

мед. наук, зам. гл. врача Центра гигиены и эпидемиологии в городе Москве, fguz@mossanepid.ru;

**Богомолов Павел Олегович**, канд. мед. наук, зам. гл. врача по клинико-диагностической работе МОНИКИ им. М.Ф.Владимирского, hepatology@monikiweb.ru; **Мантров Алексей Игоревич**, биолог головной лаб. диагностики СПИ-Да и вирусных гепатитов МОНИКИ им. М.Ф.Владимирского, e-mail: himik65@yandex.ru;

**Дубоделов Дмитрий Васильевич**, канд. мед. наук, ст. науч. сотр. лаборатории диагностики вирусных инфекций ФБГНУ «НИИВС им. И.И.Мечникова», e-mail: gradient27@

mail.ru; **Полонский Виталий Олегович**, канд. мед. наук, ст. науч. сотр. ФГБУ «ФНИЦЭМ им.Н.Ф.Гамалеи» Минздрава России; **Лавров Вячеслав Федорович**, доктор мед. наук, проф. руководитель лаборатории диагностики вирусных инфекций ФБГНУ «НИИВС им. И.И.Мечникова» v.f.lavrov@inbox.ru; **Семененко Татьяна Анатольевна**, доктор мед. наук, проф., руководитель отд. эпидемиологии ФГБУ «ФНИЦЭМ им.Н.Ф.Гамалеи» Минздрава России, e-mail: semenenko@gamaleya.org; **Полонский Виталий Олегович**, канд. мед. наук, ст. науч. сотр. ФГБУ «ФНИЦЭМ им. Н.Ф.Гамалеи» Минздрава России.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2015

УДК 616.36-002-022.6-085.281.8-036.8

**Рюмин А.М.<sup>1</sup>, Корочкина О.В.<sup>1</sup>, Собчак Д.М.<sup>1</sup>, Соболевская О.Л.<sup>1</sup>, Бутина Т.Ю.<sup>2</sup>, Кузнецова И.В.<sup>2</sup>, Корейво Е.Г.<sup>3</sup>**

## НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОТИВОВИРУСНОЙ ТЕРАПИИ ХРОНИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА С

<sup>1</sup>ГБОУ ВПО «Нижегородская государственная медицинская академия», 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского 10; <sup>2</sup>ФБУН «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. акад. И.Н. Блохиной» Роспотребнадзора, 603950, г. Нижний Новгород, ул. М. Ямская, 71; <sup>3</sup>ООО «Клиника современных технологий "Садко"», 603057, г. Нижний Новгород, ул. Бекетова, 13

*Несмотря на многочисленные исследования, проблема прогнозирования эффективности противовирусной терапии хронического гепатита С остается актуальной. Как показали недавние исследования, полиморфизм гена ILB28 в значительной мере определяет достижение устойчивого вирусологического ответа. В настоящем исследовании у 70 больных хроническим гепатитом С оценены факторы, влияющие на результаты лечения, их распространенность в популяции и использование контроля над ними в качестве предиктора эффективности терапии. Обсуждается возможность коррекции некоторых из них. Это позволяет прогнозировать достижение устойчивого вирусологического ответа. Подтверждена необходимость учета полиморфизма гена ILB28 в связи с широким распространением в популяции нормальных генотипов локусов rs12979860 и rs8099917.*

**К л ю ч е в ы е с л о в а:** гепатит С; интерлейкин-B28; противовирусная терапия.

**Для цитирования:** Эпидемиология и инфекционные болезни. 2015. 20 (2): 25–29.

Ryumin A.M.<sup>1</sup>, Korochkina O.V.<sup>1</sup>, Sobchak D.M.<sup>1</sup>, Sobolevskaya O.L.<sup>1</sup>, Butina T.Yu.<sup>2</sup>, Kuznetsova I.V.<sup>2</sup>, Koreyvo E.G.<sup>3</sup>

MODERN POSSIBILITIES FOR THE PREDICTION OF THE EFFICACY OF ANTIVIRAL THERAPY OF CHRONIC HEPATITIS C

<sup>1</sup>Nizhny Novgorod State Medical Academy, 10/1, Minina i Pozharskogo Square, Nizhny Novgorod, Russian Federation, 603005

<sup>2</sup>Nizhny Novgorod Research Institute of Epidemiology and Microbiology named after N.I.Blokhina. 44, Gruzinskaya St., Nizhny Novgorod, Russian Federation, 603950

<sup>3</sup>Clinic of modern technologies «Sadko», 13, Beketova Str., Nizhny Novgorod, Russian Federation, 603057

*Despite numerous investigations, the problem of predicting of efficiency of the antiviral therapy of chronic hepatitis C (CHC) remains to be actual. As recent investigations showed polymorphism of IL-B28 gene in large part determines the achievement of the sustained virological response. In this study in 70 CHC patients there were evaluated factors which influence on the results of the treatment, their occurrence in the population, and the use the control them as a predictor of the efficacy of the therapy. There is considered the possibility of correction of some of them. This allows you to predict the achievement of sustained virological response. There has been confirmed the need for the accounting of IL-B28 gene polymorphism in the relation to the wide spread occurrence in the population of normal genotypes in loci Rs12979860 and Rs8099917.*

**Key words:** hepatitis C; interleukin-B28; antiviral therapy.

**Citation:** Epidemiologiya i Infektsionnye Bolezni. 2015; 20(2): 25–29. (In Russ.)

Иммунопатогенез изменений в процессе эффективной и неэффективной противовирусной терапии (ПВТ) хронического гепатита С (ХГС) остается одной из наиболее актуальных проблем исследований современной инфектологии [5, 7].

**Для корреспонденции:** Рюмин Александр Михайлович, канд. мед. наук, ассистент каф. инфекционных болезней ГБОУ ВПО Нижегородская государственная медицинская академия, e-mail: selearion@mail.ru

Особое внимание в последние годы уделяется полиморфизму гена, кодирующего синтез ILB28 (интерферон-лямбда). Его называют одним из наиболее важных факторов, определяющих эффективность комбинированной ПВТ ХГС, сопоставимым по прогностической значимости с генотипом вируса и вирусной нагрузкой [15, 16]. По мнению E. Lawitz [18], генотип ILB28 служит одним из основных предикторов эффективности и безинтерферонового режима ПВТ. Таким образом, для прогнозирования

эффективности ПВТ современный врач должен принимать во внимание весь комплекс факторов, определяющих достижение устойчивого вирусологического ответа (УВО).

Между тем у большинства больных терапия проводится без учета возможного полиморфизма гена *ILB28*.

### Материалы и методы

В исследование были включены 70 больных ХГС. Среди больных не было коинфицированных HBV и/или ВИЧ, а также больных с циррозом печени.

При решении вопроса о сроках начала и возможной эффективности ПВТ оценивались пол, возраст, индекс массы тела больных, предполагаемый путь и давность инфицирования, уровень АлАТ, генотип HCV и вирусная нагрузка, а также наличие полиморфизма гена *ILB28*.

Предполагаемый путь и момент инфицирования определялись анамнестически с учетом данных парентерального анамнеза, сведений о первом выявлении а/HCV и предшествовавших ему обследований на вирусные гепатиты.

По уровню АлАТ больные были разделены на 3 группы: больные с нормальным уровнем АлАТ, больные с уровнем АлАТ, повышенным не более чем в 5 раз, и больные с повышением уровня АлАТ более чем в 5 раз выше верхней границы нормы.

Для определения вирусной нагрузки использовалась полимеразная цепная реакция в реальном времени. При концентрации HCV РНК менее  $10^6$  копий/мл вирусная нагрузка считалась низкой, при концентрации  $10^6$  копий/мл и выше – высокой.

Генотип *ILB28* определялся с использованием тест-системы «Иммуногенетика *ILB28*». Определялись простые нуклеотидные полиморфизмы (ПНП) rs12979860 (нормальные гомозиготы CC, полиморфизм в гетерозиготном состоянии СТ и полиморфизм в гомозиготном состоянии ТТ) и rs8099917 (нормальные гомозиготы ТТ, полиморфизм в гетерозиготном состоянии TG и полиморфизм в гомозиготном состоянии GG). Данные ПНП были выбраны с связи с их доказанной прогностической значимостью в отношении исходов ПВТ [8, 19].

### Результаты и обсуждение

Первым этапом анализа была оценка демографических особенностей больных.

Данные литературы об эффективности ПВТ у мужчин и женщин весьма противоречивы. В данном исследовании 62,9% больных ХГС составили мужчины. В соответствии с ранее полученными нами результатами у мужчин установлено преимущественно неблагоприятное течение ХГС. В соответствии с этим они нуждаются в более раннем назначении ПВТ. Вместе с тем большинство авторов указывают на преимущественную эффективность ПВТ у женщин [10, 20].

В отношении возраста больных установлено, что

больные старше 65 лет тяжелее переносят ПВТ и реже достигают УВО [4]. В исследованной нами группе больные в возрасте до 30 лет составили 17,5%, 31 - 40 лет – 45,6%, старше 40 лет – 36,9%. Таким образом по данному критерию более чем у трети больных можно предположить относительно низкую эффективность ПВТ.

Продолжительность болезни также влияет на результативность ПВТ. Так, при давности болезни свыше 5 лет эффективность ПВТ снижается [17]. Это может быть косвенным отражением нарастания фиброза (известно, что эффективность ПВТ снижается по мере нарастания фиброза) или отражением иммунологических перестроек в организме при длительной персистенции HCV [14, 20]. В исследованной нами группе 53,6% больных предположительно были инфицированы свыше 5 лет назад и, следовательно, имели невысокую вероятность достижения УВО. Среди остальных 46,4% больных в ближайшие 1-2 года многие также перейдут в группу с длительным течением болезни, что неизбежно отразится в снижении эффективности ПВТ.

Согласно данным эпидемиологического анамнеза, 48,4% больных предположительно были инфицированы при внутривенном употреблении наркотиков. Это является неблагоприятным прогностическим фактором в отношении естественного течения ХГС [13] и диктует необходимость возможно раннего начала ПВТ. С другой стороны, даже при наличии длительной ремиссии у таких больных ПВТ, с высокой вероятностью, будет сопровождаться развитием выраженной депрессии, что может стать причиной отмены терапии. Приходится учитывать также, что пациенты данной категории склонны преувеличивать длительность ремиссии и могут возобновить прием наркотических препаратов, а следовательно, имеется возможность реинфицирования.

Избыточная масса тела также отрицательно сказывается на вероятности достижения УВО [2, 11]. Однако данный фактор относится к корригируемым: необходимо рекомендовать пациенту соблюдение диеты, физические нагрузки, возможно, применение метформина. Вместе с тем следует учитывать, что у пациентов с 3-м генотипом HCV метаболические нарушения могут быть связаны не с метаболизмом пациента, а с особенностями вируса [17]. В нашем исследовании избыточная масса тела была выявлена у 61,1% больных, однако лишь у 33,3% по результатам исследования индекса массы тела было установлено ожирение. Таким образом, коррекция массы тела у подавляющего большинства пациентов может повысить эффективность ПВТ. Следует учитывать, что стеатоз печени может быть вызван самим вирусом (при инфицировании 3-м генотипом) [17]. В нашем исследовании избыточная масса тела была зарегистрирована у 30% больных с 1-м генотипом HCV и у 64,3% больных с 3-м генотипом ( $p=0,214$ ).

Повышенный уровень АлАТ сам по себе явля-

ется одним из поводов для начала ПВТ [10]. При биохимических исследованиях у 65% больных был выявлен повышенный уровень АлАТ, причем у 15% верхняя граница нормы была превышена более чем в 5 раз. В соответствии с имеющимися данными литературы гиперферментемия следует считать хорошим прогностическим признаком в отношении достижения УВО [12].

Генотип HCV считается одним из важнейших некорректируемых факторов, определяющих исход ПВТ [2]. В Российской Федерации чаще регистрируется генотип 1b, однако отмечается нарастание частоты выявления генотипа 3. Как правило, генотип 1 чаще регистрируется у больных старше 30 лет, а генотип 3 – у более молодых [3]. В исследованной группе генотипом 1b были инфицированы 54,6% больных, а генотипами 2 и 3 – 45,4% больных. Подобное распределение типично для нашего региона. Высокий процент больных с 3-м генотипом HCV обусловлен, по-видимому, широким распространением наркомании. Известно, что больные с 1b-генотипом HCV относятся к категории «трудных для лечения» [2], однако следует помнить, что при 3-м генотипе HCV велик риск рецидивов [1].

Высокая концентрация HCV РНК считается неблагоприятным прогностическим фактором в отношении УВО вне зависимости от генотипа HCV [1, 2]. По уровню вирусемии обследованные больные разделились на 2 практически равные группы. В группе с концентрацией HCV РНК  $<10^6$  копий/мл было 52,4% больных. Уровень HCV РНК  $>10^6$  копий/мл был выявлен у 47,6% больных. В соответствии с результатами, ранее полученными в нашей клинике, следует отнести вирусную нагрузку к корректируемым факторам, поскольку некоторые препараты (фосфоглив, ферровир) позволяют снизить ее перед началом ПВТ [6].

При изучении локуса rs12979860 гена *ILB28* в исследованной группе было выявлено 40% нормальных гомозигот (CC), у которых даже при 1-м генотипе HCV вероятность ответа на ПВТ достигает 80% [8]. При прочих неблагоприятных прогностических факторах и отсутствии сведений о генотипе по rs12979860 следовало бы предполагать низкую вероятность достижения УВО. Это привело бы к снижению приверженности больного к лечению или нежеланию начинать ПВТ.

44,3% больных имели полиморфизм СТ по локусу rs12979860. В данной группе при наличии 1b-генотипа HCV вероятность достижения УВО ниже. Однако лишь у 15,7% больных выявлен полиморфизм в гомозиготном состоянии ТТ с вероятностью УВО не более 30% при наличии генотипа 1b HCV [8].

При 2-м и 3-м генотипах HCV также следует учитывать ПНП rs12979860. Так, по данным А. Mangia и соавт. [19], вероятность УВО при генотипах CC, СТ и ТТ составляет соответственно 82, 75 и 58%.

Для жителей Европы и Азии прогностическое значение имеет и ПНП rs8099917. Так, по данным Li,

вероятность достижения УВО при генотипе ТТ составляет 73%, при TG – 35,8%, при GG – 32,5%. 60% обследованных нами больных были нормальными гомозиготами (ТТ), что позволяет прогнозировать высокую частоту УВО. Значительно меньшей была доля гетерозигот (TG) и больных с полиморфизмом в гомозиготном состоянии (GG) с низкой вероятностью достижения УВО (32,9 и 7,1% соответственно).

В целях повышения прогностической значимости изучалась корреляция генотипа *ILB28* с частотой повышения содержания АлАТ и концентрацией HCV РНК. Было установлено, что у нормальных гомозигот по локусу rs12979860 (CC) наиболее часто выявлялся повышенный уровень АлАТ (87,5%). В то же время повышенный уровень АлАТ был зарегистрирован лишь у половины гетерозигот (СТ) и больных с полиморфизмом в гомозиготном состоянии (ТТ),  $p=0,020$ . При этом концентрация HCV РНК  $>10^6$  копий/мл была выявлена лишь у 25% нормальных гомозигот (CC), а у гетерозигот и больных с полиморфизмом в гомозиготном состоянии регистрировалась соответственно в 60 и 100% случаев ( $p=0,17$ ). Связь ферментных обострений с низким уровнем HCV РНК отражает эффективность иммунного ответа, проявляющегося, по-видимому, цитолизом инфицированных гепатоцитов, и служит дополнительным прогностическим критерием достижения УВО.

В отношении локуса rs8099917 выявлена иная зависимость. Так, повышение уровня АлАТ было зарегистрировано у 55,2% нормальных гомозигот (ТТ) и у всех гетерозигот (TG;  $p=0,032$ ). Однако высокая концентрация HCV РНК в этих группах регистрировалась с близкой частотой: 42,9 и 57,1% соответственно ( $p=0,659$ ). Среди больных с полиморфизмом в гомозиготном состоянии (GG) эти параметры не оценивались в связи с малочисленностью группы.

## Заключение

Исследование полиморфизма гена *ILB28* является необходимым этапом обследования при оценке возможной эффективности ПВТ. Результаты этого исследования могут быть арбитражными при принятии решения о начале ПВТ.

Среди больных с 1-м генотипом HCV лишь 15,7% имеют полиморфизм гена, кодирующего синтез *ILB28*, определяющий низкую эффективность ПВТ, в то время как 40% являются нормальными гомозиготами и имеют высокие шансы на успех ПВТ.

Учитывая широкую распространенность генотипов CC и ТТ, вероятность спонтанного клиренса HCV РНК у больных с данными генотипами относительно высока.

Генотип rs12979860 является одним из факторов, определяющих частоту ферментных обострений и уровень вирусемии у европейских пациентов. Генотип rs8099917 влияет только на частоту повышения содержания АлАТ.



## ЛИТЕРАТУРА

1. Бацких С.Н., Морозов С.В., Чуланов В.П., Покровский В.И. Вирус гепатита С 3-го генотипа: такой «простой», такой «сложный». *Терапевтический архив*. 2012; 11: 4–10.
2. Буверов А.О. Профилактика и коррекция гематологических побочных эффектов противовирусной терапии хронического гепатита С. *РЖГГК*. 2009; 3: 76–81.
3. Кузин С.Н. Структура генотипов вируса гепатита у пациентов с хроническим гепатитом С. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 2011; 3: 33–7.
4. Маевская М.В., Морозова М.А. Клиническое течение и лечение хронического гепатита С у больных пожилого возраста. *РЖГГК*. 2011; 1: 11–8.
5. Соболевская О.Л., Михайлова Е.А. Диагностическое значение показателей цитокиновой регуляции в прогнозировании эффективности противовирусной терапии при хроническом микст-гепатите В + С. *Клиническая медицина*. 2011; 3: 72–6.
6. Соболевская О.Л. Применение препарата «Ферровир» у больных ХГС и хроническим микст-гепатитом В + С. *Медицинский альманах*. 2011; 6: 267–8.
7. Собчак Д.М. Оценка показателей Т-клеточного иммунитета и медиаторов иммунного ответа у больных хроническим гепатитом С при проведении противовирусной терапии. *Нижегородский медицинский журнал*. 2006; 8: 28–35.
8. Сюткин В.Е., Чуланов В.П., Карандашова И.В., Долгин В.А., Чугунов А.О. Влияние полиморфизма интерлейкина 28В на раннюю кинетику HCV у больных, получающих противовирусную терапию после ортотопической трансплантации печени. *РЖГГК*. 2011; 6: 49–55.
9. Шульдяков А.А., Речник В.Н., Соболева Л.А., Блиникова Е.Н., Савинова Г.А. Совершенствование патогенетической терапии хронического гепатита С. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2009; 3: 18–21. (in Russian)
10. Ющук Н.Д., Климова Е.А., Знойко О.О., Кареткина Г.Н., Максимов С.Л. и др. Протокол диагностики и лечения больных вирусными гепатитами В и С. *РЖГГК*. 2010; 6: 4–60.
11. Berg T., von Wagner M., Nasser S., Sarrazin C., Heintges T., Gerlach T., et al. Extended treatment duration for hepatitis C virus type 1: comparing 48 versus 72 weeks of peginterferon-alfa-2a plus ribavirin. *Gastroenterology*. 2006; 130: 1086–97.
12. Berg T., Sarrazin C., Herrmann E., Hinrichsen H., Gerlach T., Zachoval R., et al. Prediction of Treatment Outcome in Patients With Chronic Hepatitis C: Significance of Baseline Parameters and Viral Dynamics During Therapy. *Hepatology*. 2003; 3: 600–9.
13. Bochud P.Y., Cai T., Overbeck K., Bochud M., et al. Genotype 3 is associated with accelerated fibrosis progression in chronic hepatitis C. *J. Hepatol.*; 51: 655–66.
14. Everson G.T., Hoefs J.C., Seeff L.B., Bonkovsky H.L., Naishadham D., Shiffman M.L., et al. Impact of disease severity on outcome of antiviral therapy for chronic hepatitis C: lessons from the HALT-C trial. *Hepatology*. 2006; 44: 1675–84.
15. Halfon P., Bourliere M., Ouzan D. et al. IL-28 gene variation predicts who will respond to interferon-based treatment of chronic hepatitis C in a french cohort. *J. Hepatol.* 2010; 52: 451.
16. Howell C.D., Thompson A.J., Ryan K. et al. IL28B genetic variation associated with early viral kinetics and SVR in HCV genotype 1 the VIRAHep-C study. *J. Hepatol.* 2010; 52: 451.
17. Kumar D., Farrell G.C., Fung C., et al. Hepatitis C virus genotype 3 is cytopathic to hepatocytes: Reversal of hepatic steatosis after sustained therapeutic response. *Hepatology*. 2002; 36: 1266–72.
18. Lawitz E., Poordad F., Kowdley K.V. et al. A phase 2a trial of 12-week interferon-free therapy with two direct-acting antivirals (ABT-450/r, ABT-072) and ribavirin in IL28B C/C patients with chronic hepatitis C genotype 1. *J. Hepatol.* 2013; 59: 18–23.
19. Mangia A., Thompson A.J., Santoro R. et al. An IL28B polymorphism determines treatment response of hepatitis C virus genotype 2 or 3 patients who do not achieve a rapid virologic response. *Gastroenterology*. 2010; 139 (3): 821–7.
20. Poynard T., McHutchison J., Goodman Z., Ling M.H., Albrecht J. Is an «a la carte» combination interferon alfa-2b plus ribavirin regimen possible for the first line treatment in patients with chronic hepatitis C? The ALGOVIRC Project Group. *Hepatology*. 2000; 31: 211–8.

## REFERENCES

1. Batskikh S.N., Morozov S.V., Chulanov V.P., Pokrovskiy V.I. Hepatitis C virus Genotype 3: that “simple”, yet that “complex”. *Terapevticheskiy arkhiv*. 2012; 11: C.4–10. (in Russian)
2. Bueverov A.O. Treatment and prophylaxis of hematological side effects of chronic hepatitis C antiviral therapy. *RZhGGK*. 2009; 3: 76–81. (in Russian)
3. Kuzin S.N. Structure of hepatitis C virus genotypes among Moscow regional patients with chronic HC-infection. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2011; 3: 33–7. (in Russian)
4. Maevskaya M.V., Morozova M.A. Natural history and treatment of chronic hepatitis C in elder patients. *RZhGGK*. 2011; 1: 11–8. (in Russian)
5. Sobolevskaya O.L., Mikhaylova E.A. Diagnostic significance of cytokine regulation indexes in prediction of antiviral therapy effectiveness in chronic mixed hepatitis B + C. *Klinicheskaya meditsina*. 2011; 3: 72–6. (in Russian)
6. Sobolevskaya O.L. The use of preparation “Ferrovir” for patients with CHC and chronic mixed-hepatitis B + C. *Meditsinskiy al'manakh*. 2011; 6: 267–8. (in Russian)
7. Sobchak D.M. Evaluation of T-cell immunity characteristics and mediators of immune response in patients with chronic hepatitis C treated with combined antiviral therapy. *Nizhegorodskiy meditsinskiy zhurnal*. 2006; 8: 28–35. (in Russian)
8. Syutkin V.E., Chulanov V.P., Karandashova I.V., Dolgin V.A., Chugunov A.O. Influence of IL-B28 polymorphism on early HCV viral kinetics in patients getting antiviral treatment after orthotopical liver transplantation. *RZhGGK*. 2011; 6: 49–55. (in Russian)
9. Shul'dyakov A.A., Rechnik V.N., Soboлева L.A., Blinnikova E.N., Savinova G.A. Improvement of pathogenetic therapy for chronic hepatitis C. *Epidemiologiya i infeksionnye bolezni*. 2009; 3: 18–21. (in Russian)
10. Yushchuk N.D., Klimova E.A., Znoyko O.O., Karetkina G.N., Maksimov S.L. et al. The algorithm of viral hepatitis B and C diagnostics and treatment. *RZhGGK*. 2010; 6: 4–60. (in Russian)
11. Berg T., von Wagner M., Nasser S., Sarrazin C., Heintges T., Gerlach T. et al. Extended treatment duration for hepatitis C virus type 1: comparing 48 versus 72 weeks of peginterferon-alfa-2a plus ribavirin. *Gastroenterology*. 2006; 130: 1086–97.
12. Berg T., Sarrazin C., Herrmann E., Hinrichsen H., Gerlach T., Zachoval R. et al. Prediction of Treatment Outcome in Patients With Chronic Hepatitis C: Significance of Baseline Parameters and Viral Dynamics During Therapy. *Hepatology*. 2003; 3: 600–9.
13. Bochud P.Y., Cai T., Overbeck K., Bochud M., et al. Genotype 3 is associated with accelerated fibrosis progression in chronic hepatitis C. *J. Hepatol.*; 51: 655–66.
14. Everson G.T., Hoefs J.C., Seeff L.B., Bonkovsky H.L., Naishadham D., Shiffman M.L., et al. Impact of disease severity on outcome of antiviral therapy for chronic hepatitis C: lessons from the HALT-C trial. *Hepatology*. 2006; 44: 1675–84.
15. Halfon P., Bourliere M., Ouzan D. et al. IL-28 gene variation predicts who will respond to interferon-based treatment of chronic hepatitis C in a french cohort. *J. Hepatol.* 2010; 52: 451.
16. Howell C.D., Thompson A.J., Ryan K. et al. IL28B genetic variation associated with early viral kinetics and SVR in HCV genotype 1 the VIRAHep-C study. *J. Hepatol.* 2010; 52: 451.
17. Kumar D., Farrell G.C., Fung C., et al. Hepatitis C virus genotype 3 is cytopathic to hepatocytes: Reversal of hepatic steatosis after sustained therapeutic response. *Hepatology*. 2002; 36: 1266–72.
18. Lawitz E., Poordad F., Kowdley K.V. et al. A phase 2a trial of 12-week interferon-free therapy with two direct-acting antivirals (ABT-450/r, ABT-072) and ribavirin in IL28B C/C patients with chronic hepatitis C genotype 1. *J. Hepatol.* 2013; 59: 18–23.
19. Mangia A., Thompson A.J., Santoro R. et al. An IL28B polymorphism determines treatment response of hepatitis C virus genotype 2 or 3 patients who do not achieve a rapid virologic response. *Gastroenterology*. 2010; 139 (3): 821–7.
20. Poynard T., McHutchison J., Goodman Z., Ling M.H., Albrecht J. Is an «a la carte» combination interferon alfa-2b plus ribavirin regimen possible for the first line treatment in patients with chronic hepatitis C? The ALGOVIRC Project Group. *Hepatology*. 2000; 31: 211–8.

## Сведения об авторах:

**Корочкина Ольга Владимировна**, д-р мед. наук проф., зав. каф. инфекционных болезней ГБОУ ВПО Нижегородская государственная медицинская академия; **Собчак Девора Михайловна**, д-р мед. наук, доцент каф. инфекционных болезней ГБОУ ВПО Нижегородская государственная медицинская академия; **Соболевская Оксана Львовна**, д-р мед. наук, доцент каф. инфекционных болезней ГБОУ ВПО Нижегородская государственная

медицинская академия; **Бутина Татьяна Юрьевна**, врач клинической лабораторной диагностики ФБУН «Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. акад. И.Н.Блохиной» Роспотребнадзора; **Кузнецова Ирина Васильевна**, врач клинической лабораторной диагностики ФБУН «Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. акад. И.Н.Блохиной» Роспотребнадзора; **Корейво Елена Германовна**, канд. мед. наук, врач ООО «Клиника современных технологий "Садко"».

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2015

УДК 616.36-004-06:616.36-002.2-022.6]-078.33

**Попов А.Ф., Михайлов А.О., Иванова Н.С., Симакова А.И.**

## МЕТОД ДНК-КОМЕТ В ДИАГНОСТИКЕ ФИБРОЗА ПЕЧЕНИ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ВИРУСНОМ ГЕПАТИТЕ С

ГБОУ ВПО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава России, 690002, г. Владивосток, просп. Острякова, 2, Россия

*В исследовании приняли участие 100 человек, которые были разделены на 6 групп в зависимости от выраженности фиброза печени по данным эластометрии: 1-я – F0, 2-я – F1, 3-я – F2, 4-я – F3, 5-я – F4. 6-ю (контрольную) группу составили 43 здоровых добровольца. Проведенное исследование показало взаимосвязь между стадией выраженности фиброза и степенью деструкции ДНК лимфоцитов периферической крови. Максимально процесс деструкции ДНК лимфоцитов периферической крови установлен у пациентов с хроническим вирусным гепатитом С с исходом в цирроз. Это позволило рассматривать метод ДНК-комет как перспективный дополнительный вспомогательный метод в оценке формирования фиброза печени.*

Ключевые слова: гепатит; цирроз; ДНК; апоптоз.

Для цитирования: Эпидемиология и инфекционные болезни. 2015. 20 (2): 29–33.

*Popov A.F., Mikhailov A.O., Ivanova N.S., Simakova A.I.*

METHOD OF DNA-COMET ASSAY IN THE DIAGNOSIS OF LIVER FIBROSIS C IN PATIENTS WITH CHRONIC VIRAL HEPATITIS C Pacific State Medical University, 2, Ostryakova Pr., Vladivostok, Russian Federation, 690002

*In the study there were included 100 patients, which were selected in 5 group in dependence on the degree of liver fibrosis: I – F0, II – F1, III – F2, IV – F3, V – F4. Sixth (control) group was consisted of 43 healthy volunteers. The performed research has shown the relationship between the stage of fibrosis and the degree of DNA degradation in peripheral blood lymphocytes. The biggest level of DNA destruction in peripheral blood lymphocytes was established in group V patients with chronic viral hepatitis C. This allowed to consider method of DNA-comet assay as promising auxiliary method in the assessment of the formation of liver fibrosis.*

Key words: hepatitis; cirrhosis; DNA; apoptosis.

Citation: *Epidemiologiya i Infektsionnye Bolezni. 2015; 20(2): 29–33. (In Russ.)*

Метод ДНК-комет был впервые предложен в 1984 г. Ostling и Johanson. На агарозный гель, нанесённый на предметные стёкла, помещали культуры клеток млекопитающих, затем их лизировали в гипертоническом растворе соли с детергентом. После этого образцы подвергали электрофорезу в нейтральных условиях, где освобождённая ДНК, в которой содержались двунитевые разрывы, мигрировала по направлению к аноду. Для визуализации генетического материала препараты окрашивали бромидом этидия и микроскопировали, анализируя структуры, похожие на кометы с «головой» из клубка ДНК и «хвостом» из мигрировавшей ДНК,

на фотометре микроскопа [1]. Позже N. Singh и соавт. [2] было предложено проводить электрофорез в щелочной среде (pH>13,0), что позволяло оценить не только двунитевые разрывы, но и однострунные и щелочелабильные сайты. В 1990 г. P. Olive и соавт. [3] предложили ещё одну модификацию процедуры с pH ~ 12,3. Этот вариант оказался более чувствительным к оценке генотоксичности, так как генотоксиканты индуцировали одно- и двунитевые разрывы и появление щелочелабильных сайтов.

В медицине метод комет использовали для изучения генотоксического влияния органических соединений [4], состояния ДНК малигнизированных клеток при раке шейки матки [5], эндометрия [6]. Особый интерес представляли лимфоциты как объект для изучения ввиду их относительно лёгкой доступности по сравнению с другими клетками че-

Для корреспонденции: **Попов Александр Федорович**, доктор мед. наук, проф., проф. каф. инфекционных болезней, e-mail: doctor.popov@mail.ru