

## СТРУКТУРА ГЕНОТИПОВ ВИРУСА ГЕПАТИТА С В МОСКОВСКОЙ ОБЛАСТИ У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКОЙ НС-ИНФЕКЦИЕЙ

*Е.Н. Кудрявцева, Т.В. Савельева, А.И. Мантров, С.Н. Кузин*

*ГУ Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского (МОНИКИ)*

Выполнены исследования по определению структуры генотипов и подтипов вируса гепатита С у пациентов с хроническим гепатитом С в Московской области. У мужчин чаще, чем у женщин, обнаружены подтипы 3a/3b, а у женщин чаще, чем у мужчин, – подтип 1b. Установлено, что в возрастных группах до 40 лет, независимо от половой принадлежности, с наибольшей частотой определялись подтипы 3a/3b. Выявлена территориальная неравномерность в распространении подтипов 1b и 3a/3b: с большей частотой подтипы 3a/3b обнаружены в районах, расположенных на Северо-Западе, Западе и Юго-Западе от Москвы.

**Ключевые слова:** вирус гепатита С, генотипы и подтипы вирусного гепатита С, Московская область.

### STRUCTURE OF HEPATITIS C VIRUS GENOTYPES AMONG MOSCOW REGIONAL PATIENTS WITH CHRONIC HC-INFECTION

*E.N. Kudriavtseva, T.V. Savelieva, A.I. Mantrov, S.N. Kuzin*

*M.F. Vladimirsky Moscow Regional Clinical and Research Institute (MONIKI)*

Investigation of genotype and subtype structure of hepatitis C virus was carried out in Moscow Regional patients with chronic hepatitis C. Subtypes 3a/3b are more often found in women, and subtype 1b – in men. It was established that subtypes 3a/3b were more often detected in patients under 40, independently of their sex. Irregular territorial distribution of subtypes 1b and 3a/3b was revealed: subtypes 3a/3b were more often found in the North-West, West, and South-West areas of the Moscow region.

**Key words:** hepatitis C virus, genotypes and subtypes of hepatitis C, Moscow Region.

Гепатит С стал доступным для широкого всестороннего изучения, начиная с 1989 г., когда Q.-L.Choo и соавт. [11] осуществили клонирование РНК вирусного гепатита С и получили иммунореактивные олигопептиды, с помощью которых была сконструирована первая иммуноферментная тест-система для детекции антивируса гепатита С. Интенсивные исследования, проведенные во всем мире и в России, позволили установить основные закономерности распространения вирусного гепатита С и развития инфекционного процесса.

Важнейшее свойство вируса гепатита С, во многом объясняющее особенности патогенеза и эпидемиологии НС-вирусной инфекции, длительную персистенцию вируса, высокую частоту формирования хронических форм заболевания, низкую эффективность противовирусной терапии и наличие проблем с созданием эффективных вакцин, – его гетерогенность. В зараженном организме вирус постоянно воспроизво-

дит себя в целой серии близких, но иммунологически различающихся штаммов «quasispecies» (квазивидов), то есть кажущихся разновидностей. Существованием квазивидов можно объяснить «ускользание» вируса из-под иммунологического контроля (immune escape). В результате, как было выяснено отдельными исследователями [7, 12], иммунитет при гепатите С не приводит к элиминации вируса и завершению инфекционного процесса. A.L. Rothman и соавт. [16] зафиксировали отсутствие связи между иммунным ответом, изменчивостью вируса гепатита С – с одной стороны, и клиническими и гистологическими характеристиками у пациентов с прогрессирующим хроническим гепатитом С – с другой.

В настоящее время применяется принятая в 1994 г. классификация вирусного гепатита С, которая основывается на области генома вирусного гепатита С, кодирующего белок NS5b [17]. Всего насчитывается шесть генотипов и около 80 подтипов вируса. Основ-

ные генотипы гомологичны на 65-70%, подтипы, называемые также субтипами, – на 77-80%, а генетические варианты в пределах одного изолята – на 95-97%. Выделенные некоторыми исследователями генотипы семи-десяти вирусов гепатита С, предложено рассматривать как подтипы.

Исследования по географическому распространению отдельных генотипов вируса в 90-е гг. велись в различных странах мира весьма интенсивно. Выяснилось, что одни генотипы вируса универсальны и встречаются повсеместно, другие циркулируют лишь в определенных регионах мира. Генотип 1 – наиболее распространенный (превалентность 50-80%): подтип 1b превалирует в Европе, Китае, Японии, России; подтип 1a – в США, Южной Америке, на севере Западной Европы. С меньшей частотой определяют генотипы 2 и 3. Генотип 4 наиболее часто встречается в Северной и Центральной Африке, генотип 5 – на юге континента. Ареал распространения генотипа 6 – Юго-Восточная Азия (Вьетнам, Тайланд, Индонезия). Проведенные в начале 90-х гг. исследования в различных регионах мира позволили констатировать, что наибольшее распространение имеют генотипы вирусного гепатита С 1a, 1b, 2a, 2b и 3a [10, 14, 15] – более 90% от всех изолятов. Значительный интерес к этой проблеме обусловлен тем, что выявление генотипа вируса гепатита С имеет значение для прогноза эффективности анти-вирусной терапии, определения прогноза тяжести течения и исхода заболевания.

В России исследования по этой проблеме проводились весьма активно. Первые работы по определению структуры генотипов вируса гепатита С, циркулирующих в разных регионах страны, были выполнены в НИИ вирусологии в середине 90-х гг. XX в. [4, 13, 18]. Оказалось, что на территории России преобладает подтип 1b с удельным весом от 50% в Волго-Вятском регионе до 80% на Дальнем Востоке (средний показатель – 68,9%). Остальные генотипы встречались значительно реже: генотип 3a обнаружен в 5,6-18,9%, 2a и 2b – в 4,7 и 0,5% случаев. В последнее время многие авторы фиксируют некоторые изменения в структуре генотипов вируса гепатита С, циркулирующих в различных регионах Российской Федерации. Сообщается, в основном, об уменьшении доли подтипа 1b и увеличении 3a [2, 3, 9]. С учетом того, что в различных регионах России структура генотипов вирусов гепатита С у пациентов с хронической НС-вирусной инфекцией несколько различается, целесообразно проводить мониторинг и обобщать данные по отдельным субъектам федерации.

В настоящей работе предпринято определение структуры генотипов вирусов гепатита С у жителей Московской области с хронической НС-вирусной инфекцией.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование выполняли на базе головной лаборатории диагностики СПИД и вирусных гепатитов МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского в 2008 г. Генотипирование осуществляли с помощью наборов реагентов для выявления вируса гепатита С методом обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции «Генотип С» фирмы «ДНК-Технология» (Россия), позволяющих дифференцировать генотипы типов 1a, 1b, 2 и 3a/3b. Всего определены генотипы вирусов у 300 пациентов, находящихся на стационарном и амбулаторном лечении в МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского. Мужчин было 159 (в возрасте до 40 лет – 90, старше 40 лет – 69), женщин – 141 (до 40 лет – 45, старше 40 лет – 96). Для определения достоверности различий между сравниваемыми величинами использовали t-критерий Стьюдента.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Преобладал подтип 1b, обнаруженный в 51,7±2,9% (рис. 1). Вторую рейтинговую позицию занял генотип 3, представленный недифференцированной смесью подтипов 3a и 3b (29,3±2,6%). Генотип 2 типа определен в 9,0±1,7%, подтип 1a – в 6,3±1,4%. Еще у 11 пациентов (3,7±1,1% случаев) с помощью данного набора реагентов генотипическую принадлежность вируса не смогли идентифицировать. Это может быть связано с недостаточной концентрацией РНК-вируса в крови пациентов или присутствием генотипа, который данным набором типоспецифических праймеров определить невозможно.

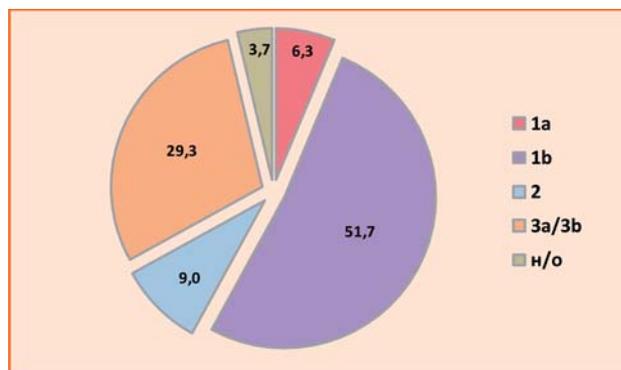
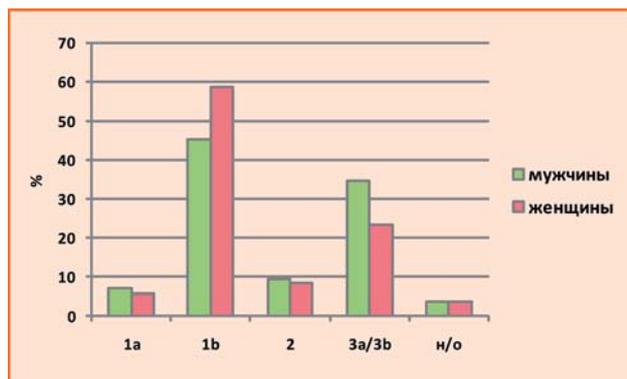


Рис. 1. Структура генотипов вируса гепатита С у пациентов Московской области с хронической НС-вирусной инфекцией (в %): n/o – неопределенный генотип

Схожую структуру генотипов вируса гепатита С при исследовании подобной группы пациентов в Новосибирской области выявил А.В. Шустов [9], где в 1999-2002 гг. с наибольшей частотой обнаруживались

подтипы вирусов гепатита С 1b (49,9%) и 3a (46,1%). В данном исследовании генотипирование изолятов вирусов осуществляли с помощью филогенетического анализа определенных последовательностей фрагментов 5'НТР и NS5b вирусов и прототипных последовательностей. Аналогичные закономерности в распределении генотипов вирусов гепатита С в Вологодской области обнаружила И.Л. Кириллова [2]: подтипы 1b и 3a определены в 68,2 и 27,2% соответственно. Полученная в нашем исследовании структура генотипов в Московской области свидетельствует о том, что по-прежнему основной удельный вес в структуре генотипов вирусов гепатита С у хронически инфицированных лиц имеют подтипы 1b и 3a.

Анализ гетерогенности вирусов гепатита С отдельно у мужчин и женщин с НС-вирусной инфекцией в Московской области позволил выявить некоторые различия в частоте определения отдельных его подтипов (рис. 2).

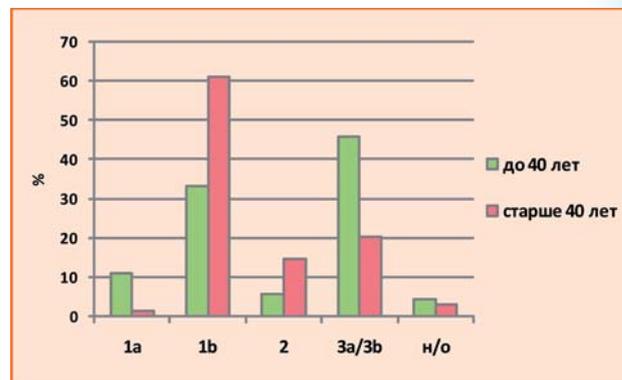


**Рис. 2.** Структура генотипов вируса гепатита С у мужчин и женщин с НС-вирусной инфекцией в Московской области (по данным лаборатории диагностики СПИД МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского)

Так, среди мужчин с НС-вирусной инфекцией подтип 1b определен у  $45,3 \pm 3,9\%$ , среди женщин – у  $58,8 \pm 4,1\%$  (различия достоверны:  $t=2,38$ ;  $p<0,05$ ). Кроме того, подтипы 3a/3b в этих группах пациентов также обнаружены с различной частотой – у мужчин в  $34,6 \pm 3,8\%$ , у женщин – в  $23,4 \pm 3,6\%$  (различия также существенны и достоверны:  $t=2,14$ ;  $p<0,05$ ). Таким образом, можно констатировать, что структура генотипов вирусов гепатита С у инфицированных мужчин и женщин в Московской области неодинакова. При общем преобладании генотипа 1b у женщин с НС-вирусной инфекцией чаще, чем у мужчин, определяли генотип 1b, тогда как у мужчин чаще встречались генотипы 3a/3b. Эти различия можно объяснить тем, что среди мужчин с НС-вирусной инфекцией с большей частотой распространена наркомания. Более того, именно наркоманы в последние годы являлись основной движущей силой эпидемического процесса

гепатита С в России [5, 6]. Многие исследователи отмечают, что подтип 3a вирусного гепатита С наиболее часто присутствует в крови наркоманов с хроническим гепатитом С [1, 7, 8, 9].

Хорошо известно, что наркомания распространена, главным образом, среди молодежи. Таким образом, есть основания предполагать превалирование подтипов 3a/3b вирусов гепатита С у молодых пациентов. На рис. 3 представлена структура генотипов у мужчин в возрасте до 40 и старше 40 лет.



**Рис. 3.** Структура генотипов вируса гепатита С у мужчин с НС-вирусной инфекцией в зависимости от возраста (по данным лаборатории диагностики СПИД МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского)

У мужчин в возрасте до 40 лет с наибольшей частотой выявлены подтипы 3a/3b –  $45,7 \pm 5,3\%$ . У этих же пациентов подтип вируса 1b занимает вторую рейтинговую позицию –  $33,3 \pm 5,0\%$ . У пациентов старше 40 лет имеется более традиционная структура генотипов. Подтип 1b выявлен в  $60,9 \pm 5,8\%$  случаев, тогда как подтипы 3a/3b – в  $20,3 \pm 4,8\%$ . Подобные различия зафиксированы также и у женщин с НС-вирусной инфекцией (рис. 4).



**Рис. 4.** Структура генотипов вируса гепатита С у женщин с НС-вирусной инфекцией в зависимости от возраста (по данным лаборатории диагностики СПИД МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского)

У женщин до 40 лет с наибольшей частотой также определялись подтипы 3a/3b – у 44,4±7,4% пациенток, подтип 1b выявлен у 35,7±7,1%. Обратная ситуация зафиксирована у пациенток старше 40 лет: подтип 1b доминировал у 69,9±4,7%, тогда как частота определения подтипов 3a/3b составляла лишь 13,5±3,5%, почти не отличаясь от частоты определения генотипа 2-го типа – 10,4±3,1%.

Представляют интерес имеющиеся различия в территориальном распределении отдельных подтипов вирусов гепатита С на территории Московской области. Сравнению подверглись наиболее часто встречающиеся подтипы вирусов – 1b и 3a/3b. В общей сложности эти подтипы были определены у 248 пациентов: у 156 из них отмечен подтип 1b (62,9±3,1%) и у 92 (37,1±3,1%) – 3a/3b (рис. 5). Вместе с тем, в трех медицинских округах (5, 7 и 11), расположенных на Северо-Западе, Западе и Юго-Западе от Москвы, удельный вес указанных подтипов отличался от средних величин по Московской области. В этих округах выполнено генотипирование вирусов гепатита С у 66 пациентов, и подтип 1b обнаружен в 47,0±6,1%, а подтипы 3a/3b – в 53,0±6,1% случаев. В остальных девяти медицинских округах выявлено существенное преобладание подтипа 1b, который обнаружен у 68,7±3,4% пациентов, тогда как подтипы 3a/3b – лишь в 31,3±3,4%. Различия в удельном весе данных генотипов в сравниваемых медицинских округах Московской области достоверны. Частота встречаемости подтипа 1b в девяти медицин-

ских округах выше, а подтипов 3a/3b ниже, чем в 5, 7 и 11-м медицинских округах ( $t=3,1$ ;  $p<0,05$ ).

Согласно существующей в настоящее время точке зрения, основанной на результатах исследований в ряде регионов Российской Федерации [1, 2, 3, 9], наличие подтипа 3a у пациентов с хроническим гепатитом С коррелирует с употреблением наркотиков. Более высокая превалентность подтипов 3a/3b в группе районов Московской области, с нашей точки зрения, может свидетельствовать о более активном (по сравнению с остальными) пути передачи на этих территориях вируса гепатита С, ассоциированным с внутривенным введением наркотических препаратов.

Таким образом, в рамках данного исследования определены основные закономерности распространения отдельных генотипов и подтипов вируса гепатита С в Московской области среди пациентов с хроническим гепатитом С.

1. Установлено, что в исследуемой группе пациентов наибольший удельный вес имеют подтипы 1b и 3a/3b, тогда как остальные генотипы и подтипы определены со значительно меньшей частотой.

2. Выявлены различия в структуре генотипов и подтипов вирусов, циркулирующих на территории Московской области, среди мужчин и женщин с хроническим гепатитом С. При общем преобладании подтипа 1b в группе мужчин чаще, чем у женщин, определялись подтипы 3a/3b, а в группе женщин чаще, чем у мужчин, – подтип 1b.

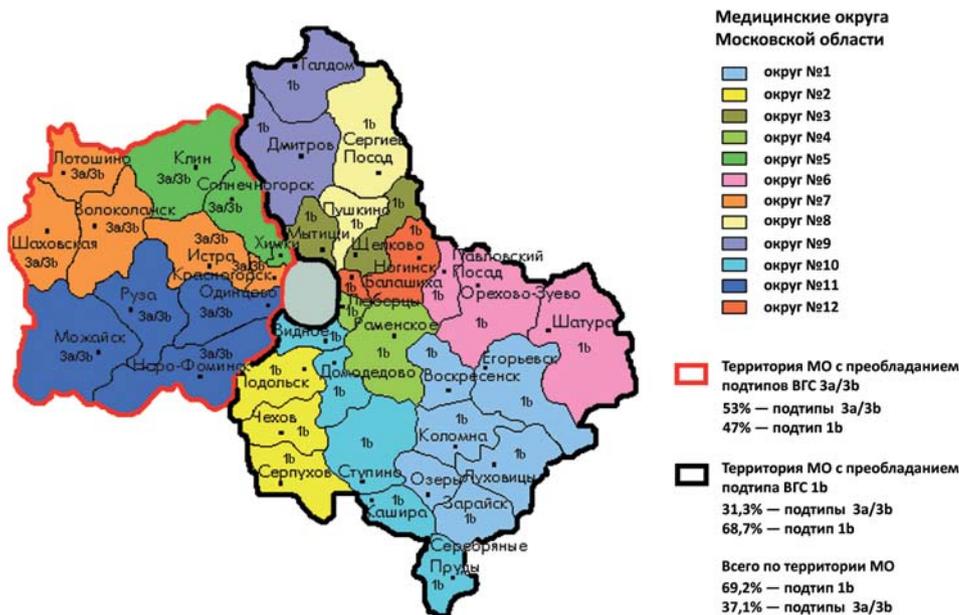


Рис. 5. Соотношение основных генотипов вирусов гепатита С (1b и 3a/3b) в медицинских округах Московской области в 2008 г. (по данным лаборатории диагностики СПИД МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского)

3. У пациентов в возрасте до 40 лет, независимо от половой принадлежности, с наибольшей частотой определялись подтипы 3a/3b.

4. Выявлена территориальная неравномерность в пределах Московской области в частоте определения подтипов 1b и 3a/3b: в медицинских округах 5, 7 и 11, расположенных на Северо-Западе, Западе и Юго-Западе от Москвы, с большей частотой определены подтипы 3a/3b и с меньшей – 1b.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. *Ершова О.Н.* Современные проявления эпидемического процесса гепатита С, активность естественных путей передачи и совершенствование профилактики этой инфекции: Автореф. дис. ... докт. мед. наук. М., 2006.
2. *Кириллова И.Л.* Закономерности распространения вирусов гепатитов с парентеральным механизмом передачи среди населения Северного района России: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2003.
3. *Кузин С.Н., Крель П.Е., Мамонова Н.А.* и др. Структура генотипов вируса гепатита С у пациентов с хроническим гепатитом С в Москве // Вирусные гепатиты – эпидемиология, диагностика, лечение и профилактика. М., 2007. С.42-43.
4. *Львов Д.К., Самохвалов Е.И., Миширо С.* и др. Закономерности распространения вируса гепатита С и его генотипов в России и странах СНГ // Вопр. вирусол. 1997. №4. С.157-161.
5. *Садикова Н.В.* Вирусные гепатиты В и С в Российской Федерации: количественные характеристики эпидемического процесса и значение лабораторных технологий в профилактике этих инфекций: Автореф. дис. ... докт. мед. наук. М., 2008.
6. *Садикова Н.В., Шуляк Ю.А., Зверяева И.К.* и др. Широта распространения маркеров вирусных гепатитов В и С среди пациентов специализированных детских учреждений // ЖМЭИ. 2006. №7. С.27-31.
7. *Соринсон С.Н.* Вирусные гепатиты в клинической практике. СПб., 1996. 306 с.
8. *Шахгильдян И.В., Михайлов М.И., Онищенко Г.Г.* Парентеральные вирусные гепатиты (эпидемиология, диагностика, профилактика). М., 2003. 383 с.
9. *Шустов А.В., Кочнева Г.В., Сиволобов Г.Ф.* и др. Встречаемость маркеров, распределение генотипов и факторы риска вирусного гепатита С среди некоторых групп населения Новосибирской области // ЖМЭИ. 2004. №5. С.20-25.
10. *Buch J., Purcell R.H., Miller R.H.* et al. At least 12 genotypes of hepatitis C virus predicted by sequence analysis of the putative E1 gene of isolates collected worldwide // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1993. V.90. P.8234-8238.
11. *Choo Q.-L., Kuo G., Weiner A.J.* et al. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome // Science. 1989. V.244. P.359-362.
12. *Leroux-Roels G.* Development of prophylactic and therapeutic vaccines against hepatitis C virus // Expert. Rev. Vaccines. 2005. V.4(3). P.351-371.
13. *Lvov D.K., Samokhvalov E.I., Tsuda F.* et al. Prevalence of hepatitis C virus and distribution of its genotypes in Northern Eurasia // Arch. Virol. 1996. V.141. P.1613-1622.
14. *Maertens G., Stuyver L.* Genotypes and variation of hepatitis C virus // The molecular medicine of viral hepatitis / eds. T.J. Harrison, A.J. Zuckerman. 1997. P.183-233.
15. *McOmish F., Yap P.L., Dow B.C.* et al. Geographical distribution of hepatitis C virus genotypes in blood donors: an international collaborative survey // J. Clin. Microbiol. 1994. V.32. P.884-892.
16. *Rothman A.L., Morishima C., Bonkovsky H.L.* et al. Associations among clinical, immunological and viral quasispecies measurements in advanced chronic hepatitis C // Hepatology. 2005. V.41, No.3. P.617-625.
17. *Simmonds P., Holmes E.C., Cha T.A.* et al. Classification of hepatitis C virus six major genotypes and a series of subtypes by phylogenetic analysis of the NS-5 region // J. Gen. Virol. 1993. V.74. P.2391-2399.
18. *Viazov S.O., Kuzin S.N., Paladi N.* et al. Hepatitis C virus genotypes in different regions of the former Soviet Union (Russia, Belarus, Moldova and Uzbekistan) // J. Med. Virol. 1997. V.53. P.36-40.