица с более низкой продукцией IL-6 (низкая активация В-клеточного ответа) будут чаще достигать УВО при терапии ХГС.

Потенциальная роль отдельных полиморфизмов IL-10 в терапии ХГС исследована не достаточно полно. Известно, что этот цитокин обладает противовоспалительным эффектом, снижает экспрессию молекул МНС класса I и II и продукцию цитокинов T $\alpha$ 1 [49]. Кроме того, он понижает экспрессию коллагена 1 типа и коллагеназы. Полиморфизм в промоторе в локусе -1082 G/A ассоциирован с разным уровнем продукции IL-10 [50]. Более низкий уровень IL-10 характерен для генотипа AA. L.J. Yee и соавт. установили, что этот генотип ассоциирован с достижением пациентами УВО [51]. В нашем исследовании обнаружено равномерное распределение частоты встречаемости отдельных аллельных вариантов GG, GA и AA в группах пациентов с УВО и с НРЛ (65,5% и 65,6%; 25,0% и 18,8%; 9,45% и 15,6% соответственно). Очевидно, что этот полиморфизм гена IL-10 не ассоциирован с эффективностью терапии больных людей русской, украинской и белорусской национальностей.

Аналогично у больных гепатитом жителей Пакистана, завершивших ПВТ, не удалось выявить корреляцию между этим полиморфизмом и формированием УВО на лечение [20]. При аллельном варианте GG в биоптатах печени па-

циентов отмечаются более высокие значения индекса гистологической активности (ИГА), чем при вариантах GA и AA, что свидетельствует о роли этого полиморфизма в иммунопатогенезе ХГС [20].

TGF- $\beta$ 1 снижает иммунный ответ, ингибируя активность НК-клеток и продукцию интерферона- $\gamma$  и IL-12. Его рассматривают как профибротический цитокин, который ассоциирован с развитием хронической ВГС-инфекции, потому что доминантный («дикий») вариант гена TGF- $\beta$ 1 (+915 GG) достоверно чаще обнаруживается у больных ХГС, чем у здоровых людей [52]. Выявлен полиморфизм гена этого цитокина по локусу +915 G/C, аллельный вариант которого GG приводит к высокой продукции TGF- $\beta$ 1, GC – к промежуточной и CC – к низкой [53]. Нами обнаружена тенденция к более частому выявлению генотипа GC в группе с УВО (12,5%) по сравнению с группой с НРЛ (4,7%). Лиц с генотипом CC в нашем исследовании не выявлено, что может свидетельствовать о его низкой распространённости среди пациентов г. Москвы.

Ранее показано, что больные с генотипом CC чаще ( $p=0,02$ ) достигают первичного ответа, но не УВО [20]. С этим фактом также может быть связано отсутствие пациентов с таким генотипом в нашем исследовании. Больные, достигшие первичного ответа, но не УВО, не включались в группы. Есть данные о том, что пациенты с генотипом GG гена TGF- $\beta$ 1 попадают в группу риска по более высокой скорости формирования фиброза печени [49, 54].

### Заключение

Геном ВГС имеет ярко выраженный полиморфизм, что привело к необходимости классифицировать вирус на генотипы и подтипы, каждый из которых характеризуется определёнными генетическими особенностями, приводящими к разной чувствительности к ПВТ



[55]. Сайты генетической устойчивости ВГС к терапии еще четко не локализованы, но установлено, что вероятность достижения УВО снижается в ряду генотипов 3, 2, 4 и 1 [3, 23].

В нашем исследовании подтверждено, что у лиц восточно-славянского происхождения, инфицированных ВГС субтипа 3а, чаще достигается УВО, чем у пациентов, инфицированных субтипом 1b. Очевидно, что эффективность ПВТ контролируется не только генотипами и субтипами ВГС, но и вирусными квазивариантами, среди которых могут быть устойчивые к терапии. В нашем исследовании не доказано, что пациенты, достигшие УВО, перед началом лечения имели менее разнообразный набор квазивариантов по 1 ГВР белка Е2, чем больные с негативным результатом ПВТ. Но чем больше набор квазивариантов вируса, тем выше вероятность присутствия в нем устойчивого. В исследовании также подтверждено, что пациенты с более низкой вирусной нагрузкой имеют более высокую вероятность достичь УВО при терапии. Однако у некоторых больных с низкой вирусемией ПВТ завершилась безуспешно, что, очевидно, вызвано присутствием у них устойчивого к терапии квазиварианта ВГС [56].

Существенная роль в формировании УВО на терапию у больных ХГС принадлежит индивидуальным генетически предопределенным возможностям пациента, особенно его генам, продукты которых вовлечены в иммунные реакции. Среди проанализированных нами полиморфизмов генов цитокинов (IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10, TGF- $\beta$ 1) выявлены значимые различия только для гена IL-6. Установлено преобладание генотипа CC (-174 G/C), приводящего к низкой продукции IL-6, среди пациентов с УВО ( $p=0,008$ ). Для этого полиморфизма характерны популяционные различия. Нами обнаружена ассоциация полиморфизма гена гемохроматоза (+63 H/D) с эффективностью ПВТ. Генотип HH этого гена чаще выявлялся у пациентов с УВО, а вариант DD — у больных с безуспешной терапией ( $p=0,009$ ). Для полиморфизма этого гена также характерны популяционные различия.

Впервые нами проведен анализ вовлеченности полиморфизма генов, ответственных за сосудистую дисфункцию и окислительный стресс, в формирование УВО. Показана тенденция к более частому выявлению аллельного варианта TT гена эндотелиальной NO-синтазы (+894 G/T) у больных, не достигших УВО. Этот вариант приводит к продукции фермента с низкой активностью. По остальным исследованным полиморфизмам генов человека не выявлено ассоциации с формированием УВО на терапию у больных ХГС. Несомненно, что комбинация однонуклеотидных полиморфизмов ряда генов больных оказывает существенную роль в дости-

жении эффективности ПВТ, и что пока учеными изучена лишь меньшая их часть.

В заключение отметим, что предикторами неблагоприятного результата ПВТ у больных являются: инфицирование вирусом подтипа 1b, высокая вирусная нагрузка, наличие у пациента аллельного варианта DD (локус +63 H/D) гена HFE и отсутствие аллельного варианта CC (локус -174 G/C) гена IL-6.

Авторы выражают благодарность аспиранту факультета фундаментальной медицины МГУ им. М.В. Ломоносова П.И. Макаревичу за помощь при анализе однонуклеотидного полиморфизма генов пациентов.

Данное исследование поддержано грантом РФФИ офи-ц 09-04-13853.

## Литература

- [1] Wasley A., Alter M.A. Epidemiology of hepatitis C: geographic differences and temporal trends // *Semin. Liver Dis.* — 2000. — Vol. 20. — P. 1–6.
- [2] Chisari F.V. Unscrambling hepatitis C virus-host interactions // *Nature.* — 2005. — Vol. 436. — P. 930–932.
- [3] Asselah T., Estrabaud E., Bieche I. et al. Hepatitis C: viral and host factors associated with non-response to pegylated interferon plus ribavirin // *Liver Int.* — 2010. — Vol. 30. — P. 1259–1269.
- [4] Thomas D.L., Thio C.L., Martin M.P. et al. Genetic variation in IL-28B and spontaneous clearance of hepatitis C virus // *Nature.* — 2009. — Vol. 461. — P. 798–802.
- [5] Richardson M.M., Powell E.E., Barrie H.D. et al. A combination of genetic polymorphisms increases the risk of progressive disease in chronic hepatitis C virus // *J. Med. Genet.* — 2005. — Vol. 42. — P. 1–6.
- [6] Simmonds P, Bukh J, Combet C, et al. Consensus proposals for a unified system of nomenclature of hepatitis C virus genotypes // *Hepatology.* — 2005. — Vol. 42. — P. 962–973.
- [7] Абдуллаев С.М., Самоходская Л.М., Игнатова Т.М. и др. Молекулярный полиморфизм человека: структурное и функциональное разнообразие биомакромолекул / Под ред. Варфоломеева С.Д. М.: РУДН, 2007. — Т. 2. — С. 397–458.
- [8] Lebray P., Zylberberg H., Hue S et al. Influence of HFE gene polymorphism on the progression and treatment of chronic hepatitis C // *J. Viral. Hepat.* — 2004. — Vol. 11. — P. 175–182.
- [9] Valenti L., Pulixi E.A., Arosio P. et al. Relative contribution of iron genes, dysmetabolism and hepatitis C virus (HCV) in the pathogenesis of altered iron regulation in HCV chronic hepatitis // *Haematol.* — 2007. — Vol. 92. — P. 1037–1042.
- [10] Sikorska K., Stalke P., Izyczka-Swieszevska E., et al. The role of iron overload and HFE gene mutations in the era of perylated interferon and ribavirin treatment of chronic hepatitis C // *Med. Sci. Monit.* — 2010. — Vol. 16. — P. 137–143.
- [11] Yee L.J., Im K., Borg B. et al. Interleukin-6 (IL-6) haplotypes and the response to therapy of chronic hepatitis C virus infection // *Genes Immun.* — 2009. — Vol. 10. — P. 365–372.
- [12] Лавров А.В. Молекулярно-генетическая характеристика наследственного гемохроматоза у российских

- больных. Автореф. дис. канд. мед. наук. — М., 2004. — 25 с.
- [13] Le Guillou-Guillemette H., Vallet S., Gaudy-Graffin C. et al. Genetic diversity of the hepatitis C virus: impact and issues in the antiviral therapy // *World J. Gastroent.* — 2007. — Vol. 13. — P. 2416–2426.
- [14] Munoz de Rueda P., Casado J., Paton R. et al. Mutation in E2-PePHD, NS5A-PKRB, NS5A-ISDR, and NS5A-V3 of hepatitis C virus genotypes 1 and their relationships to pegylated interferon-ribavirin treatment responses // *J. Virol.* — 2008 — Vol. 82. — P. 6644–6653.
- [15] Bochud P. Y., Cai T., Overbeck K. et al. Genotype 3 is associated with accelerated fibrosis progression in chronic hepatitis C // *J. Hepatol.* — 2009. — Vol. 51. — P. 655–666.
- [16] Николаева Л.И., Зверев С.Я., Петрова Е.В. и др. Гуморальный ответ на антигены вируса гепатита С при коинфекции вирусом иммунодефицита человека 1-го типа // *Лаб. диагност.* — 2008. — № 7. — С. 42–44.
- [17] Hogyo T., Buzard G.S., Calvert R.J., Weghorst C.M. 'Cold SSP': a simple, rapid and non-radioactive method for optimised single-strand conformation polymorphism analyses // *Nucleic Acids Res.* — 1993. — Vol. 21. — P. 3637–3642.
- [18] Ramachandran S., Xia G.L., Ganova-Raeva L.M. et al. End-point limiting-dilution real-time PCR assay for evaluation of hepatitis C virus quasispecies in serum: performance under optimal and suboptimal conditions // *J. Virol. Meth.* — 2008. — Vol. 151. — P. 217–224.
- [19] Николаева Л.И., Макашова В.В., Петрова Е.В. и др. Снижение содержания антител к вирусу гепатита С при антивирусной терапии // *Биомед. Химия.* — 2009. — № 55. — С. 201–212.
- [20] Abbas Z., Moatter T., Hussainy A., Jafri W. Effect of cytokine gene polymorphisms on histological activity index, viral load and response to treatment in patients with chronic hepatitis C genotype 3 // *World J. Gastroent.* — 2005. — Vol. 11. — P. 6656–6661.
- [21] Hadziyannis S.J., Sette H.Jr., Morgan T.R. et al. Peginterferon alpha-2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose // *Ann. Intern. Med.* — 2004. — Vol. 140. — P. 345–355.
- [22] Ивашкин В.Т., Лобзин Ю.В., Сторожаков Г.И. и др. Эффективность и безопасность 48-недельной терапии пегинтерфероном  $\alpha$ -2a и рибавирином у первичных больных хроническим гепатитом С // *Клин. фармакол. тер.* — 2007. — № 16. — С. 22–26.
- [23] Yan K.K., Guirgis M., Dinh T. et al. Treatment responses in Asians and Caucasians with chronic hepatitis C infection // *World J. Gastroenterol.* — 2008. — Vol. 14. — P. 3416–3420.
- [24] Флоряну А.И. Клинико-иммунологические аспекты эффективности противовирусной терапии у больных хроническим вирусным гепатитом С. Автореф. дис. канд. мед. наук. — М., 2007. — 24 с.
- [25] Чуланов В.П., Шипулин Г.А. Роль молекулярных методов диагностики в оптимизации алгоритмов лечения вирусного гепатита С // *Лаб. Медицина.* — 2006. — № 8. — С. 1–12.
- [26] Al-Qahtani A.A., Kessie G., Cruz D.D. et al. Quasispecies of genotype 4 of hepatitis C virus genomes in Saudi patients managed with interferon alfa and ribavirin therapy // *Ann. Saudi Med.* — 2010. — Vol. 30. — P. 109–114.
- [27] Farci P.A., Shimoda A., Coiana G. et al. The outcome of acute hepatitis C predicted by the evolution of the viral quasispecies // *Sci.* — 2000. — Vol. 288. — P. 339–344.
- [28] Moreau I., Levis J., Crosbie O. et al. Correlation between pre-treatment quasispecies complexity and treatment outcome in chronic HCV genotype 3a // *J. Virol.* — 2008. — Vol. 5. — P. 78–93.
- [29] Pawlotsky J.M., Pellerin M., Bouvier M. et al. Genetic complexity of the hypervariable region 1 (HVR1) of hepatitis C virus (HCV): influence on the characteristics of the infection and responses to interferon alfa therapy in patients with chronic hepatitis C // *J. Med. Virol.* — 1998. — Vol. 54. — P. 256–264.
- [30] Farci P., Strazzeria R., Alter H. J. et al. Early changes in hepatitis C viral quasispecies during interferon therapy predict the therapeutic outcome // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2002. — Vol. 99. — P. 3081–3086.
- [31] Salmeron J., De Rueda P.M., Ruiz-Extremera A. et al. Quasispecies as predictive response factors for antiviral treatment in patients with chronic hepatitis C // *Dig. Dis. Sci.* — 2006. — Vol. 51. — P. 960–967.
- [32] Fan X., Mao Q., Zhou D. et al. High diversity of hepatitis C viral quasispecies is associated with early virological response in patients undergoing antiviral therapy // *Hepatol.* — 2009. — Vol. 50. — P. 1765–1772.
- [33] Nakazawa T., Kato N., Ohkoshi S. et al. Characterization of the 5'-noncoding and structural region of the hepatitis C virus genome from patients with non-A, non-B hepatitis responding differently to interferon treatment // *J. Hepatol.* — 1994. — Vol. 20. — P. 623–629.
- [34] Le Guen B., Squadrito G., Nalpas B. et al. Hepatitis C virus genome complexity correlates with response to interferon therapy: a study in French patients with chronic hepatitis C // *Hepatol.* — 1997. — Vol. 25. — P. 1250–1254.
- [35] Дмитриев П.Н., Цыкина М.Н., Серков И.Л. и др. Рекомбинации вируса гепатита С // *Мир вирусн. гепатитов.* — 2009. — № 1. — С. 3–2.
- [36] Corengia C., Galimberti S., Bovo G. et al. Iron accumulation in chronic hepatitis C: relation of hepatic iron distribution, HFE genotype, and disease course // *Am. J. Clin. Pathol.* — 2005. — Vol. 124. — P. 846–853.
- [37] Bonkovsky H.L., Naishadham D., Lambrecht R.W. et al. HALT-C Trial Group. Roles of iron and HFE mutations on severity and response to therapy during retreatment of advanced chronic hepatitis C // *Gastroenterol.* — 2006. — Vol. 131. — P. 1440–1451.
- [38] Gattoni A., Parlato A., Vangieri B. et al. Role of hemochromatosis genes in chronic hepatitis C // *Clin. Ter.* — 2006. — Vol. 157. — P. 61–68.
- [39] Самоходская Л.М., Лавров А.В., Ефименко А.Ю. и др. Особенности генетики наследственного гемахроматоза в русской популяции // *Мед. генет.* — 2007. — № 1. — С. 32–35.
- [40] Sikorska K., Stalke P., Izycka-Swieszewska E. et al. The role of iron overload and HFE gene mutations in the era of pegylated interferon and ribavirin treatment of chronic hepatitis C // *Med. Sci. Monit.* — 2010. — Vol. 16. — P. 137–143.
- [41] Lebrey P., Zylberberg H., Hue S. et al. Influence of HFE gene polymorphism on the progression and treatment of chronic hepatitis C // *J. Viral. Hepat.* — 2004. — Vol. 11. — P. 175–182.
- [42] Distant S., Bjoro K., Hellum K.B. et al. Raised serum ferritin predicts non-response to interferon and ribavirin treatment in patients with chronic hepatitis C infection // *Liver.* — 2002. — Vol. 22. — P. 269–275.

- [43] McNaughton L., Puttagunta L., Martinez-Cuesta M.A. et al. Distribution of nitric oxide synthase in normal and cirrhotic human liver // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2002. — Vol. 99. — P. 17161–17166.
- [44] Cam S.F., Sekuri C., Tengiz I. et al. The G894T polymorphism on endothelial nitric oxide synthase gene is associated with premature coronary artery disease in a Turkish population // *Thromb. Res.* — 2005. — Vol. 116. — P. 287–292.
- [45] Loftis J.M., Huckans M., Ruimy S. et al. Depressive symptoms in patients with chronic hepatitis C are correlated with elevated plasma levels of interleukin-1 $\beta$  and tumor necrosis factor- $\alpha$  // *Neurosci. Lett.* — 2008. — Vol. 430. — P. 264–268.
- [46] Fishman D., Faulds G., Jeffery R. et al. The effect of novel polymorphisms in the interleukin-6 (IL-6) gene on IL-6 transcription and plasma IL-6 levels, and an association with systemic-onset juvenile chronic arthritis // *J. Clin. Invest.* — 1998. — Vol. 102. — P. 1369–1376.
- [47] Nattermann J., Vogel M., Berg N. et al. Effect of the Interleukin-6 C174G Gene Polymorphism on Treatment of Acute and Chronic Hepatitis C in Human Immunodeficiency Virus Coinfected Patients // *Hepatol.* — 2007. — Vol. 46. — P. 1016–1025.
- [48] Barrett S., Collins M., Kenny C. et al. Polymorphisms in tumour necrosis factor-alpha, transforming growth factor-beta, interleukin-10, interleukin-6, interferon-gamma, and outcome of hepatitis C virus infection // *J. Med. Virol.* — 2003. — Vol. 71. — P. 212–218.
- [49] Wilson L.E. et al. Progression of liver fibrosis among injection drug users with chronic hepatitis C // *Hepatol.* — 2006. — Vol. 43. — P. 788–795.
- [50] Pestka S., Krause C.D., Sarkar D. et al. Interleukin-10 and related cytokines and receptors // *Annu. Rev. Immunol.* — 2004. — Vol. 22. — P. 929–979.
- [51] Yee L.J., Tang J., Gibson A.W., Kimberly R. Interleukin 10 polymorphism as predictors of sustained response in antiviral therapy for chronic hepatitis C // *Hepatol.* — 2001. — Vol. 33. — P. 708–712.
- [52] Pereira F.A., Pinheiro da Silva N.N., Rodart I.F. et al. Association of TGF-beta1 codon 25 (G915C) polymorphism with hepatitis C virus infection // *J. Med. Virol.* — 2008. — Vol. 80. — P. 58–64.
- [53] Powell E.E., Edwards-Smith C.J., Hay J.L. et al. Host genetic factors influence disease progression in chronic hepatitis C // *Hepatol.* — 2000. — Vol. 31. — P. 828–833.
- [54] Oyanagi Y., Takahashi T., Matsui S. et al. Enhanced expression of interleukin-6 in chronic hepatitis C // *Liver.* — 1999. — Vol. 19. — P. 464–472.
- [55] Lin E., Hwang Y., Wang S.C., et al. An artificial neural network approach to the drug efficacy of interferon treatments // *Pharmacogenomics.* — 2006. — Vol. 7. — P. 1017–1024.
- [56] Xu Z., Fan X., Xu Y., Di Bisceglie A.M. Comparative analysis of nearly full-length hepatitis C virus quasispecies from patients experiencing viral breakthrough during antiviral therapy: clustered mutations in three functional genes, E2, NS2, and NS5a // *J. Virol.* — 2008. — Vol. 82. — P. 9417–9424.

## **Клинический случай: желтушная форма острого гепатита G с серологическими маркерами HCV-инфекции на фоне заместительной стероидной терапии**

М.Г. Исагулянц<sup>1,2</sup>, Е.В. Цыганова<sup>1,3</sup>, О.О. Знойко<sup>3</sup>, Т.В. Петрова<sup>4</sup>, Н.В. Петракова<sup>1</sup>,  
А. Виделль<sup>5</sup>, Н.Д. Ющук<sup>3</sup>, К.Р. Дудина<sup>3</sup>, Н.В. Федосеева<sup>1,3</sup>, В.Д. Смирнов<sup>1</sup>, С.А. Солонин<sup>6</sup>,  
О.В. Исаева<sup>6</sup>, К.К. Кюрегян<sup>6</sup>, М.С. Вонский<sup>7</sup>, О.В. Калинина<sup>8</sup>, Т. Талло<sup>9</sup>, В. Тефанова<sup>9</sup>

<sup>1</sup> *Институт вирусологии им Д.И. Ивановского, Москва, Россия;*

<sup>2</sup> *Институт микробиологии, клеточной биологии и биологии рака, Каролинский Институт, Стокгольм, Швеция;*

<sup>3</sup> *Московский государственный медико-стоматологический университет, Москва, Россия;*

<sup>4</sup> *Научно-исследовательский институт иммунологии и ЗАО НПФ «ДНК-Технология», Москва, Россия;*

<sup>5</sup> *Академический госпиталь Мальмо, Лундский Университет, Мальмо, Швеция;*

<sup>6</sup> *Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова РАМН, Московская обл., Россия;*

<sup>7</sup> *Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия;*

<sup>8</sup> *Институт Пастера, Санкт-Петербург, Россия;*

<sup>9</sup> *Национальный институт контроля за здоровьем, Таллинн, Эстония*

### **Клиническое наблюдение**

Пациентка Ф., 41-ого года была госпитализирована в гепатологическое отделение Инфекционной клинической больницы № 1 г. Москвы 04.03.05. (на 13 день болезни) с диагнозом «вирусный гепатит».

При поступлении в стационар состояние больной средней тяжести; жалобы на тошноту, дискомфорт в правом подреберье, головную боль и умеренную слабость. С 1-го дня болезни (20.02.05) пациентку беспокоила умеренная сла-

бость, тошнота, рвота съеденной пищей, боль в эпигастрии. С целью уменьшения симптомов пациентка самостоятельно принимала мезим, мотилиум и но-шпу. С 1-го по 10-й день болезни пациентка не отмечала какой-либо динамики симптомов, а принимаемые препараты лишь ненадолго купировали диспепсические расстройства. На 11-й день болезни (02.03.05) боль в эпигастрии усилилась, появилась тяжесть в правом подреберье, потемнела моча; на 12-й день (03.03.05) родственники отметили желтушность

склер и кожи пациентки; 04.03.05 пациентка была доставлена в стационар бригадой скорой медицинской помощи.

### Анамнез

В течение жизни пациентка перенесла ОРВИ, пневмонию, перелом ключицы. За 3 года до заболевания диагностирована желчекаменная болезнь; стационарно по поводу заболевания лечения не проходила. За 6 месяцев до болезни (в августе 2004 г.) в течение месяца принимала гормональные препараты в целях подготовки к экстракорпоральному оплодотворению (ЭКО). В сентябре 2004 г. была проведена попытка ЭКО, закончившаяся отторжением плодного яйца. За 15 дней до начала болезни (06.02.05) был начат второй цикл подготовки к ЭКО на основе дивигеля (эстрогенного препарата для наружного применения; активный ингредиент – синтетический 17 $\beta$ -эстрадиол, химически и биологически идентичный эндогенному человеческому эстрадиолу) и утрожестана (прогестерона, являющегося гормоном желтого тела). Терапию проводили по стандартной схеме.

### Парентеральный анамнез

Подготовка к ЭКО в августе 2004 г., ЭКО – в сентябре 2004 г., осмотры гинекологом – регулярно с июля 2004 г. до февраля 2005 г., интравагинальные введения препаратов по схеме 06.02.05.

В стационаре проведено общеклиническое обследование, включающее оценку жалоб пациентки, данных физикального осмотра и лабораторных показателей.

Клиническое исследование периферической крови с подсчетом форменных элементов в единице объема было выполнено на автоматической гематологической системе «ADIVA 60-CT».

Биохимические исследования (фракционное количественное определение уровня билирубина, определение уровня активности аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартатаминотрансферазы (АСТ), щелочной фосфатазы (ЩФ), гаммаглутамилтранспептидазы (ГГТП) проводились на автоматическом биохимическом анализаторе Cobas Mira Plus («Hoffman-La-Roche», Швейцария), определение показателей тимоловой пробы – модифицированным методом Mac-Lagan.

Иммуноглобулины сыворотки крови определяли методом ИФА с использованием тест-систем производства «Mabtech» (Швеция).

### Результаты первичного обследования в стационаре

При осмотре: кожа и склеры желтушные, живот мягкий, безболезненный во всех отделах при пальпации. Печень выступала из-под края реберной дуги на 1,5 см; по другим органам и системам патологии не выявлено.

В клиническом анализе крови: гемоглобин – 134 г/л (норма – 120–160 г/л), лейкоциты –  $8,8 \times 10^9$ /мкл (норма –  $4 \times 10^9$ – $9 \times 10^9$ /мкл) без сдвига формулы влево, тромбоциты –  $234 \times 10^9$ /мкл (норма –  $180 \times 10^9$ – $320 \times 10^9$ /мкл), СОЭ 8 мм/ч (норма – 2–15 мм/ч). Общий анализ мочи – без патологических изменений.

Результаты биохимического исследования крови приведены в таблице 1.

Содержание иммуноглобулинов в сыворотках крови от 14.03.05 и 17.06.05 составило: IgA – 1,3 г/л и 2,0 г/л (норма для женщин – 0,8–4,5 г/л), IgG – 10,25 г/л и 11,3 г/л (норма – 8,0–17,0 г/л), IgM – 1,3 г/л и 1,42 г/л (норма – 0,8–4,5 г/л) соответственно. Антитела к ВИЧ-1 не обнаружены. Реакция Вассермана отрицательная.

**Таблица 1.** Биохимические показатели крови в желтушном периоде и при динамическом наблюдении пациентки Ф.

Показатели (референсные значения)	15-й день (05.03.05)	24-й день (14.03.05)	4 мес. (17.06.05)
АЛТ (до 30–40 мкмоль/мин·л)	672	77	32
АСТ (до 30–40 мкмоль/мин·л)	238	22	22
О. билирубин / прямой (5–20 / 0–5 мкмоль/л)	63/43	11/10	11/ н/д
ЩФ (до 100 мкмоль/мин·л)	149	76	н/д
ГГТП (до 40 ед/л)	801	76	н/д
Общий белок (65–85 г/л)	74	н/д	н/д
Тимоловая проба (до 14–16 ед)	6	н/д	н/д
Протромбиновый индекс (95–105%)	100%	н/д	н/д

При ультразвуковом исследовании органов брюшной полости от 05.03.05. (14-й день болезни) выявлены структурные изменения печени, признаки калькулезного холецистита, жировая инфильтрация поджелудочной железы.

#### Специфическая диагностика и результаты

Диагностика вирусных гепатитов А, В и С проводилась в лаборатории ИКБ №1 г. Москвы методом ИФА с использованием коммерческих диагностических тест-систем. Для определения анти-HAV IgM применяли «Диагностические системы» (Нижний Новгород), HBsAg – «Organon Teknika 4.0» (Голландия), anti-HBc IgM и IgG – «Диагностические системы» и «Препарат» (Нижний Новгород), anti-HCV – «Organon Teknika» (Голландия), «Cobas Core Anti-HCV

EIA» (Швейцария) и «Рекомби-Бест ВГС» («Вектор Бест», Россия).

Для уточнения этиологии гепатита сыворотка крови больной Ф. исследовалась методом ПЦР (качественный анализ) на наличие нуклеиновых кислот гепатотропных вирусов: RNA HAV, HCV, HEV, HGV и DNA HBV (табл. 2).

Кроме того, определяли нуклеиновые кислоты других вирусов, так же обладающих гепатотропностью: CMV, EBV, HHV 1, 2, 6 и 8 типов и TTV методом ПЦР с использованием тест-систем производства ЗАО НПФ «ДНК-Технологии» (Россия). Маркеры инфицирования anti-HEV IgM и IgG определяли с помощью с помощью тест-систем «Вектор Бест» (Россия), anti-PV B-19 IgM и IgG – «Biotrin» (Ирландия) и anti-EBV IgA, IgM, IgG – «Euroimmun AG» (Германия).

**Таблица 2.** Результаты исследования сыворотки крови пациентки Ф. на маркеры инфицирования вирусов гепатитов

Маркеры вирусов гепатитов		05.03.05	14.03.05	17.06.05
HAV	anti-HAV IgM	отр.	отр.	н/д
	RNA HAV	н/д	отр.	отр.
HBV	HBsAg	отр.	отр.	отр.
	anti-HBc IgM	отр.	отр.	н/д
	anti-HBc IgG	отр.	н/д	н/д
	DNA HBV	н/д	отр.	отр.
HCV	anti-HCV	отр.	отр.	отр.
	RNA HCV	н/д	отр.	отр.
	Вестерн блот	отр.	отр.	отр.
HGV	RNA HGV	н/д	пол	отр
HEV	anti-HEV IgM	н/д	отр.	н/д
	anti-HEV IgG	н/д	отр.	н/д
	RNA HEV	н/д	отр.	н/д

**Комментарии:** отр. — отрицательный результат, пол. — положительный результат, н/д — нет данных

Анализ образцов сывороток крови от 5 и 14 марта (15 и 24 день болезни соответственно) методом ИФА показал отсутствие антител к вирусам гепатита А, В, С и Е. По оптическим плотностям при ИФА на HCV и HBV сыворотки имели соотношение специфического сигнала к уровню cut-off менее 0,9, т.е. не давали неопределенных результатов ИФА.

Анализ образцов сывороток крови от 5 и 14 марта методом ПЦР не выявил RNA HAV, HCV, HEV и DNA HBV, TTV, CMV, EBV, HHV 1, 2, 6 и 8 типов и PV B-19. В образце сыворотки от 14.03.05. была обнаружена РНК HGV (табл. 2). При повторном исследовании (через 3 месяца

после выписки из стационара) РНК HGV не была обнаружена.

Для исключения аутоиммунной природы гепатита в сыворотке крови пациентки методом непрямой иммунофлюоресценции исследовали антинуклеарные (ANA) и антимитохондриальные (AMA) антитела («IMMCO Diagnostics», США).

В сертифицированной лаборатории Центра крови Каролинского госпиталя (Швеция) было проведено комплексное исследование на наличие аутоантител к двуспиральной ДНК, хроматину, рибосомальным белкам SS-A (Ro52/Ro60), SS-B, Sm, Sm/RNP, RNP (A и 68), Scl-70, Jo-1 и

центромере В методом BioPlexR ANA Screen («Bio-Rad», США) с использованием люминометра.

Иммунологическое исследование архивных образцов сывороток крови методом непрямой иммунофлюоресценции показало отсутствие АМА и АНА в диагностическом титре. Определение аутоантител к двуспиральной ДНК, хроматину, рибосомальным белкам, SS-A (Ro52/Ro60), SS-B, Sm, Sm/RNP, RNP (A и 68), Scl-70, Jo-1 и центромере В были в пределах нормальных значений (уровень всех антител < 1/мл, анти-ДНК < 5 Ед/мл). Полученные результаты позволили исключить у пациентки аутоиммунный гепатит.

### Терапия

Больной проводилась базисная, дезинтоксикационная и симптоматическая терапия в соответствии с рекомендациями, указанными в Приказе № 283 от 06.07.2000 «О совершенствовании медицинской помощи больным вирусными гепатитами» Комитета Здравоохранения г. Москвы [1]. К 15-му дню от начала заболевания сохранялась небольшая слабость, дискомфорт в правом подреберье. С 17-го дня от начала заболевания состояние пациентки расценивалось как удовлетворительное.

### Диагноз при выписке

На основании жалоб при поступлении, наличия парентерального анамнеза, а также клинической картины, характерной для острого гепатита (диспепсического, астеновегетативного и желтушного синдромов, гепатомегалии), результатов проведенных исследований крови (гиперферментемии, гипербилирубинемии; отсутствия маркеров вирусных гепатитов А, В, С и Е) пациентке был поставлен первичный диагноз «острый гепатит неуточненной этиологии».

В остром периоде в крови больной была обнаружена РНК HGV. Но в связи с отсутствием в МКБ 10 нозологической формы «вирусный гепатит G», диагноз больной Ф. при выписке был оставлен без изменений. После выписки из стационара пациентка в течение 6 мес. наблюдалась амбулаторно в консультативном гепатологическом центре при ИКБ № 1. За период амбулаторного наблюдения пациентка жалоб не предъявляла, размеры печени и селезенки, по данным пальпации и перкуссии, были в пределах нормы.

### Экспериментальные исследования и их результаты

В период с 2004 г. по 2006 г. в ИКБ №1 проводилось когортное исследование пациентов с целью выявления варианта гепатита С с атипичным серологическим профилем. После получения добровольного информированного согла-

сия пациентка Ф. была включена в данное исследование. В рамках исследования был изучен гуморальный и клеточный иммунный ответ пациентки Ф. на широкий спектр антигенов HCV за период нахождения в стационаре и при повторном амбулаторном обследовании.

Спектр антигенов HCV включал: белок нуклеокапсида/кора, белки оболочки E1 и E2, неструктурные белки NS3, NS4, NS5a («Диагностические системы», Нижний Новгород) и NS5b, экспрессированный в клетках *E. coli*, а также синтетические пептиды («Thermohybrid», Германия). Пептиды представляли участки полипротеина HCV (в аминокислотных остатках): 1-20, 13-33, 34-56, 63-80, 67-81, 76-90, 106-126, 129-145, 140-160, 155-177 белка нуклеокапсида/кора HCV 1b, 774-796 белка p7, 802-821 белка NS2 HCV 1a и 1b; 1030-10581, 1073-10972, 1098-11323, 1157-11784, 1184-12185, 1227-12526, 1241-12807, 1287-13138, 1304-13309, 1349-137910, 1382-141511, 1438-147112, 1473-149713, 1482-151014, 1515-15465, 1544-157916, 1584-161917, 1632-165718 белка NS3 HCV 1b, консенсусные пептиды HVR-N и HVR-C, представляющие гипервариабельную петлю (HVR) 1 белка оболочки E2 [2]. Были также использованы контрольные антигены: тяжелая (My heavy) и легкая (My light) цепи альфа миозина сердца человека и убикитин (Ubi) (Sigma, США), гамма-интерферон мыши (RmIFN- $\gamma$ ; R&D) и пептиды из состава бета-3 адреналового рецептора мыши (B3ar), тяжелой цепи альфа-миозина сердца человека (My1553), трансмембранного белка gp41 ВИЧ-1 (LG и TT).

### Иммуноферментный анализ

Наличие антител к антигенам HCV тестировали методом ИФА. Для этого антигены сорбировали на планшеты в карбонат-бикарбонатном буфере pH 9,3 при температуре 6-8 °C в концентрации 10 мг/мл (пептиды, время сорбции – 4 суток) и 0,3 мг/мл (белки, время сорбции – сутки). Анализ проводили, как описано ранее [3].

### Исследование клеточного иммунитета

Из гепаринизированной крови больной центрифугированием в градиенте Фиколла выделяли периферические клетки крови и проводили бласт-трансформацию в присутствии антигенов HCV и контрольных антигенов. В качестве положительного контроля использовали митоген Конканавалин А (Sigma).

Для стимуляции лимфоцитов использовали смеси пептидов (пулы), перекрывающие участки антигена core ак 1-56 (core №1); ак 63-126 (core №2), ак 129-177 (core № 3); и участки NS3 белка ак 1030-1132 (NS3 пул №1), ак 1157-1218 (NS3 №2), ак 1227-1313 (NS3 №3), ак 1304-1415 (NS3 №4), ак 1438-1510 (NS3 №5), ак 1515-1579 (NS3 №6) и ак 1584-1657 (NS3 №7), а также индивиду-

альные белковые антигены: core, NS3, NS4, NS5a и NS5b. Бласт-трансформацию проводили как описано ранее [4]. На 3-ий день отбирали культуральные жидкости и анализировали их на содержание цитокинов IL-2, IL-4, IL-10 и IFN- $\gamma$  методом ИФА с использованием тест-системы «Mabtech АВ» (Швеция), как рекомендовано производителем.

Данные серологического обследования пациентки Ф. представлены в таблице 3. Как в ост-

ром периоде, так и при динамическом наблюдении у больной были выявлены антитела к core, E1, E2, NS4 и пептидам, представляющим core (ак 1-18, 63-80, 155-172) и гипервариабельную петлю 1 белка оболочки E2 (табл. 3). При динамическом наблюдении снижения титра антител к указанным антигенам не происходило. Наблюдалась также сероконверсия по антителам к иммунодоминантному эпитопу антигена core (ак 1-18) [5].

**Таблица 3.** Секреция IFN- $\gamma$  и IL-4 периферическими клетками крови пациентки Ф. после стимуляции антигенами HCV *in vitro*\*

Показатели	IFN $\gamma$	IL-4
HCV core	0,10	0,10
HCV core aa 1-56	0,10	0,10
HCV core aa 63-126	0,10	102,0
HCV core aa 129-192	0,10	0,10
NS	0,10	0,10
NS3	0,10	70,0
NS4	50,0	40,0
NS5a	25,0	0,10
NS5a	0,10	70,0
NS3 aa 1157-1218	0,10	290,0
NS3 aa 1227-1313	37,0	40,0
NS3 aa 1304-1415	35,0	0,10
NS3 aa 1438-1510	10,0	0,10
NS3 aa 1515-1579	35,0	70,0
NS3 aa 1184-1218	25,0	0,10
Con A	120,0	0,10

**Комментарии:** \* — 3-ий день пролиферативного теста, проведен через 4 мес. от начала болезни (17.06.05)

Учитывая то, что пациентка была серонегативна по антителам к HCV в трех коммерческих тест-системах и иммунноблоте, необходимо было исключить положительный результат в ИФА за счет присутствия в крови антител к родственным HCV флавивирусам; например, к вирусам

клещевого энцефалита (ТВЕ), лихорадки Западного Нила (Nil) и Денге (Denge). При исследовании в сыворотках крови пациентки на наличие IgG и IgM антител к флавивирусам была отмечена аналогичная оптическая плотность (OD) в сравнении с негативными контролями (табл. 4).

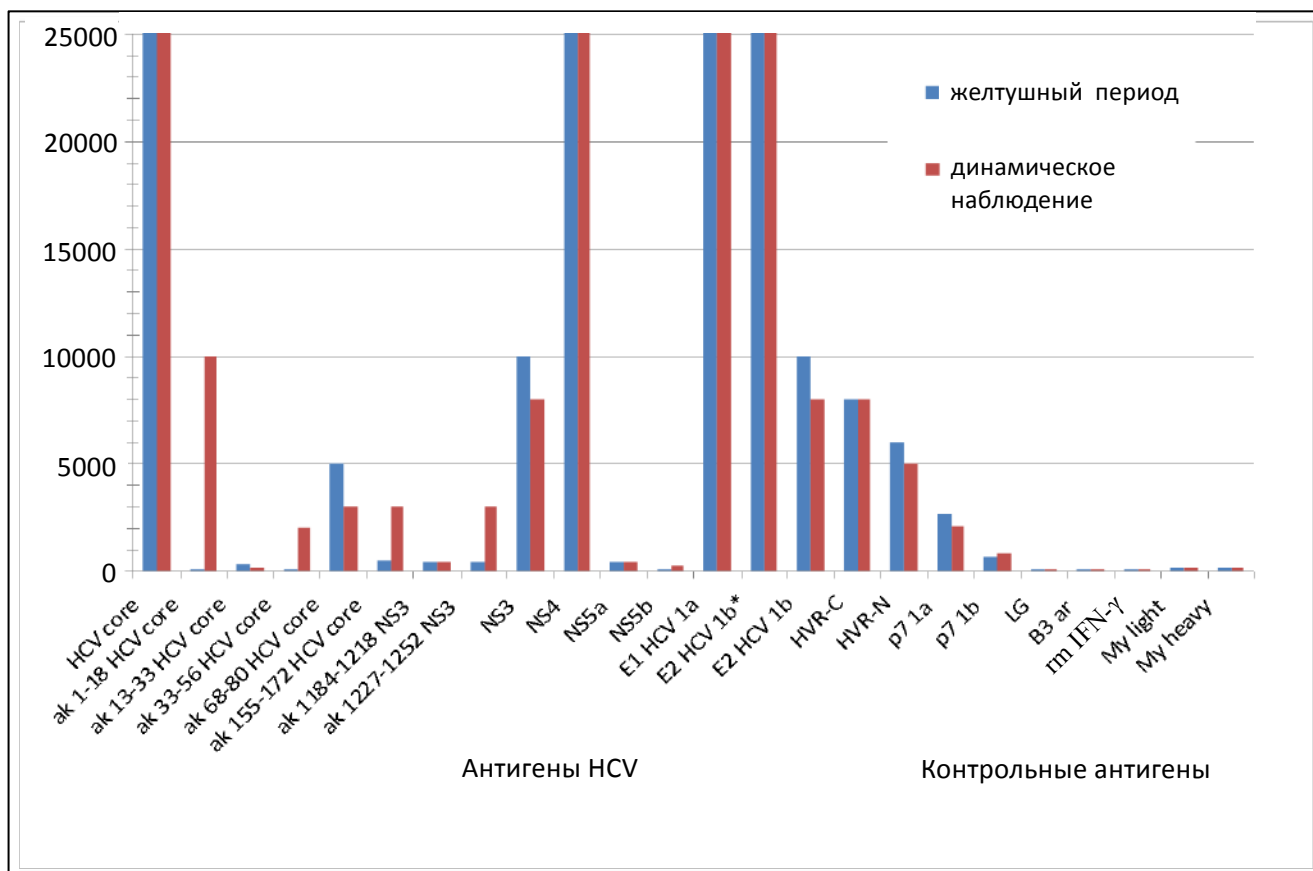
**Таблица 4.** Сравнение оптических плотностей сывороток пациентки Ф. и контрольных образцов на наличие IgG и IgM антител к вирусам Крымской-Конго геморрагической лихорадки, клещевого энцефалита, лихорадкам и Денге и Западного Нила

	CrK		TBE		Denge		Nil IgG
	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM	IgG	
<b>Положительный контроль</b>	2,31	2,30	1,98	0,90	1,12	0,50	2,19
<b>Отрицательный контроль</b>	0,04	0,13	0,04	0,05	0,20	0,34	0,05
<b>14.03.05.</b>	0,04	0,17	0,05	0,02	0,19	0,07	0,06
<b>17.06.05.</b>	0,04	0,13	0,05	0,02	0,19	0,04	0,09

**Комментарии:** CrK — крымская-Конго геморрагическая лихорадка

С целью выявления возможной неспецифической серореактивности за счет полиспецифических антител, провели также определение в

крови больной IgM и IgG к вирусу, который не относится к семейству *Flaviviridae* – вирусу CrK. Получены отрицательные результаты (рис. 1).



**Рисунок 1.** Результаты серологического исследования на антитела к HCV сывороток крови (пкг/мл) пациентки Ф. в желтушном периоде и при динамическом наблюдении через 4 месяца от начала болезни

Таким образом, при исследовании культуральных жидкостей, полученных при бласттрансформации лимфоцитов в ответ на *in vitro* стимуляцию антигенами HCV, была отмечена секреция цитокинов, преимущественно IFN-γ и IL-4, отражающая клеточный иммунный ответ, развивающийся по Th2-типу (табл. 3). В совокупности, полученные данные подтверждали наличие у пациентки Ф. специфического иммунного ответа на антигены HCV.

### Обсуждение

При отсутствии маркеров вирусных гепатитов А, В, С и Е пациентке Ф. был поставлен диагноз «острый гепатит неуточненной этиологии». При этом в остром периоде была обнаружена РНК HGV. Как и HCV, HGV относится к семейству *Flaviviridae*. Это – RNA-содержащий вирус, характеризующийся значительно меньшей изменчивостью генома, чем HCV. Гепатит G относят к инфекции с парентеральной передачей возбудителя [6].

Клинические проявления этого заболевания описаны неполно, что обусловлено редким выявлением моноинфекции HGV (описаны лишь

отдельные случаи острого и хронического гепатита G) [7, 8]. Как правило, HGV не вызывает яркой клинической картины острого вирусного гепатита. По данным литературы, у пациентов с выявляемой RNA HGV чаще всего не наблюдается изменений в биохимическом анализе крови (повышение активности АЛТ) и не отмечается выраженных гистологических изменений в ткани печени (индекс Knodell не более 4–5 баллов) [7, 8].

Характерно, что RNA HGV встречается и среди здоровых лиц (доноров) (с частотой от 1,5% до 1,8%, 9/329 и 10/549 соответственно). Указанием на незначительную роль HGV в поражении печени являются также данные об отсутствии различий в частоте выявления RNA HGV у доноров крови с нормальным и повышенным уровнем АЛТ (1,7% и 1,5% соответственно) [6].

Чаще всего HGV обнаруживается в сочетании с вирусами, передающимися парентерально, в частности с HBV, HDV и HCV [9]. При остром гепатите В и остром гепатите С HGV удается определить в 24–37% случаев, причем более часто встречается ко-инфекция HGV с



HCV [10]. При этом нет достоверных различий по уровню АЛТ, АСТ и ГГТП в группах, инфицированных HGV и HGV+HCV, что указывает на роль HGV как пассивного «попучика», неотягощающего течения ни HBV-, ни HCV-инфекции и еще раз подчеркивает его незначительную роль в поражении печени [6, 11].

В процессе подготовки к ЭКО, больная Ф. подвергалась многократным парентеральным вмешательствам (инъекциям, осмотрам гинеколога, интравагинальным введениям препаратов) и в силу этого относилась к группе риска по заражению вирусами с парентеральным механизмом передачи. Заражение HGV так же, как и в случае HBV- и/или HCV-инфекции, часто связывают с парентеральными вмешательствами, в частности, с эндоскопическими манипуляциями [12].

Клинически манифестная форма острой инфекции (желтушная форма) не характерна для гепатита G и наличие парентерального анамнеза при отсутствии предшествующих заболеваний печени указывали на возможную коинфекцию пациентки Ф. несколькими вирусами. Важно отметить, что при лечении бесплодия и перед ЭКО пациентка Ф. проходила комплексное обследование. При этом многократно проводился биохимический анализ крови, а также исследования сыворотки крови на наличие маркеров HBV и HCV (HBsAg и anti-HCV). Уровень аминотрансфераз был в пределах референсных значений, HBsAg и anti-HCV выявлены не были.

Таким образом, момент инфицирования/коинфицирования определен достаточно точно. Возможность коинфекции именно HCV была исследована подробно в силу того, что пациентка попала в когортное исследование гепатита С с атипичным серологическим профилем.

Экспериментальные исследования выявили в крови больной Ф. высокий уровень антител к четырнадцати антигенам HCV - структурным и неструктурным белкам HCV и пептидам из их состава. Титр антител к отдельным антигенам достигал  $2,5 \times 10^4$  и не снижался в течение периода наблюдения. По четырем эпитопам, включая иммунодоминантный эпитоп из состава core антигена HCV, наблюдали сероконверсию.

Обнаруженный у больной Ф. высокий уровень антител к антигенам HCV потребовал объяснений - не являются ли данные наблюдения результатом неспецифической или перекрестной реакции. Мы показали, что серореактивность с антигенами HCV не зависела от гиперглобулинемии или присутствия низкоаффинных полиспецифических антител. Ряд перекрестных реакций связан с присутствием в крови аутоантител, однако, многопараметрические серологические тесты на аутоантитела дали отрицательные результаты. Серореактивность с анти-

генами HCV не была связана с наличием антител на другие флавивирuses, в частности регионально распространенного вируса клещевого энцефалита. Возможно, однако, не специфическое, а перекрестное иммунное распознавание HCV как родственного HGV флавивируса. Действительно, HGV и HCV сходны, уровень гомологии составляет 28% [13]. В консервативных областях вирусных полипротеинов гомология намного выше, что делает перекрестное иммунное распознавание весьма возможным. Наиболее вероятными являются перекрестные реакции антител к HGV с неструктурными белками NS5 HCV [14], однако, именно эти серореакции у больной Ф. отсутствовали (рис. 1). Наряду с этим, сыворотка больной Ф. содержала высокий титр антител к белку нуклеокапсида HCV и пептидам из его состава. Известно, что HGV (в отличие от HCV, GBV/A и GBV/B) не имеет белка нуклеокапсида, а N-концевой фрагмент полипротеина HGV не гомологичен N-концевому фрагменту полипротеина HCV [15]. Следовательно, серореакции с белком нуклеокапсида HCV не могут быть объяснены наличием в крови пациентки Ф. антител к HGV.

В отличие от HCV, HGV очень консервативен. Это указывает на невысокую иммунную активность организма в ответ на инфицирование HGV (что совпадает с концепцией о его низкой патогенности). Для HGV не характерны ни высокий титр антител, ни мощный клеточный иммунный ответ. Описаны случаи появления антител к E2 с последующей нейтрализацией. Антитела к оболочке HGV выявляются после исчезновения RNA HGV и быстро снижаются [13,16]. В противоположность этому, в случае пациентки Ф. мы наблюдали стабильно высокий уровень антител к HCV различной специфичности, в том числе к белкам оболочки, т.е. антительную специфичность и динамику, не совпадающую с таковой при HGV-инфекции.

Периферические клетки крови больной, стимулированные HCV антигенами, активно продуцировали цитокины Th2-профиля, IFN- $\gamma$  и IL-4. Причем наличие антител к антигену коррелировало с *in vitro* продукцией IL-4, что указывало на специфичность наблюдаемого иммунного ответа к HCV. В совокупности, это свидетельствует в пользу того, что наблюдаемое нами иммунное распознавание антигенов HCV вызвано не перекрестной реакцией с антигенами/эпитопами HGV, а наличием HCV-специфического иммунного ответа.

Пациентка Ф. имела измененный гормональный статус за счет приема препаратов прогестерона и эстрогена. Известно, что адекватный иммунный ответ обеспечивается определенным гормональным гомеостазом, и любые его изменения приводят к изменениям иммунологической реактивности [17-21]. Эстроген вызывает

поликлональную стимуляцию В-клеток и увеличивает продукцию IgG и IgM периферическими клетками крови. Он не только регулирует уровень антител, но и влияет, как прямо, так и опосредованно (через цитокины) на их субклассную специфичность [21]. Влияние на продукцию IFN- $\gamma$  не описано, влияние на продукцию IL-2 неоднозначно, но известно, что уровень эстрогена определяет уровень IL-4 [20]. Показано, что продукция IL-4 в Т-хелперах сильно увеличена в лютеиновой фазе по сравнению с фолликулярной фазой цикла яйцеклетки [22]. На это указывают и наши данные по высокому уровню секреции IL-4 в культуральную жидкость при специфической стимуляции периферических клеток крови пациентки Ф. IL-4, преимущественно секретируемый Т-хелперными клетками, стимулирует В-клетки к изменению субкласса продуцируемых антител [21, 22].

Таким образом, заместительная гормональная терапия пациентки Ф. могла не только сдвинуть иммунную систему в сторону ответа по Th2-типу, но также привести к выработке вирус-специфических антител, субклассная специфичность которых отличалась от таковой при нормальном гормональном фоне. Уместно напомнить, что при экспериментальном анализе антител к HCV в настоящей работе выявляли тотальные иммуноглобулины, а не только антитела субкласса IgG, как в коммерческих тест-системах на HCV.

В литературе описаны гендерные различия в выработке противовирусного иммунитета, в частности, различия в эпитопной специфичности иммунного ответа [23, 24]. Этот феномен нашел свое объяснение в гормонозависимой регуляции активности антигенпрезентирующих клеток, в том числе дендритных [25]. Это указывает, что под действием гормонотерапии у пациентки Ф. могли выработаться anti-HCV антитела с необычной эпитопной специфичностью. Изменение субклассового распределения и/или эпитопной специфичности anti-HCV антител на фоне гормонотерапии может объяснить, почему мощный иммунный ответ, выявляемый экспериментально, не был выявлен стандартными тест-системами.

Мы предполагаем, что течение острого вирусного гепатита у пациентки Ф. было вызвано сочетанной острой HGV-HCV инфекцией. Это объясняет и манифестную форму инфекции с развитием желтухи и интоксикационного синдрома, что нетипично для гепатита G, и наличие у пациентки Ф. гуморального и клеточного иммунного ответа на антигены HCV, выявленного экспериментальными методами. Возможны также альтернативные объяснения: отягощенное течение HGV-инфекции и/или холестатическое поражение печени на фоне гормонотерапии.

Известно, что желтушная форма острого гепатита, вызываемого флавивирусами (в частности, HCV) развивается не из-за поражения вирусом клеток печени (так как репликация флавивирусов не вызывает гибели гепатоцитов), а из-за клеточного иммунного ответа [26]. Вирус-специфические цитотоксические лимфоциты уничтожают инфицированные вирусами клетки печени, именно это приводит к клиническим проявлениям острого вирусного гепатита. Терапия половыми гормонами приводит к изменению параметров иммунного ответа организма. В частности, повышение уровня эстрогенов приводит к подавлению Т-клеточного иммунитета [27,28], и, следовательно, должно привести к уменьшению цитолитической реакции и снижению интенсивности клинических проявлений острой вирусной инфекции. С учетом этого, отягощенное течение HGV инфекции на фоне гормонотерапии представляется маловероятным.

В литературе описаны лишь единичные случаи острого гепатита, связанного с препаратами прогестерона и эстрогена (1 на 10 000) [29]; заместительную терапию этими препаратами чаще связывают с кардиоваскулярными осложнениями. Лекарственная гепатотоксичность развивается в течение первых недель от начала приема препарата. Повторные приемы приводят к проявлению патологий уже в значительно более короткие сроки при высоком риске развития фульминантного гепатита [29,30]. При этом, наблюдают изменение формулы крови (лейкоцитоз, эозинофилия) и значительное, более чем трехкратное увеличение уровня активности щелочной фосфатазы в сыворотке крови [29, 31].

К моменту развития острого гепатита пациентка Ф. проходила уже второй курс подготовки к ЭКО, при первом курсе никакой патологии не наблюдалось. После описанного в статье эпизода пациентка Ф. прошла третий курс подготовки к ЭКО, который закончился успешно. Показатели общего клинического анализа крови на момент госпитализации были в норме. Наблюдали повышение активности аминотрансфераз, уровень щелочной фосфатазы был не выше двух норм.

Таким образом, как анамнез больной, так и клинико-биохимические показатели крови на момент болезни исключают холестатическое поражение печени в результате гормонотерапии.

## Заключение

Альтернативные механизмы развития острого гепатита у пациентки Ф. в результате заместительной гормональной терапии *per se* представляются маловероятными и не объясняют наличия HCV-специфического иммунного ответа при нормальной функции печени при отсут-

ствии маркеров гепатита С до ЭКО и в период, предшествующий ЭКО. С нашей точки зрения, на основании приведенных данных, пациентке Ф. может быть поставлен диагноз желтушной формы смешанной HGV и HCV инфекции на фоне гормонотерапии с последующей реконвалесценцией.

## Литература

- [1] Приказ № 283 от 06.07.2000 «О совершенствовании медицинской помощи больным вирусными гепатитами» Комитета Здравоохранения г. Москвы/
- [2] Цыганова Е.В., Знойко О.О., Солонин С.А. и др. Описание клинического случая острого гепатита с ретроспективным обнаружением маркеров вирусов гепатитов Е и С // Мир вирусных гепатитов. — 2010. — № 1. — С. 129–136.
- [3] Isagulians M.G., Widell A., Zhang S.M. et al. Antibody responses against B-cell epitopes of the hypervariable region 1 of hepatitis C virus in self-limiting and chronic human hepatitis C followed-up using consensus peptides // J. Med. Virol. — 2002. — Vol. 66. — P. 204–217.
- [4] Sandström E., Nilsson C., Hejdeman B. et al. Broad immunogenicity of a multigene, multiclade HIV-1 DNA vaccine boosted with heterologous HIV-1 recombinant modified vaccinia virus Ankara // J. Infect. Dis. — 2008. — Vol. 198. — P. 1482–1490.
- [5] Sällberg M., Pumpen P., Zhang Z.X. et al. Locations of antibody binding sites within conserved regions of the hepatitis C virus core protein // J. Med. Virol. — 1994. — Vol. 43. — P. 62–68.
- [6] Heuft H.G., Berg T., Schreier E. et al. Epidemiological and clinical aspects of hepatitis G virus infection in blood donors and immunocompromised recipients of HGV-contaminated blood // Vox Sang. — 1998. — Vol. 74. — P. 161–167.
- [7] Cheng Y., Zhang W., Li J. , et al. Serological and histological findings in infection and transmission of GBV-C/HGV to macaques // J. Med. Virol. — 2000. — Vol. 60. — P. 28–33.
- [8] Martin P., Fabrizi F., Dixit V. et al. Epidemiology and natural history of hepatitis G virus infection in chronic hemodialysis patients // Am. J. Nephrol. — 1999. — Vol. 19. — P. 535–540.
- [9] Björkman P., Widell A., Veress B. et al. GB virus C/hepatitis G virus infection in patients investigated for chronic liver disease and in the general population in southern Sweden // Scand. J. Infect. Dis. — 2001. — Vol. 33. — P. 611–617.
- [10] Wu J.C., Chiang T.Y., Huang Y.H. et al. Prevalence, implication, and viral nucleotide sequence analysis of GB virus-C/hepatitis g virus infection in acute and fulminant and non-fulminant hepatitis // J. Med. Virol. — 1998. — Vol. 56. — P. 118–122.
- [11] Tan D., Matsumoto A., Conry-Cantilena C. et al. Analysis of hepatitis G virus (HGV) RNA, antibody to HGV envelope protein, and risk factors for blood donors coinfecting with HGV and hepatitis C virus // J. Infect. Dis. — 1999. — Vol. 179. — P. 1055–1061.
- [12] Björkman P., Nauclicr A., Winqvist N. et al. A case-control study of transmission routes for GB virus C/hepatitis G virus in Swedish blood donors lacking markers for hepatitis C virus infection // Vox Sang — 2001. — Vol. 81. — P. 148–153.
- [13] Stapleton J.T. GB virus type C/Hepatitis G virus // Semin. Liver Dis. — 2003. — Vol. 23. — P. 137–148.
- [14] La Perche S., Courouce A.M., Lemaire J.M. et al. GB virus type C/hepatitis G virus infection in French blood donors with anti-NS5 isolated reactivities by recombinant immunoblot assay for hepatitis C virus // Transfusion — 1999. — Vol. 39. — P. 790–791.
- [15] Beames B., Chavez D., Lanford R.E. GB virus B as a model for hepatitis C virus // ILAR J. — 2001. — Vol. 42. — P. 152–160.
- [16] Shin-Yen Lo, Chia-Wen Ku, Hsin-Chien Ma et al. Detection of serologic responses to GB virus C/ hepatitis G virus infection // Int. J. Infect. Dis. — 2002. — Vol. 6. — P. 223–227.
- [17] Grossman C.J. Interactions between the gonadal steroids and the immune system // Science. — 1985. — Vol. 227. — P. 257–261.
- [18] Brunelli R., Frasca D., Perrone G. et al. Hormone replacement therapy affects various immune cell subsets and natural cytotoxicity // Gynecol. Obstet. Invest. — 1996. — Vol. 41. — P. 128–131.
- [19] White H.D., Crassi K.M., Givan A.L. et al. CD3+ CD8+ CTL activity within the human female reproductive tract: influence of stage of the menstrual cycle and menopause // J. Immunol. — 1997. — Vol. 158. — P. 3017–3027.
- [20] De Silva J.A. Sex hormones and glucocorticoids: interactions with the immune system // Ann. N. Y. Acad. Sci. — 1999. — Vol. 876. — P. 102–117; discussion 117–118.
- [21] Bouman A., Heineman M.J., Faas M.M. Sex hormones and the immune response in humans // Hum. Reprod. Update — 2005. — Vol. 11. — P. 411–423.
- [22] Faas M., Bouman A., Moes H. et al. The immune response during the luteal phase of the ovarian cycle: a Th2-type response? // Fertil. Steril. — 2000. — Vol. 74. — P. 1008–1013.
- [23] Han X., Lundberg P., Tanamachi B. et al. Gender influences herpes simplex virus type 1 infection in normal and gamma interferon-mutant mice // J. Virol. — 2001. — Vol. 75. — P. 3048–3052.
- [24] Zhang X., Castelli F.A., Zhu X. et al. Gender-dependent HLA-DR-restricted epitopes identified from herpes simplex virus type 1 glycoprotein D // Clin. Vaccine Immunol. — 2008. — Vol. 15. — P. 1436–1449.
- [25] Kovats S., Carreras E. Regulation of dendritic cell differentiation and function by estrogen receptor ligands // Cell Immunol. — 2008. — Vol. 252. — P. 81–90.
- [26] Rehermann B. Hepatitis C virus versus innate and adaptive immune responses: a tale of coevolution and coexistence // J. Clin. Invest. — 2009. — Vol. 119. — P. 1745–1754.
- [27] De Silva J.A., Pinto A., Cutolo M. et al. Gender differences in adrenal and gonadal responses to inflammatory aggression // Ann. N. Y. Acad. Sci. — 1999. — Vol. 876. — P. 148–151.
- [28] Tait A.S., Butts C.L., Sternberg E.M. The role of glucocorticoids and progestins in inflammatory, autoimmune, and infectious disease // J. Leukoc. Biol. — 2008. — Vol. 84. — P. 924–931.
- [29] Kreek M.J. Female sex steroids and cholestasis // Semin. Liver Dis. — 1987. — Vol. 7. — P. 8–23.
- [30] Schenker S., Martin R.R., Hoyumpa A.M. Antecedent liver disease and drug toxicity // J. Hepatol. — 1999. — Vol. 31. — P. 1098–1105.
- [31] Dansette P.M., Bonnierbale E., Minoletti C. et al. Drug-induced immunotoxicity // Eur. J. Drug. Metab. Pharmacokinet. — 1998. — Vol. 23. — P. 443–451.

## Описание вспышек Вирусных гепатитов (октябрь – декабрь 2010 г.)

С.А. Солонин

*Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова РАМН, Московская область*

### Вспышка гепатита А в Казахстане

По состоянию на 1 ноября 2010 г. в городе Экибастуза (Экибастузский район, Павлодарская область, Казахстан) среди школьников зарегистрировано 19 случаев инфицирования вирусом гепатита А (ВГА): 18 детей – в школе № 11 и 1 ребенок – в школе № 12 [1]. Карантин продлится до 29 ноября 2010 г.

Проведенное эпидемиологическое исследование показало, что источником инфекции стала ученица 7 класса школы № 12, употреблявшая в пищу арбузы. "Девочка из этой школы дружила с ребятами из школы № 11 и поэтому заболела, пока кроме нее случаев заболевания гепатитом в школе №12 не зарегистрировано", – заявила начальник отдела эпиднадзора департамента Госсанэпиднадзора Павлодарской области Зайпа Шадиева. Санитарные врачи будут наблюдать за контактными лицами в течение 35 дней. Все контактные лица получили вакцину против ГА.

Мероприятия, проводимые местными органами здравоохранения, направлены на осуществление экстренной вакцинопрофилактики ГА в очаге инфекции, что позволит снизить интенсивность распространения этой патологии в регионе.

### Вспышка гепатита Е в Великобритании

По состоянию на 22 октября 2010 г. в Cornwall, вирус гепатита Е (ВГЕ) послужил причиной гибели 3 человек, еще более 55 человек инфицированы в Великобритании [2]. Основную часть заболевших составили мужчины среднего и пожилого возраста.

Гастроэнтеролог доктор Harry Dalton – консультант в Королевском госпитале доверия Корнуолла (Royal Cornwall Hospital Trust) отметил, что, несмотря на тщательное эпидемиологическое исследование случаев ГЕ, у заболевших в эпиданамнезе не было установлено фактов выезда в эндемичные регионы или контакта с лицами, прибывшими из этих мест. Он полагает, что основной причиной заболевания послужило употребление недостаточно термически обработанной свинины.

За последние 7 лет в Корнуолле и Девоне (Devon) зарегистрировано около 60 случаев заболевания ВГЕ-инфекцией, из которых 3 закончились летальным исходом. Одним из пострадавших был пятидесятилетний мужчина, инфицированный ВГЕ, умерший в июле 2006 г. Его

жена 63 лет отметила, что ее муж заболел, работая на фабрике по соседству со свинофермой. Врачи не смогли ответить на вопрос, что явилось причиной инфицирования: контакт со свиньями или употребление недостаточно термического обработанного инфицированного мяса свиньи.

Доктор Н. Dalton подчеркнул существование риска инфицирования ВГЕ и необходимость тщательной термической обработки мяса свиньи. Кроме того он считает, что в Великобритании примерно до 1200 людей ежегодно инфицируется ВГЕ. При этом из-за наличия желтухи и отсутствия необходимых диагностических наборов в рутинной лабораторной практике врачи нередко ставят пациентам диагноз алкогольного поражения печени.

### Вспышка гепатита В в штате Северная Каролина, США

В пятницу, 12 ноября 2010 г. официальные представители министерства здравоохранения США заявили о летальной вспышке, вызванной вирусом гепатита В (ВГВ), в центре проживания с предоставлением частичного ухода в округе Вэйн (Wayne County) [3]. Причиной инфицирования послужило использование персоналом клиники приборов для измерения глюкозы в крови (глюкометров) у разных пациентов. Пять пациентов Glen Care of Mount Olive умерли с августа 2010 г. от ГВ, еще трое инфицированы ВГВ. Возраст скончавшихся варьировал от 63 до 83 лет.

Расследование при участии специалистов отдела здравоохранения показало, что у лиц с сахарным диабетом риск инфицирования ВГВ при использовании приборов для исследования глюкозы крови был в 15 раз выше, чем у пациентов без сахарного диабета. Кроме того было отмечено, что персонал клиники использовал глюкометры без указания данных пациентов (Ф.И.О.) и не осуществлял дезинфекцию после их использования.

Персонал клиники отрицает свою вину и заявляет о соблюдении всех санитарно-эпидемиологических правил: использования одноразовых игл и индивидуальных глюкометров, а также дезинфекции приборов после каждого применения.

По сообщению Anne Kornegay, вице-президента Kornegay Healthcare, в чьей собственности находится центр, вспышка ВГВ-

инфекции была вызвана родственниками или посетителями клиники.

В настоящее время источник инфицирования не найден. В клинике проводятся мероприятия по недопущению дальнейшего распространения ВГВ-инфекции: персонал проходит инструктаж по использованию медицинских средств диагностики и его дезинфекции, проводятся лекции для врачей и медицинского персонала. Все пациенты в клинике прошли тестирование на маркеры ВГВ. Лицам, не имеющим проективного уровня антител против ВГВ, проводится вакцинация.

### Вспышка гепатита С в Египте

Растущая угроза распространения вируса гепатита С (ВГС) в Египте – стране, где уже самый высокий уровень заболеваемости ВГС в мире, встревожил исследователей, которые боятся, что потенциальная эпидемия может распространиться в самой густонаселенной арабской стране [4].

Данные, полученные Национальной академией наук США, продемонстрировали, что ежегодно в стране инфицируется более 500 тысяч человек. Основная причина высокой инфицированности населения связана с плохой системой здравоохранения вследствие неудовлетворительного соблюдения противоэпидемических правил.

По сообщению доктора F. De Wolfe Miller, около 7 из каждой тысячи египтян инфицируются ВГС каждый год. «Это высочайший уровень инфицирования для заболевания, передающегося через использование нестерильного медицинского инструментария».

Распространение ВГС-инфекции соответствует показателям инфицирования 70-х годов XX века, когда в дельте Нила местные власти пытались остановить распространение шистосомоза, используя парентеральное введение антимонил-тартрата калия нестерильным инструментарием, вызвавшим распространение ВГС-инфекции по всему Египту. В настоящее время многие обвиняют правительство в том,

что оно не остановило быстрое распространение ВГС-инфекции по всей стране. Египетский Национальный комитет по вирусному гепатиту заявляет, что 9,8% египтян заражены ВГС-инфекцией, тогда как врачи и исследователи утверждают, что настоящее число инфицированных находится в интервале от 15% до 20%.

«Большинство инфицированных ВГС пациентов прибывают из сельских и самых бедных областей Египта и они полагаются на программы медицинского страхования», – заявил доктор L. Wanees – эксперт по ГС. «Стоимость лечения для каждого больного ГС составляет в среднем 70 000 фунтов [12250 \$] и правительство не в состоянии предоставить эту сумму большинству пациентов».

Доктор L. Wanees добавил: «Имеются также подписанные соглашения, между министерством здравоохранения и фармацевтическими компаниями. Многие лекарственные препараты против ВГС-инфекции, произведенные египетскими фармацевтическими фирмами, не прошли клинических испытаний на Западе и оказались неэффективными. Но они все еще выписываются пациентам, и правительство платит миллионы фунтов для их приобретения».

По мнению доктора L. Wanees, инфицирование населения ВГС связано с низкой культурой, безграмотностью и несоблюдением санитарных норм. Многие бедные пациенты, не имеющие страховки, обращаются к суеверным и примитивным методам лечения, не заменяющим медицинскую помощь, что приводит к ухудшению течения ВГС-инфекции.

### Литература

- [1] <http://vesti.kz/society/67941/>
- [2] <http://www.telegraph.co.uk/health/healthnews/8081387/Virus-warning-over-undercooked-pork-after-three-die.html>
- [3] <http://www.wral.com/news/local/story/8616189/>
- [4] <http://latimesblogs.latimes.com/babylonbeyond/2010/11/egypt-hepatitis-c-infection-reaches-alarming-figures.html>

## Рефераты статей

подготовил К.К. Кюрегян

### Фармакодинамика рибавирина, но не PEG-интерферона позволяет прогнозировать отсутствие ответа на противовирусную терапию у пациентов с хроническим гепатитом С, ранее не получавших терапию

Ribavirin rather than PEG-interferon pharmacodynamics predict nonresponse to antiviral therapy in naive chronic hepatitis C patients

Van Vlerken LG, Huisman EJ, Van Soest H. et al.

J Viral Hepat. 2010 Nov 29.

У 20–59% пациентов с хроническим гепатитом С (ХГС) отсутствует ответ на противовирусную терапию, что частично может быть обусловлено фармакодинамикой рибавирина или PEG-интерферона. Авторы анализировали потенциальное влияние разных факторов на отсутствие ответа на терапию у 242, ранее не леченных пациентов с ХГС, получавших 24 недели PEG-интерферон альфа-2b и рибавирин. Из них: 53% были инфицированы вирусом ГС (ВГС) генотипов 1–4, 71% имели высокую вирусную нагрузку и 32% — тяжелый фиброз/цирроз. После 24 недель терапии 39 (16%) пациентов не ответили на лечение. Многофакторный анализ показал, что более низкие концентрации рибавирина в сыворотке крови, генотипы ВГС 1–4 и более высокие исходные уровни ГТТП были связаны с отсутствием ответа на терапию. Концентрации рибавирина на 24 неделе (2,2 мг/л против 2,8 мг/л,  $p < 0,001$ ), средние дозы рибавирина (14,5 мг/кг против 15,2 мг/кг в день,  $p = 0,03$ ) и снижение гемоглобина на неделю 24 (1,7 г/л против 2,0 г/л,  $p = 0,02$ ) были меньше у не ответивших на терапию. Частота отсутствия ответа возрастала при снижении концентрации рибавирина: 4%, 11%, 13% и 36% при концентрациях рибавирина в сыворотках крови  $\geq 4$  мг/л, 3–4 мг/л, 2–3 мг/л и  $\leq 2$  мг/л соответственно ( $p = 0,001$ ). Концентрации рибавирина коррелировали со снижением рибавирина в неделю ( $r = 0,42$ ;  $p < 0,001$ ) и дозами рибавирина ( $r = 0,17$ ;  $p = 0,01$ ). Анализ, проведенный в подгруппе пациентов с генотипом 1–4, дал те же результаты. Отсутствие ответа было редким при генотипе 2–3 ВГС и было ассоциировано с концентрациями рибавирина  $< 2$  мг/л. Предполагаемые факторы, ассоциированные с интерфероном (средние дозы PEG-интерферона и снижение уровней лейкоцитов, гранулоцитов, тромбоцитов).

**Заключение:** ассоциированные с рибавирином, а не с PEG-интерфероном факторы явля-

ются независимыми и потенциально управляемыми прогностическими факторами отсутствия ответа у пациентов с ХГС, ранее не получавших терапию.

### Комбинированная противовирусная терапия гепатита С у пациентов на диализе: мета-анализ клинических испытаний

Combined antiviral therapy of hepatitis C virus in dialysis patients: meta-analysis of clinical trials

Fabrizi F, Dixit V, Martin P, Messa P.

J Viral Hepat. 2010 Nov 25.

Эффективность и безопасность комбинированной терапии интерфероном (ИФН) и рибавирином у пациентов с хроническим гепатитом С (ХГС), находящихся на диализе, неизвестна. Авторы провели системный мета-анализ опубликованных результатов клинических испытаний комбинированной терапии обычным или пегилированным ИФН и рибавирином среди таких пациентов. В качестве первичного исхода рассматривали устойчивый вирусологический ответ (УВО), как показатель эффективности; вторичным показателем являлась частота прекращения терапии (показатель переносимости). Для анализа гетерогенности и чувствительности использовали случайную модель влияний по Der Simonian и Laird. В анализ были включены 10 клинических исследований (151 пациент), одно (10%) из которых являлось контролируемым клиническим исследованием. Большинство (97,4%) пациентов были на программном гемодиализе. Средние показатели УВО и прекращения терапии составляли 56% [95% доверительный интервал (95% CI) 28–84] и 25% (95% CI, 10–40) соответственно. Основными побочными эффектами, приводившими к прекращению терапии, являлись анемия (26%) и сердечная недостаточность (9%). Данные результаты были получены независимо от типа интерферона (стандартный или пегилированный ИФН, пегилированный ИФН альфа-2a или альфа-2b), дизайна исследований (контролируемое или когортное), или клинических характеристик пациентов (не получавшие ранее терапию, не ответившие или с рецидивом после терапии). Исследования были гетерогенными относительно УВО и частоты отмены терапии.

**Заключение:** комбинированная противовирусная терапия (интерферон и рибавирин) у паци-

ентов на диализе дает благоприятные результаты с точки зрения эффективности и безопасности, даже если данный мета-анализ не позволяет сделать окончательные выводы из-за небольшого числа наблюдавшихся пациентов.

### **Вспышка гепатита В, ассоциированная с высокой смертностью, в Индии: связь с мутациями в участках вирусного генома *pre-core* и основного промотора *core*, и недостаточной стерилизацией шприцев**

An outbreak of hepatitis B with high mortality in India: association with *pre-core*, basal core promoter mutants and improperly sterilized syringes

*Arankalle VA, Gandhi S, Lole KS. et al.*

J Viral Hepat. 2010 Nov 26.

В 2009 г. в районе Сабакханта (штат Гуярат, Индия) была зарегистрирована вспышка гепатита В, сопровождавшаяся высокой смертностью (456 заболевших и 89 погибших). Обследовали госпитализированных пациентов с самопрекратившимся заболеванием (152, ОБГ) и фульминантным гепатитом (39 ФГ, включая 27 погибших и 12 выживших). Пациентов обследовали на маркеры вирусов гепатита, определяли генотип ВГВ и мутации в геноме ВГВ. Определяли последовательность полного генома ВГВ, выделенного от 22 пациентов с ФГ и 17 - с ОБГ. Серологические исследования проводили в наиболее и наименее пострадавших кварталах для определения распространенности ВГВ и выявления мутантных форм вируса. Случаи ФГ и ОБГ были связаны с инъекциями, проводившимися терапевтом. Ко-инфекция другими вирусами гепатита или высокая вирусная нагрузка не были связаны со смертностью пациентов. В четырех кварталах были выявлены 85,7% (391/456) всех случаев заболевания и 95,5% (85/89) всех случаев гибели пациентов, тогда как в двух остальных кварталах смертность была минимальной. Анализ вирусных последовательностей показал наличие мутаций в участках *pre-core* и основного промотора *core*, а также 4 аминокислотных замены исключительно в случаях ФГ. Ни у одного из пациентов с самопрекращающимся гепатитом не были выявлены эти двойные мутации. Преобладал генотип D, субгенотип D1 выявляли во всех случаях ФГ, тогда как субгенотип D2 преобладал у пациентов с ОБГ. Распространенность ВГВ до вспышки была выше в пострадавших кварталах, вероятно, вследствие нарушения правил инфекционной безопасности медицинским персоналом.

**Заключение:** массовое и продолжительное использование приспособлений для инъекций,

контаминированных ВГВ (мутантным и вирусом «дикого» типа), привело к взрывной вспышке с высокой смертностью, ассоциированной, по-видимому, с мутантами *pre-C/VCP* и генотипом D1.

### **Естественная вариабельность лекарственной восприимчивости к ингибиторам полимеразы ВГС у вирусных изолятов, выделенных от пациентов, ранее не получавших терапию**

Natural variation in drug susceptibility to HCV polymerase inhibitors in treatment-naïve HCV patient isolates

*Sun SC, Bae A, Qi X. et al.*

J Viral Hepat. 2010 Nov 25.

Авторы определяли естественную изменчивость лекарственной восприимчивости изолятов ВГС, выделенных от не получавших ранее терапию пациентов. Для этого анализировали чувствительность химерных репликонов, несущих полимеразу NS5B изолятов ВГС от 51 пациентов, относительно трех нуклеозидных ингибиторов полимеразы ВГС. Отмечали некоторые различия в чувствительности разных изолятов к трем нуклеозидным ингибиторам полимеразы. Линейный регрессионный и корреляционный анализ показали отсутствие корреляции между уровнями чувствительности к тестируемым ингибиторам полимеразы.

**Заключение:** полученные результаты указывают на существование вариабельности антивирусного ответа на нуклеозидные ингибиторы полимеразы ВГС вследствие естественной вариабельности исходной восприимчивости. Кроме того, отсутствие корреляции между чувствительностью к трем классам ингибиторов полимеразы ВГС позволяет предполагать эффективность комбинированного использования препаратов при терапии.

### **Полиморфизм интерлейкина-28В связан с исчезновением ВГС и вирусной нагрузкой у пациентов с ВИЧ-1**

Interleukin-28B polymorphisms are associated with hepatitis C virus clearance and viral load in a HIV-1-infected cohort

*Clausen LN, Weis N, Astvad K. et al.*

J Viral Hepat. 2010 Nov 12.

У 25% инфицированных ВГС лиц происходит спонтанная элиминация вируса. Считается, что на исход инфекции влияют генетические факторы организма. Авторы анализировали полиморфизм отдельных нуклеотидов (SNP) в эк-

зоне, промотере и интроне гена интерферон- $\lambda 3$  кодирующего интерлейкина 28В (IL-28В) для выявления взаимосвязи между SNP IL28В и исходом ВГС-инфекции. Среди 206 инфицированных ВИЧ-1 европейцев с присутствием ВГС-инфекции у 47 (23%) отмечали элиминацию ВГС, а у 159 (77%) - развитие хронической инфекции. Генотипы rs8103142 СТ в экзоне, rs12979860 СТ - в промотере и rs11881222 АГ - в интроне были ассоциированы со сниженной частотой элиминации ВГС, при этом адаптированное соотношение рисков (аOR) составило 0,3 (95% CI, 0,1-0,7), 0,4 (95% CI, 0,2-0,8) и 0,4 (95% CI, 0,2-0,8) соответственно. Блок гаплотипа TCG СТА был связан со снижением частоты элиминации ВГС (аOR 0,4, 95% CI, 0,2-0,8). Также было установлено значимое различие в уровнях РНК ВГС у лиц с хронической инфекцией ВГС 1 генотипа при rs8103142 ( $p \leq 0,05$ ). У пациентов с хронической инфекцией ВГС генотипа 3 и rs12979860 и с благоприятным гаплотипом СТА отмечали более высокие средние уровни РНК ВГС ( $p \leq 0,05$ ) по сравнению с лицами без благоприятного гаплотипа.

**Заключение:** полученные данные свидетельствуют о влиянии IL28В на различия в исходе ВГС-инфекции. Однако, по-видимому, другие факторы (генотип ВГС, другие факторы организма и взаимодействия между вирусом и организмом) определяют исход ВГС-инфекции.

### **Прогностическая значимость полиморфизма IL28В при интерферонотерапии хронического гепатита С, вызванного генотипами 2а и 2b ВГС**

Predictive value of the IL28В polymorphism on the effect of interferon therapy in chronic hepatitis C patients with genotypes 2a and 2b

*Kawaoka T, Hayes CN, Ohishi W. et al.*

J Hepatol. 2010 Sep 19.

Ранее сообщалось, что распространенный полиморфизм локуса IL28В (SNPs rs8099917 и rs12979860) может влиять на результат комбинированной терапии пегилированным интерфероном и рибавирином (PEG + RBV) при ВГС генотипа 1b, однако данные о наличии такого влияния при других распространенных генотипах ВГС (2а и 2b) ограничены. Авторы анализировали прогностические факторы устойчивого вирусологического ответа (УВО) при ретроспективном анализе 719 пациентов с генотипами ВГС 2а (530) и 2b (189). Среди данных пациентов 160 получали PEG + RBV и 559 - монотерапию интерфероном. В качестве прогностических факторов анализировали: РНК ВГС, гистологические данные, генотипы SNP IL28В (rs8099917, rs12979860 и rs12980275), влияние схемы лечения

и предыдущую терапию. Вирусная нагрузка ВГС, схема лечения и генотипы rs8099917 независимо влияли на результат терапии. Среди пациентов, получавших PEG-RBV, rs8099917 и вирусная нагрузка являлись независимыми факторами УВО при генотипе 2b, но не при генотипе 2а ВГС. И, наоборот, у пациентов, получавших монотерапию интерфероном, вирусная нагрузка и rs8099917 являлись независимыми прогностическими факторами УВО при генотипе 2а, но не при генотипе 2b ВГС. Благоприятный генотип rs8099917 также оказался связан с сильным снижением вирусной нагрузки на второй неделе терапии.

**Заключение:** исходный уровень вирусной нагрузки и генотип rs8099917 являются достоверными независимыми прогностическими факторами УВО у пациентов с генотипом 2 ВГС.

### **Значение полиморфизма гена IL28В при ВГС-инфекции генотипов 2 и 3**

Importance of IL28В gene polymorphisms in hepatitis C virus genotype 2 and 3 infected patients

*Sarrazin C, Susser S, Doehring A. et al.*

J Hepatol. 2010 Sep 22.

Ранее было показано влияние генетической изменчивости гена интерлейкина 28В (IL 28В) на ответ на терапию интерфероном-альфа/рибавирином у пациентов с генотипом 1 ВГС. Авторы анализировали влияние трех замен в гене IL28В (rs8099917, rs12980275 и rs12979860) у 267 пациентов с генотипами 2/3 ВГС на устойчивый вирусологический ответ (УВО) на комбинированную терапию пегилированным интерфероном-альфа и рибавирином. В качестве группы сравнения наблюдали пациентов с геномом 1 ВГС (n=378) и здоровых лиц (n=200). Генотип rs12979860 СС, меньший возраст и генотип 2 были достоверно ассоциированы с УВО среди пациентов с генотипами 2/3 ВГС ( $p=0,01$ ,  $p=0,03$  и  $p=0,03$  соответственно). Для вариантов rs8099917 и rs12980275 такая связь отмечена не была. Кроме того, УВО у пациентов с быстрым вирусологическим ответом (БВО) был связан с генотипом rs12979860 СС ( $p=0,05$ ), тогда как у пациентов без БВО такая связь отсутствовала. Была отмечена достоверная связь всех трех генотипов IL28В с более высокой исходной вирусной нагрузкой у пациентов с генотипами 1/2/3 ВГС. Повышенную частоту выявления генотипов rs12979860 СС отмечали у пациентов с ВГС генотипов 1 (33,9%), 3 (38,9%) и 2 (51,9%) по сравнению со здоровыми лицами (49,0%;  $p < 0,01$ ). Заключение: у пациентов с генотипами 2/3 ВГС генотип rs12979860 был достоверно ассоциирован с УВО. Распространенность генотипа rs12979860 СС ниже при генотипе ВГС 1 по сравнению с пациентами с



генотипами 2/3. Все основные генотипы IL28B связаны с концентрацией РНК ВГС.

**Европейские испытания теста enzygnost HBsAg 6.0: способность выявлять разные варианты HBsAg**  
European collaborative evaluation of the enzygnost HBsAg 6.0 assay: Performance on hepatitis B virus surface antigen variants

*Avellón A, Echevarría JM, Weber B. et al.*

*J Med Virol. 2011 Jan;83(1):95–100.*

Аминокислотные замены в основной антигенной детерминанте HBsAg могут влиять на антигенные свойства белка и оказывать влияние на чувствительность диагностических тестов. Однако соответствующие модификации теста могут повышать способность теста выявлять мутантные формы ВГВ. В двух коммерческих тест-системах (Enzygnost® HBsAg 5.0 и 6.0, Siemens Healthcare Diagnostics Products, Marburg, Germany) тестировали 147 клинических образцов, содержащих варианты HBsAg, и 54 образца супернатанта клеток, экспрессирующих рекомбинантные мутантные формы HBsAg. Второй тест продемонстрировал значительное повышение чувствительности по сравнению с первым на основании сравнения средних и индивидуальных значений отсекающей, а также выявления вариантов, несущих аминокислотные замены в 120 и 145 позициях HBsAg, для которых первый тест дал отрицательный результат.

**Заключение:** полученные результаты показали, что вследствие модификации значительно возрастает способность теста выявлять мутантные формы HBsAg. При рутинном использовании такого теста в диагностических лабораториях и центрах переливания крови сложности при выявлении вариантов ВГВ должны отсутствовать.

**Кинетика HBsAg различается при терапии пегилированным интерфероном и энтекавиром**  
Kinetics of hepatitis B surface antigen differ between treatment with peginterferon and entecavir

*Reijnders JG, Rijckborst V, Sonneveld MJ. et al.*

*J Hepatol. 2010 Nov 5.*

Авторы анализировали сывороточные уровни HBsAg у пациентов с хронической ВГВ-инфекцией, получавших монотерапию пегилированным интерфероном (PEG-IFN) или энтекавиром (ETV). Количественное определение HBsAg проводили в тесте Abbott ARCHITECT до и во время антивирусной терапии (недели 12,

24, 36, 48) у HBeAg-положительных пациентов, получавших ETV (n=33) или PEG-IFN (n=61) и у HBeAg-негативных пациентов, получавших ETV (n=37) или PEG-IFN (n=69). Среди HBeAg-положительных пациентов при терапии PEG-IFN отмечено более выраженное снижение уровней HBsAg по сравнению с пациентами, получавшими ETV (среднее снижение – 0,94 log ME/мл против 0,38 log ME/мл в неделю, p=0,07). Снижение уровней HBsAg было более выраженным у пациентов с последующей сероконверсией по HBeAg, независимо от вида терапии. Снижение HBsAg было характерным для получавших ETV пациентов с повышенными исходными уровнями АЛТ, тогда как у пациентов, получавших PEG-IFN, снижение HBsAg не было связано с исходными уровнями АЛТ. Среди HBeAg-отрицательных пациентов, терапия PEG-IFN вызвала значительное снижение уровней HBsAg, тогда как среди пациентов, получавших ETV, уровни HBsAg не снижались (0,56 log ME/мл против 0,10 log ME/мл, p<0,001). Независимо от статуса по HBeAg, снижение сывороточных уровней ДНК ВГВ было большим у пациентов, получавших ETV, по сравнению с пациентами, получавшими PEG-IFN.

**Заключение:** у HBeAg-положительных пациентов снижение сывороточных уровней HBsAg в основном отмечается у больных с последующей сероконверсией по HBeAg, независимо от вида терапии (PEG-IFN или ETV). У HBeAg-отрицательных пациентов терапия PEG-IFN приводит к значительному снижению уровней HBsAg, тогда как у пациентов, получающих ETV, уровни HBsAg не снижаются.

**Результат терапии у инфицированных генотипом 1b ВГС пациентов с частичным ранним вирусологическим ответом на комбинированную терапию пегилированным интерфероном и рибавирином**

Outcome in partial early virologic responders to combination therapy with peginterferon and ribavirin in patients infected with hepatitis C virus genotype 1b

*Toyoda H, Kumada T, Kiriya S. et al.*

*J Med Virol. 2011 Jan;83(1):101-107.*

Течение и результат терапии у пациентов с генотипом 1b ВГС с частичным ранним вирусологическим ответом (РВО) во время комбинированной терапии пегилированным интерфероном и рибавирином, у которых РНК ВГС в сыворотке крови выявляется, но снизилась более 2 log (10) через 12 недель после начала терапии, не изучены. Уровни РНК ВГС в сыворотке крови определяли каждые 4 недели у 149 пациентов с

генотипом 1b ВГС, получавших комбинированную терапию в течение 48 недель. У пациентов с частичным РВО определяли сроки исчезновения РНК ВГС в сыворотке крови, а также конечный вирусологический ответ. У 63 пациентов (42,3%) отмечали частичный РВО. Сроки исчезновения РНК ВГС в сыворотке крови варьировали от 16 нед. до 48 нед. после начала терапии. РНК ВГС продолжала выявляться у 17 пациентов. Частота устойчивого вирусологического ответа (УВО) снижалась пропорционально увеличению срока исчезновения РНК ВГС в сыворотке крови; УВО не наблюдали у пациентов, у которых РНК ВГС присутствовала в сыворотке крови через 24 нед. после начала терапии. Степень снижения уровней РНК ВГС в сыворотке крови в неделю при 12-и недельной терапии коррелировала с частотой УВО у пациентов с частичным РВО.

**Заключение:** результат терапии у пациентов с частичным РВО варьирует значительно; для его прогноза у таких пациентов требуется тщательный мониторинг РНК ВГС в сыворотке крови.

### **Анализ методом «случай-контроль» независимой связи развития гепатоцеллюлярной карциномы с наличием мутаций в участках preS и промотора core генома ВГВ**

A matched case-control study of hepatitis B virus mutations in the preS and core promoter regions associated independently with hepatocellular carcinoma

*Liu S, Xie J, Yin J. et al.*

J Med Virol. 2011 Jan;83(1):45-53.

Авторы проводили поиск связи между мутациями в геноме ВГВ с развитием ГЦК с учетом прочих мутаций в участках preS и промотор core генотипов ВГВ В и С. В контролируемом по возрасту и полу исследовании по системе «случай-контроль» участвовали 140 инфицированных ВГВ пациентов с ГЦК и 280 инфицированных ВГВ пациентов без ГЦК, для которых были известны генотип ВГВ и нуклеотидные последовательности обоих участков вирусного генома. Для поиска факторов, связанных с риском развития ГЦК, применяли унивариантный и двухшаговый регрессионный анализ. Из 39 анализированных мутаций, 23 при генотипе С и 6 — при генотипе В были связаны с повышенным риском развития ГЦК по данным унивариантного анализа. Многофакторный анализ показал, что генотип С (адаптированное соотношение рисков [AOR] = 3,3; 95% доверительный интервал [CI] = 1,1–9,8), вирусная нагрузка ( $\geq 10^4$  копий/мл) (AOR = 2,4; 95% CI = 1,0–5,8), A2962G (AOR = 18,7; 95% CI = 7,5–46,7), мутация старт-

кодона в preS2 (AOR = 12,5; 95% CI = 3,4–45,5), C105T (AOR = 0,1; 95% CI = 0,0–0,2), T1753V (AOR = 3,1; 95% CI = 1,1–9,2) и A1762T/G1764A (AOR = 2,9; 95% CI = 1,1–7,3) являлись независимыми факторами, связанными с ГЦК (независимо от других факторов, в том числе других мутаций в обоих участках вирусного генома). Программа расчета частоты гаплотипа показала, что частота гаплотипа 105С и 2962G достоверно выше у пациентов с ГЦК по сравнению с пациентами без ГЦК. Частота гаплотипа 2962G-preS2 старт-кодон дикого типа-105С-1762Т/1764А составила 47,9% у пациентов с ГЦК и 4,3% — у пациентов без ГЦК.

**Заключение:** A2962G и T105С являются новыми факторами, связанными с развитием ГЦК. Необходимы дальнейшие проспективные исследования для подтверждения роли этих мутаций в развитии ГЦК.

### **Реактивация вируса Эпштейна-Барр в В-клетках у пациентов с хроническим гепатитом С**

Reactivation of Epstein-Barr virus in B cells of patients with chronic hepatitis C

*Shimozuma Y, Ito T, Inokuchi M. et al.*

J Med Virol. 2010 Dec;82(12):2064-2071.

ВГС-инфекция связана с развитием лимфопролиферативных нарушений. ВГС-инфекция В-клеток является прогностическим фактором развития лимфопролиферативных нарушений у пациентов с хроническим гепатитом С (ХГС), хотя молекулярные механизмы этого явления неизвестны. Вирус Эпштейна-Барр (EBV) является тропным В-клеткам вирусом и способен вызывать лимфопролиферативные нарушения, его реактивация вызывается некоторыми вирусами и цитокинами. Авторы изучали возможность реактивации EBV в результате ВГС-инфекции и связанные с этим лимфопролиферативные нарушения. Экспрессию мРНК EBV анализировали методом ОТ-ПЦР у пациентов с ВГС-инфекцией и в группе сравнения. Оценивали степень корреляции между реактивацией EBV и маркерами лимфопролиферативных нарушений. мРНК BZLF1, первичный маркер реактивации, была выявлена в моноцитах периферической крови у 12/52 (23%) пациентов с ВГС, чаще, чем среди здоровых лиц из группы сравнения — 3/43 (9%),  $p=0,032$ ). Однако наличие мРНК BZLF1 не было связано с присутствием маркеров лимфопролиферативных нарушений. Изучение экспрессии мРНК BZLF1 в подгруппах лимфоидных клеток показало, что реактивация EBV наблюдается именно в В-клетках. мРНК BZLF1 исчезает в результате антивирусной терапии и не появляется вновь после элиминации ВГС у пациентов с устойчивым

вирусологическим ответом, тогда как РНК EBV, маркер персистенции EBV, продолжает выявляться на протяжении терапии.

**Заключение:** инфицирование ВГС приводит к реактивации EBV в В-клетках, однако эта реактивация не связана напрямую с лимфолиферативными нарушениями, запускаемыми ВГС.

### **Варианты гена толл-подобного рецептора 7 rs179008/Gln11Leu у пациентов с хронической ВГС-инфекцией**

Toll-like receptor 7 rs179008/Gln11Leu gene variants in chronic hepatitis C virus infection

*Askar E, Ramadori G, Mihm S.*

*J Med Virol.* 2010 Nov;82(11):1859-1868.

ВГС поражает примерно 3% населения Земли. Естественный исход инфекции и ее течение значительно варьируют. Активация вирусной одноцепочечной РНК (оцРНК) толл-подобным рецептором 7 (TLR7), по-видимому, связана с ранним выявлением патогена и ответом организма на вирусную инфекцию. Авторы анализировали эпидемиологические и клинические данные 136 пациентов с ВГС-инфекцией с учетом наличия несинонимического полиморфизма экзона 3 в X-связанном гене TLR7 (rs179008/Gln11Leu), аллели, предположительно кодирующей функционально ослабленный белок. Количественный анализ аллель-специфичного транскрипта у гетерозиготных женщин показал наличие мозаичности в моноядерных клетках периферической крови (МНПК). Поэтому анализ был ограничен гомо- и гетерозиготными пациентами. Среди анализированных клинических и гистологических параметров, вариант аллели Т был единственным фактором, связанным с присутствием портальных лимфоидных агрегатов. Хотя различия уровней вирусной нагрузки в печени и экспрессии генов, для которых установлена индукция при хронической ВГС-инфекции, отсутствовали у пациентов с генотипом дикого типа и вариантом TLR7 rs179008, у Т гомо- и гетерозиготных пациентов были выявлены достоверно более низкие уровни экспрессии гена рецептора интерлейкина-29 (IL-29)/лямбда, интерферона (IFN-λ) и его субъединиц.

**Заключение:** независимо от незначительных различий в фенотипе заболевания, включая вирусную нагрузку в печени, естественный и модулированный интерферон альфа (IFN-α), исход инфекции, активность и прогрессирование заболевания, значительные различия в экспрессии гена печеночного рецептора IL-29/IFN-λ(1) и IFN-λ у пациентов с аллелями TLR7 rs179008 Т и А могут обуславливать ответ на последующую терапию IFN-λ.

### **Клиническая характеристика гепатита E в «неэндемичной» популяции**

Clinical characteristics of hepatitis E in a "Non-Endemic" population

*Turner J, Godkin A, Neville P. et al.*

*J Med Virol.* 2010 Nov;82(11):1899-1902.

ВГЕ является РНК-содержащим вирусом с преимущественно фекально-оральным механизмом передачи. Традиционно в странах Западной Европы ВГЕ-инфекция ассоциируется с поездками в эндемичные регионы, однако в Англии регистрируется все больше завозных случаев инфекции. Авторы проводили мониторинг пациентов с завозной острой ВГЕ-инфекцией, выявленных в Южном Уэльсе в 25-и месячный период, с целью характеристики клинической картины и эпидемиологии заболевания в данной группе пациентов. Были выявлены и проспективно наблюдались 24 пациента с завозной ВГЕ-инфекцией. Соотношение мужчин/женщин составило 3:1, средний возраст пациентов – 65,5 лет. У пациентов наблюдали выраженный желтушный гепатит (средний пик билирубина 139 мкмоль/л, АСТ – 1,973 МЕ/л и АЛТ – 2,021 МЕ/л), нормализация функции печени происходила в среднем через 7 недель. У всех пациентов, позитивных по РНК ВГЕ, был определен 3 генотип вируса. 46% пациентов были госпитализированы в зимние месяцы. Смертность составила 4,2%, что сходно с показателями в эндемичных странах.

**Заключение:** ВГЕ приводит к развитию тяжелого и иногда смертельного заболевания. В настоящее время тестирование на ВГЕ рекомендовано для всех пациентов с острым гепатитом неясной этиологии.

### **ВГС в мононуклеарных клетках периферической крови присутствует преимущественно на поверхности клеток у пациентов с коинфекцией ВИЧ/ВГС**

HCV in peripheral blood mononuclear cells are predominantly carried on the surface of cells in HIV/HCV co-infected individuals

*Natarajan V, Kotttilil S, Hazen A. et al.*

*J Med Virol.* 2010 Dec;82(12):2032-2037.

Предполагается, что резервуары внепеченочной репликации ВГС присутствуют во многих тканях, в том числе в мононуклеарах периферической крови (МНПК). Последние исследования продемонстрировали компартиментализацию и эволюцию ВГС в МНПК. Однако клетки, поддерживающие репликацию ВГС в МНПК, до сих пор не обнаружены. Авторы

фракционировали МНПК от пациентов с ко-инфекцией ВИЧ/ВГС на Т-клетки, моноциты, В- и НК-клетки, и в большинстве случаев ВГС был локализован во фракции CD3-клеток. Обработка МНПК протеазой для удаления поверхностных рецепторов клеток приводило к исчезновению РНК ВГС, что указывает на то, что большинство частиц ВГС присутствует на поверхности клеток. МНПК были подвергнуты замораживанию/оттаиванию в присутствии нуклеаз, что способствует разрушению вирусной РНК внутри клетки, но не влияет на РНК ВГС внутри вирусной частицы. Полученные результаты подтвердили вывод о присутствии ВГС на поверхности клетки. Даже, несмотря на то, что присутствие минус-цепи РНК ВГС в МНПК указывает на наличие низкого уровня репликации ВГС в МНПК, ВГС в МНПК преимущественно присутствует на поверхности не-Т клеток, а в основном НК-клеток, В-клеток и моноцитов.

**Заключение:** полученные результаты указывают на особую роль НК-клеток, В-клеток и моноцитов как переносчиков ВГС.

### **Снижение инфицированности ВГВ, наблюдаемое через 11 лет после начала региональной программы вакцинации наркоманов в Дании**

Decline in hepatitis B infection observed after 11 years of regional vaccination among Danish drug users

*Mössner BK, Skamling M, Jørgensen TR. et al.*

J Med Virol. 2010 Oct;82(10):1635-1639.

Авторы определяли текущую распространенность вирусных гепатитов и ВИЧ среди наркоманов и сравнивали данные с полученными ранее показателями в этом же регионе. Кросс-секционные исследования среди наркоманов в реабилитационных центрах проводились на острове Фьюнен (примерно 500000 жителей) в 1996 г. и 2007 г. В 2007 г. частота выявления маркеров инфицирования ВГВ составила: анти-НВс - 50,2%, НВsAg - 0,9%, анти-ВГС - 66,8%, РНК ВГС - 40% и анти-ВИЧ - 1,1%. В 1996 г. соответствующие показатели составляли: анти-НВс - 70% ( $p < 0,0001$ ), НВsAg - 9,8% ( $p < 0,0001$ ), анти-ВГС - 82,8% ( $p < 0,0001$ ), РНК ВГС - 56,3% ( $p = 0,002$ ) и анти-ВИЧ - 1% ( $p = 1$ ). В 2007 г. распространенность вирусных гепатитов снизилась за счет увеличения доли неинъекционных наркоманов в общей популяции наркоманов. Среди инъекционных наркоманов распространенность вирусных гепатитов не изменилась, за исключением значительного снижения частоты выявления НВsAg. В 2007 г. распространенность текущей ВГВ-инфекции (доля лиц с НВsAg/анти-НВс) была наименьшей из зарегистрирован-

ных среди наркоманов. Охват вакцинацией среди восприимчивых лиц в 2007 г. составил 24%, по сравнению с 0,7% - в 1996 г. Таким образом, несмотря на отсутствие изменений в частоте выявления анти-НВс среди инъекционных наркоманов, за последнее десятилетие произошло значительное снижение распространенности НВsAg. Данное наблюдение может быть связано с увеличением охвата вакцинацией против гепатита В среди восприимчивых лиц.

**Заключение:** полученные данные свидетельствуют о том, что даже неполная вакцинация при отсутствии протективных уровней анти-НВс может вызывать иммунную память, защищающую от развития хронической инфекции после заражения.

### **Профиль делеций в pre-S при течении хронической ВГВ-инфекции**

Profile of pre-S deletions in the natural history of chronic hepatitis B infection

*Yeung P, Wong DK, Lai CL. et al.*

J Med Virol. 2010 Nov;82(11):1843-1849.

Ранее было сделано предположение о том, что делеции в участке pre-S генома ВГВ могут играть роль в гепатокарциногенезе. Авторы анализировали распространенность делеций в pre-S у пациентов с хроническим гепатитом В (ХГВ) в Гонконге; факторы, связанные с этими делециями и их связь с сероконверсией по НВeAg. Делеции в pre-S выявляли методом определения нуклеотидной последовательности ВГВ у 178 пациентов с ХГВ (кросс-секционное исследование). Для 84 пациентов были получены парные образцы до и после сероконверсии по НВeAg. Распространенность делеций в pre-S составила 12,9% (23/178). Большинство делеций в pre-S (73,9%) присутствовали в 5' конце участка pre-S2, тогда как делеции в участке pre-S1 встречались реже (47,8%). Взаимосвязь между возрастом пациента и делециями в pre-S отсутствовала. Независимыми факторами, связанными с делециями в pre-S, являлись мужской пол (соотношение рисков (OR) = 10,88; 95% доверительный интервал (CI) = 1,37-86,52;  $p = 0,024$ ) и генотип С ВГВ (OR = 13,85; 95% CI = 3,05-62,92;  $p = 0,001$ ). Делеции в pre-S были выявлены только у 17 из 84 пациентов, для которых анализировали парные образцы до и после сероконверсии по НВeAg. Профили делеций в pre-S до и после сероконверсии по НВeAg варьировали. По сравнению с генотипом В, генотип С ВГВ был ассоциирован с более ранним появлением делеций в pre-S.

**Заключение:** у 12,9% пациентов с ХГВ, проживающих в эндемичном по гепатиту В регионе, присутствовали делеции в pre-S (преимущественно делеции в pre-S2). Мужской пол и

генотип С ВГВ являются независимыми факторами, связанными с появлением делеций в pre-S. Четкая взаимосвязь между сероконверсией по HBeAg и делециями в pre-S не выявлена.

### **Пептидный мимитоп белка E2 ВГС является иммуногенным для мышей и связывается анти-ВГС сывороткой человека**

A peptide mimotope of hepatitis C virus E2 protein is immunogenic in mice and block human anti-HCV sera

*El-Attar LM, Partidos CD, Howard CR.*

J Med Virol. 2010 Oct;82(10):1655-1665.

Конформационные В-клеточные эпитопы белка E2 ВГС, распознаваемые антителами человека, характеризовали с помощью пептидного мимитопа, названного K1. K1 распознавался двумя моноклональными антителами (mAb) анти-E2 ВГС (mAbs) после отбора и очистки клонов фага, несущих случайную 15-аминокислотную пептидную вставку. Мышиная антисыворотка к мимитопу K1 распознавала белок E2. Пять из восьми образцов сыворотки крови от пациентов с перенесенной ВГС-инфекцией распознавали мимитоп K1. Связывание с E2, приводящее к блокированию взаимодействия E2-CD81 ингибировалось мимитопом K1. Полученные результаты показали, что анти-E2 в сыворотке крови пациентов, элиминировавших ВГС, направлены против конформационного В-клеточного эпитопа E2, который может имитироваться линейными синтетическими пептидами.

**Заключение:** полученные данные имеют значение для создания вакцины, основанной на использовании линейных мимитопов, целью которой является выработка В-клеточного ответа против специфичных эпитопов E2, коррелирующего с иммунитетом к ВГС.

### **Учим старого врага новым трюкам: адаптация ВГС к инфицированию мышей**

Teaching new tricks to an old foe: murinizing hepatitis C virus

*Gerold G, Rice CM, Ploss A.*

Hepatology. 2010 Dec;52(6):2233-6. doi: 10.1002/hep.24045.

ВГС способен инфицировать только человека и шимпанзе. Определяющие такой узкий спектр хозяев детерминанты до сих пор не установлены. В проникновении вируса в клетку участвуют человеческий скавенджер рецептор класса В первого типа (SR-BI), CD81, клаудин-1 и окклюдин. Из них, как минимум CD81 и окклюдин об-

ладают высокой видоспецифичностью, что определяет, по-видимому, вклад в узкий спектр хозяев ВГС. Авторы адаптировали ВГС к CD81 мышей и выявили три мутации в поверхностном гликопротеине, совместно усиливающие примерно в 100 раз инфицирование клеток, несущих рецепторы мыши или других грызунов. Эти мутации усиливают взаимодействие с CD81 человека и увеличивают экспозицию связывающегося с CD81 сайта, расположенного на поверхности вирусной частицы. Данные изменения сопровождаются усилением восприимчивости адаптированного ВГС к нейтрализации E2-специфичными антителами, что указывает на значительные конформационные изменения в комплексе E1/E2. Нейтрализация CD81, SR-BI- и клаудин-1-специфичными антителами и выключение экспрессии окклюдина с помощью siRNA указывает на то, что адаптированный вирус остается зависимым от этих факторов хозяина, но, по-видимому, использует CD81, SR-BI и окклюдин с повышенной эффективностью. Важно, что адаптированные комплексы E1/E2 способствуют проникновению ВГС в клетки мыши при отсутствии человеческих факторов проникновения.

**Заключение:** полученные результаты расширяют знания о взаимодействии ВГС с клеточными рецепторами и указывают на то, что трех мутаций в гликопротеине достаточно для преодоления видового барьера при проникновении ВГС в клетки мыши. Кроме того, использование этих данных будет способствовать развитию модели ВГС-инфекции в мелких иммунокомпетентных животных.

### **Гипервариабельный участок 1 ВГС избирательно влияет на жизнеспособность штаммов генотипов 1-6 и ослабляет нейтрализацию вируса**

Hypervariable region 1 differentially impacts viability of hepatitis C genotype 1-6 strains and impairs virus neutralization

*Prentoe J, Jensen TB, Meuleman P. et al.*

J Virol. 2010 Dec 1. [Epub ahead of print]

Гипервариабельный участок 1 (HVR1) поверхностного гликопротеина E2 ВГС связан с нейтрализацией и персистенцией вируса. Авторы удалили HVR1 из JFH1-основанных рекомбинантных ВГС, экспрессирующих Core/E1/E2/p7/NS2 генотипов 1-6, способных, как было показано ранее, эффективно расти в клетках гепатомы Huh7.5. Рекомбинантные конструкции 2aΔHVR1, 5aΔHVR1 и 6aΔHVR1 Core-NS2 сохраняли жизнеспособность в клетках Huh7.5, тогда как 1aΔHVR1, 1bΔHVR1, 2bΔHVR1, 3aΔHVR1 и 4aΔHVR1 оказались в значительной

степени аттенуированы. Однако, за исключением 4aΔHVR1, вирусы сохраняли инфекционные свойства, и методами обратной генетики были выявлены адаптивные мутации в поверхностных белках, обеспечивающие поддержание инфекционности 1aΔHVR1, 1bΔHVR1, 2bΔHVR1 и 3aΔHVR1. Таким образом, HVR1 может выполнять различные функции у разных изолятов ВГС. Эксперименты с ультрацентрифугированием показали, что удаление HVR1 не приводило к изменению плавучей плотности РНК ВГС, тогда как плотность инфекционных частиц изменялась — вместо диапазона 1,0-1,1 г/мл наблюдали один пик при 1,1 г/мл, что предполагает критичность HVR1 для инфекционности частиц ВГС с низкой плавучей плотностью. С помощью сывороток крови от пациентов с хронической ВГС-инфекцией были выявлены три различных нейтрализационных профиля для природных вирусов разных генотипов. Наоборот, все вирусы без HVR1 обладали схожим профилем нейтрализации. Значение *in vivo* HVR1 в защите ВГС от нейтрализации было показано в дифференциальной нейтрализации *ex vivo* для 2a и 2aΔHVR1, продуцированных в химерных мышцах, несущих гепатоциты человека. Поскольку вирусы без HVR1 обладают высокой плотностью и высокой чувствительностью к нейтрализации, авторы анализировали возможность корреляции между плотностью и восприимчивостью к нейтрализации у нативных вирусов генотипов 1-6. Такая корреляция была показана только для генотипа 2a.

**Заключение:** полученные результаты показали, что HVR1 ВГС закрывает (экранирует) важные консервативные эпитопы нейтрализации, что имеет значение для персистенции вируса, иммунотерапии и создания вакцин.

### **Полиморфизм толл-подобных рецепторов, цитокинов и цитокиновых рецепторов связан с отсутствием ответа на вакцину против гепатита В**

Toll-like receptors and cytokines/cytokine receptors polymorphisms associate with non-response to hepatitis B vaccine

*Chen J, Liang Z, Lu F. et al.*

Vaccine. 2010 Nov 23. [Epub ahead of print]

Доказано, что 5-10% взрослых лиц, вакцинированных против гепатита В (ГВ), не отвечают или отвечают слабо на вакцинацию и, вероятно, не адекватно защищены от ГВ-инфекции. Варианты последовательностей генов, участвующих в распознавании патогенов и дифференциации/созревании лимфоцитов, могут влиять на длительность и величину гуморального иммунного ответа на вакцину против ГВ. Авторы

анализировали распространенность 53 известных SNP в 21 гене-кандидатах у 46 ответивших и 24 - неответивших на вакцинацию. Для SNP (rs2243248, rs1805015, rs1295686 и rs3804100) в генах IL-4, IL-4RA, IL-13 и TLR2 была установлена достоверная взаимосвязь с гуморальным ответом на вакцинацию ( $p < 0,05$ ). По данным многофакторного анализа, два SNP (rs1295686 и rs1805015) также продемонстрировали достоверную связь с ответом на вакцинацию при анализе совместно с факторами риска, такими как возраст и пол ( $p < 0,05$ ). Кроме того, анализ гаплотипа показал, что гаплотип AG определяемый SNP rs1143633 (IL-1 $\beta$ , интрон) и rs1143627 (IL-1 $\beta$ ; интрон) чаще встречается у не ответивших на вакцинацию по сравнению с ответившими ( $p = 0,035$ ).

**Заключение:** специфичные SNP в генах цитокинов/цитокиновых рецепторов и TLR2 связаны с протективным гуморальным ответом на вакцинацию против гепатита В.

### **Факторы, связанные с устойчивым вирусологическим ответом у реципиентов трансплантации печени с рецидивом гепатита С**

Factors associated with sustained virological response in liver transplant recipients with recurrent hepatitis C

*Pillai AA, Lee VS, Wang E, Rinella ME.*

Устойчивый вирусологический ответ (УВО) на антивирусную терапию наблюдается только у трети пациентов с ортотопической трансплантацией печени (ОТП) с рецидивом гепатита С. Авторы анализировали прогностические факторы УВО у 62 пациентов ОТП, получавших терапию пегилированным интерфероном и рибавирином (PEG + RBV) против рецидива ВГС-инфекции. После унивариантного анализа факторов, связанных с УВО, достоверность взаимосвязей ( $p < 0,05$ ) определяли с помощью многофакторного логистического регрессионного анализа. Показатели пациентов по шкале Kaplan-Meier и выживаемость после ОТП сравнивали у пациентов с УВО ( $n = 19$ ; 30,6%) и без УВО. По данным унивариантного анализа, более длительная терапия, более низкие исходные уровни РНК ВГС ( $< 1$  млн МЕ/мл) и ранний вирусологический ответ (РВО) были связаны с УВО. По данным многофакторного анализа, с УВО были связаны только низкие уровни РНК ВГС до начала терапии.

**Заключение:** факторы, связанные с УВО у пациентов ОТП, сходны с таковыми у пациентов до пересадки печени. Потенциальные управляемые факторы риска, такие как сахарный диабет и метаболический синдром, не являются достоверными прогностическими факторами от-

вета на терапию. Выживаемость пациентов была связана с УВО, что подчеркивает важность успешной терапии против ВГС для долгосрочного исхода у пациентов ОТП.

### **Эффективность и безопасность комбинированной терапии пегилированным интерфероном и рибавирином у пациентов с хроническим гепатитом С в качестве посткуративной терапии при гепатоцеллюлярной карциноме — мультицентровое проспективное исследование**

The efficacy and safety of pegylated interferon plus ribavirin combination therapy in chronic hepatitis c patients with hepatocellular carcinoma post curative therapies - A multicenter prospective trial

*Huang JF, Yu ML, Huang CF. et al.*

J Hepatol. 2010 Sep 7. [Epub ahead of print]

Свидетельства об эффективности антивирусной терапии хронического гепатита С (ХГС) у пациентов, перенесших терапию ГЦК, ограничены. Авторы оценивали эффективность и безопасность терапии пегилированным интерфероном альфа и рибавирином (PegIFN/RBV) у таких пациентов, по сравнению с пациентами, имеющими цирроз печени. В данном проспективном, мультицентровом исследовании по системе «случай-контроль» участвовали 82 пациента с ХГС, перенесших терапию ГЦК, и 87 соответствующих по полу и возрасту пациентов с циррозом. Все пациенты получали PegIFN-альфа-2а и RBV в соответствии с массой тела. Первичным критерием являлся устойчивый вирусологический ответ (УВО, отсутствие РНК ВГС в сыворотке крови через 6 месяцев после терапии). Частота УВО была достоверно ниже в группе ГЦК по сравнению с пациентами, имеющими цирроз (48,8% против 64,4%;  $p=0,04$ ). Однако достоверно меньшая частота УВО наблюдалась в группе ГЦК среди пациентов с генотипом 1 ВГС (33,3% против 60,7%;  $p=0,005$ ) но не среди пациентов с генотипами 2/3 (70,6% против 71,0%;  $p=0,88$ ). У пациентов, достигших приверженности «80/80/80», частота УВО в двух группах не различалась достоверно (50,7% против 64,2%;  $p=0,12$ ). Многофакторный регрессионный анализ показал, что быстрый вирусологический ответ (БВО, исчезновение виремии в

первые 4 недели терапии, соотношение рисков - 22,1;  $p<0,001$ ) и приверженность терапии (соотношение рисков - 3,1;  $p=0,05$ ) являлись прогностическими факторами, связанными с УВО, тогда как предшествующая ГЦК не была ассоциирована с УВО (соотношение рисков - 0,4;  $p=0,09$ ). Частота развития тяжелых побочных эффектов была сходной в обеих группах.

**Заключение:** полученные результаты подтвердили переносимость терапии PegIFN/RBV после успешной эрадикации ГЦК, сопровождаемой тщательным мониторингом пациентов.

### **Динамическая коинфекция разными субтипами ВГС при остром гепатите С** Dynamic coinfection with multiple viral subtypes in acute hepatitis C.

*Smith JA, Aberle JH, Fleming VM. et al.*

J Infect Dis. 2010 Dec 15;202(12):1770-1779.

Epub 2010 Nov 10.

Острая ВГС-инфекция недостаточно изучена, однако эволюция вирусных последовательностей и динамика взаимоотношений вируса и организма на ранних стадиях инфекции могут определять исход инфекции. Гипервариабельный участок 1 (HVR1) ВГС генетически изменчив и испытывает селективное давление со стороны иммунной системы организма. Авторы изучали эволюцию HVR1 в образцах, регулярно и часто отбирившихся у пациентов с острой ВГС-инфекцией. Всего 3 и более образцов до терапии получали от 10 лиц с острой инфекцией. Амплификацию в ПЦР проводили с множеством комбинаций праймеров для выявления полного диапазона присутствующих последовательностей. Все продукты амплификации клонировали и секвенировали. Для оценки вирусного разнообразия проводили филогенетический анализ. У 2 из 10 пациентов отмечали инфекцию не менее чем двумя субтипами ВГС. У пациентов с наиболее сложной субтипической структурой наблюдали также изменчивость уровней вирусной нагрузки; однако изменения вирусной нагрузки не были напрямую связаны с изменением субтипа.

**Заключение:** в данной тщательно обследованной когорте пациентов с острой инфекцией наблюдали динамическую коинфекцию разными субтипами вируса, что отражает сложную вирусологическую картину на ранних этапах инфекции.

## Информация о предстоящих конференциях

### European Association for the Study of Liver Monothematic Conference Evaluation of Disease Severity and Prognosis in Chronic Liver Disease

28–29 января 2011

Ница, Франция

Срок регистрации – до 10 января 2011

[www2.kenes.com/nice2011](http://www2.kenes.com/nice2011)

### The 21<sup>st</sup> Conference of the Asian Pacific Association for the Study of Liver

17–20 февраля 2011

Бангкок, Тайланд

Срок регистрации – до 1 февраля 2011

[www.apasl2011bangkok.org](http://www.apasl2011bangkok.org)

### 60 Весенняя сессия Национальной Школы гастроэнтерологов и гепатологов

18–20 марта 2011

Москва, Россия,

[www.gastrohep.ru](http://www.gastrohep.ru)

### 46<sup>th</sup> Annual meeting of the European organisation for the study of liver (EASL)

30 марта – 3 апреля 2011

Берлин, Германия

Срок подачи тезисов – до 14 февраля 2011

[www.easl.eu](http://www.easl.eu)

### XVIII конгресс "Человек и лекарство"

11–15 апреля 2011

Москва, Россия

Срок подачи тезисов – до 15 декабря 2010

[www.medlife.ru](http://www.medlife.ru)

### European Association for the Study of Liver Monothematic Conference Liver Fibrogenesis: Common and Organ Specific Mechanisms

17–18 июня 2011

Петерсберг, Германия

Срок подачи тезисов – до 17 марта 2011

[www.easl.eu/petersberg2011](http://www.easl.eu/petersberg2011)

### Семнадцатая Российская гастроэнтерологическая неделя

10–12 октября 2011

Москва, Россия

Срок подачи тезисов – до 30 апреля 2011

[www.liver.ru](http://www.liver.ru)

### The Liver Meeting 2011

4–8 ноября 2011

Сан Франциско, США

Срок подачи тезисов – до 1 июня 2011

[www.aasld.org](http://www.aasld.org)