

ВЛИЯНИЕ ГЕНОТИПА ВИРУСА ГЕПАТИТА С НА УРОВЕНЬ ВИРУСНОЙ НАГРУЗКИ И КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ПОРАЖЕНИЯ ПЕЧЕНИ

Шулятьев И. С., Борунова Ж. В., Шапошникова Н. Н., Носкова К. К., Дроздов В. Н.

ГУ Центральный научно-исследовательский институт гастроэнтерологии ДЗ г. Москвы

Шулятьев Илья Сергеевич

111123, Москва, шоссе Энтузиастов, д. 86

Тел.: 8 (495) 304 0070

E-mail: shuliatev@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

Цель — изучить влияние генотипа HCV на клинические особенности течения хронического гепатита и цирроза печени.

Материал и методы. Было обследовано на наличие вируса гепатита С 9715 больных, находящихся на лечение в гастроэнтерологическом стационаре, у 365 больных обнаружена РНК вируса гепатита С. Генотипирование было выполнено 210 больным. Количественный анализ 193 больным. Определялись биохимические маркеры цитолитического синдрома (АЛТ, АСТ), холестаза (ЩФ, билирубин), активность ГГТП в крови больных.

Результаты и обсуждение. Частота вирусной инфекции, подтвержденной данными ПЦР-анализа у этой группы больных, составляет 3,7% (3,3 – 4,195% ДИ). Встречаемость генотипов вируса гепатита С составляет для 1-го генотипа 61,4% (54,7 – 68,1; 95% ДИ), для 2-го генотипа — 10,9% (6,7 – 15,2; 95% ДИ) и 3-го генотипа — у 27,6% (21,5 – 33,7; 95% ДИ). Вирусная нагрузка достоверно выше ($p < 0,05$) отмечалась при 3-м типе ВГС и составляла $8,08 \pm 15,6$ млн МЕ, по сравнению с больными с 1-м и 2-м генотипом: $4,5 \pm 11,3$ и $3,7 \pm 10,3$ млн МЕ. Также среди больных с 3-м генотипом ВГС высокая вирусная нагрузка (более 800 тыс. МЕ/мл) достоверно чаще встречалась у 50% больных, в то время как среди больных с 1-м генотипом ВГС таких больных было 22%, а со 2-м генотипом ВГС — 26% ($\chi^2 = 13,0$; $p = 0,001$). Достоверно чаще среди больных с вирусной нагрузкой более 2,5 млн МЕ/л встречались мужчины (критерий Фишера $p = 0,03$), также у мужчин чаще встречался 3-й генотип гепатита С ($p < 0,005$).

Генотип достоверно не повлиял на показатели цитолитического и холестатического синдромов. У больных с низкой вирусной нагрузкой (менее 800 тыс. МЕ/мл) достоверно слабее выражен цитолитический синдром, АЛТ был достоверно ниже ($p < 0,05$), по активности АСТ достоверной статистической разницы не отмечалось. Также достоверно при высокой вирусной нагрузке (более 800 тыс. МЕ/мл) была выше активность ГГТП ($p < 0,05$).

Выводы. Таким образом, по нашим данным, среди больных в нашем стационаре чаще выявляется 3-й генотип вируса гепатита С, чем среди популяции РФ. Установленные гендерные особенности встречаемости 3-го генотипа требуют дальнейшего изучения для уточнения роли пола или других факторов, сопутствующих увеличению его распространенности. Наличие 3-го генотипа вируса гепатита С сопровождается более высокой вирусной нагрузкой и, вероятно, дополнительным токсическим эффектом на гепатоциты.

SUMMARY

Aim of the work was to examine the influence of HCV genotype on the clinical features of chronic hepatitis and cirrhosis.

Materials and methods. Were examined 9.715 patients under treatment in hospital gastroenterological for the presence of hepatitis C virus. In 365 patients was found HCV RNA. At 210 patients was performed genotyping. Was performed a quantitative analysis of 193 patients. There were determined cytolytic syndrome (ALT, AST), cholestatic (alkaline phosphatase, bilirubin), the activity of GGT in the blood of patients by biochemical markers.

Results and discussion. The frequency of virus infection, confirmed by PCR analysis of data from this group of patients was 3.7% (95% CI 3.3–4.1). Occurrence of genotypes of hepatitis C was for 1 genotype 61.4% (54.7–68.1, 95% CI) for the 2-th genotype — 10.9% (6.7–15.2; 95% CI) and the third genotype — at 27.6% (21.5–33.7, 95% CI). Viral load was significantly higher ($p < 0.05$) at 3-m type of HCV and was amounted to 8.08 ± 15.6 million IU, compared with patients with 1 st and 2 nd genotype: 4.5 ± 11.3 and 3.7 ± 10.3 MIU. Also among patients with genotype 3 HCV viral load was (more than 800 thousand IU/ml) significantly more frequent in 50% of patients, whereas among patients with genotype 1 HCV, such patients was 22% and from 2 th HCV genotype — 26% ($\chi^2 = 13.0, p = 0.001$). Significantly more frequent among patients with viral load more than 2.5 million IU/l at men (Fisher's test $p = 0.03$), as men often had the third genotype of hepatitis C ($p < 0.005$).

Genotype was not significantly affected the performance of cytolytic and cholestatic syndromes. In patients with low viral load (less than 800 thousand IU/ml) was significantly less pronounced cytolytic syndrome, ALT was significantly lower ($p < 0.05$), the AST activity of reliable statistical difference was noted. Also significantly under high viral load (more than 800 thousand IU/ml) was higher than the activity of GGT ($p < 0.05$).

Conclusions. Thus, our data showed that among the patients in our hospital were more prevalent third genotype of hepatitis C virus than among the population of the Russian Federation. Gender particular occurrence of the third genotype require further study to clarify the role of gender or other factors, concomitant increase in its prevalence. The presence of the third genotype of hepatitis C virus was accompanied by a high viral load, and probably an additional toxic effect on hepatocytes.

В РФ, как и во всем мире, проблема хронического вирусного гепатита С остается одной из наиболее социально значимых. В развитых странах распространенность вирусного гепатита С (ВГС) составляет около 2%, а во всем мире может достигать 130–200 млн [1; 2] человек. В РФ распространенность хронического вирусного гепатита С составляет 129,6 на 100 тыс. населения [3]. Однако точное представление об истинной эпидемиологии носительства этих вирусов в РФ получить практически невозможно в связи с большими различиями инфицированности в различных регионах и среди различных групп населения. Известно более 6 основных генотипов вируса гепатита С, в РФ более чем в 99% случаев встречаются генотипы 1, 2 и 3. В связи с тем что прогностически субтипы вирусов малозначимы, в настоящее время при исследовании достаточно ограничиваться только определением генотипов. По данным различных исследователей, в популяции преимущественно более 80% выявляется 1 генотип вируса гепатита С, реже — 2-й генотип (у 4,5–5%) и 3-й генотип (12–14%) [4; 5].

Особую проблему в РФ составляет вопрос определения качественного и количественного содержания РНК вируса гепатита С в крови, а также генотипирование в связи с тем, что эти анализы в большинстве случаев выполняются на коммерческой основе и наиболее часто в случае планирующейся противовирусной терапии, которая назначается молодым людям с клинически значимыми изменениями в биохимических анализах крови.

В нашем исследовании мы проанализировали распространенность хронической инфекции,

вызванной вирусом гепатита С, во всех отделениях ЦНИИ гастроэнтерологии за 2009 год. Отсутствие специализированной госпитализации для обследования и лечения хронического вирусного гепатита позволяет экстраполировать полученные данные на гастроэнтерологические отделения стационаров Москвы для расчета ожидаемого количества больных с хроническим вирусным гепатитом С.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

За 2009 год в ЦНИИ гастроэнтерологии было проведено иммунологическое обследование на наличие антител к вирусу гепатита С у 9715 человек. В случае выявления у больных маркеров вирусных гепатитов или по клиническим показаниям кровь больных направлялась в ПЦР лабораторию для исследования на РНК ВГС. При необходимости больным проводилось определение генотипа вируса, а также количественное исследование РНК HCV. Исследование проводилось с помощью *Realtime PCR* на амплификаторе аппарате *Smartsyler II* фирмы *Serphede*. Использовались реактивы производства *Интерлабсервис*.

Статистическая обработка результатов исследования проводилась при помощи пакетов статистических программ *Statistika 6.0* и *Biostat*. Рассчитывались средние значения и сигма для количественных значений и доля в % для качественных характеристик. Для выявления разности параметрических критериев использовался критерий *t*, рассчитанный по методу Стьюдента или Ньюмена – Кейлса. Для непараметрических

критериев определялся хи-квадрат, критерий Фишера, критерий Крускала – Уолиса или Манна-Уитни. Достоверность разницы полученных значений принимали при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ

Из 9715 больных проходивших обследование и лечение в ЦНИИГ, антитела к вирусу гепатита С (anti-HCV) оказались положительными у 653 (6,7%) больных. В лабораторию ПЦР в течении года была направлена кровь 410 больных: у 363 были выявлены anti-HCV и 47 больных были направлены на исследование по клиническим показаниям при отсутствии иммунологических маркеров для исключения острого вирусного гепатита. РНК ВГС выявлено у 263 (72%) больного, у 100 (28%) человек с антителами к ВГС маркеров репликации выявлено не было. Ни у одного из больных, направленных на исследование по клиническим показаниям при отсутствии иммунологических маркеров вирусной инфекции, маркеры репликации выявлены не были. Генотипирование было выполнено 210 больным. Распределение представлено следующим образом (рис. 1).

Как видно из представленной диаграммы, в структуре генотипов, как и по данным других исследователей, преобладает 1-й генотип вируса гепатита С. Вторым по частоте встречаемости оказался 3-й генотип — 27,7%, и наиболее редко встречался 2-й генотип — лишь в 10,9% случаев. Наши результаты в целом соответствовали литературным данным, но частота встречаемости генотипов 2 и 3 среди РНК-положительных по ВГС была более чем в 2 раза выше.

Был проведен анализ вирусной нагрузки, возраста и гендерного состава больных в подгруппах, сформированных по генотипу ВГС (табл. 1).

Достоверной разницы в возрасте больных не отмечалось. В группе больных с 3-м генотипом ВГС достоверно чаще встречались мужчины ($\chi^2 = 8,3; p = 0,016$). Вирусная нагрузка также достоверно выше ($p < 0,05$) отмечалась при 3-м типе ВГС, чем у больных с 1 и 2 генотипом, разницы вирусной нагрузки между 1 и 2 генотипом достоверно отмечено не было ($p = 0,8$). Среди больных с 3 генотипом ВГС высокая вирусная нагрузка (более 800 тыс. МЕ/мл) встречалась достоверно чаще у 50% больных, в то время как среди больных с 1 генотипом ВГС таких больных было 22%, а со 2 генотипом ВГС 26% ($\chi^2 = 13,0; p = 0,001$).

Показатели цитолитического (АЛТ и АСТ), а также холестатического синдрома (ЩФ, ГГТП, билирубин) у больных с различным генотипом ни по одному показателю достоверно не отличались.

При анализе вирусной нагрузки у мужчин и женщин независимо от генотипа была отмечена более высокая вирусная нагрузка у мужчин, но разница значений была недостоверной (табл. 2).

Достоверно различались лишь средние значения ГГТП, 135 ± 149 МЕ/л у мужчин и 54 ± 45 МЕ/л у женщин ($p < 0,05$), что, вероятно, связано с большим риском сочетанного алкогольного поражения печени среди мужчин с ВГС.

Для уточнения роли вирусной нагрузки в клинических проявлениях больные были разделены нами на 2 классические группы (табл. 3). Первая группа — больные с низкой вирусной нагрузкой (до 800 тыс. МЕ/мл), вторая группа — с высокой вирусной нагрузкой (более 800 тыс. МЕ/мл).

У больных с низкой вирусной нагрузкой достоверно менее выражен цитолитический синдром — АЛТ была достоверно ниже ($p < 0,05$), по активности

Таблица 1

ВИРУСНАЯ НАГРУЗКА И БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ПЕЧЕНИ У БОЛЬНЫХ С РАЗЛИЧНЫМ ГЕНОТИПОМ ВГС.				
Показатели	Всего (n=261)	Генотип 1 (n=129) 61,4%	Генотип 2 (n=23) 10,9%	Генотип 3 (n=58) 28,3%
М/Ж	123/87	69/60	11/12	43/15
Возраст	49 ± 15	51 ± 15	55 ± 12	52 ± 13
Вирусная нагрузка (МЕ/мл)	4534470 ± 11338387	3756353 ± 10362926*	3482173 ± 5929123*	8083705 ± 15611529*
АЛТ (МЕ/л)	91 ± 87	89 ± 87	90 ± 82	103 ± 101
АСТ (МЕ/л)	79 ± 67	79 ± 69	82 ± 58	76 ± 74
ЩФ (МЕ/л)	91 ± 38	94 ± 37	95 ± 54	91 ± 39
ГГТП (МЕ/л)	99 ± 146	98 ± 121	74 ± 107	92 ± 121
Билирубин (мкмоль/л)	22 ± 14	23 ± 15	17 ± 11	20 ± 13

Таблица 2

ГЕНДЕРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ВИРУСНОЙ НАГРУЗКИ И БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ПЕЧЕНИ У БОЛЬНЫХ С ХРОНИЧЕСКИМ ГЕПАТИТОМ С.		
Показатели	Мужчины (n=147)	Женщины (n=115)
Возраст	45±15	54±14
Вирусная нагрузка (МЕ/мл)	5827456±12956626	2805297±8491019
АЛТ (МЕ/л)	97±85	84±90
АСТ (МЕ/л)	78±60	80±75
ЩФ (МЕ/л)	91±38	91±37
ГГТП (МЕ/л)	129±176*	62±79*
Билирубин (мкмоль/л)	23±15	20±14

Таблица 3

БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ПЕЧЕНИ У БОЛЬНЫХ ВГС С РАЗЛИЧНОЙ ВИРУСНОЙ НАГРУЗКОЙ		
Показатели	Менее 800 тыс. МЕ/мл (n=138)	Более 800 тыс. МЕ/мл (n=55)
М/Ж	74/64	37/18
Возраст	47±15	47±12
Вирусная нагрузка (МЕ/мл)	843956±918905	13789657±18310785
АЛТ (МЕ/л)	83±77*	128±125*
АСТ (МЕ/л)	77±61	100±92
ЩФ (МЕ/л)	92±41	93±35
ГГТП (МЕ/л)	81±94*	153±228*
Билирубин (мкмоль/л)	22±16	22±12

Таблица 4

БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ПЕЧЕНИ У БОЛЬНЫХ ВГС С ВИРУСНОЙ НАГРУЗКОЙ БОЛЕЕ 2,5 МЕ/МЛ.		
	800000 – 2,5 млн МЕ/мл (n=37)	Более 2,5 МЕ/мл (n=18)
М/Ж	21/16	16/2
Возраст	46±12	48±12
Вирусная нагрузка (МЕ/мл)	5410924±1798428	31012609±24316645
АЛТ (МЕ/л)	130±133	124±111
АСТ (МЕ/л)	101±98	97±81
ЩФ (МЕ/л)	93±29	93±45
ГГТП (МЕ/л)	151±248	156±192
Билирубин (мкмоль/л)	23±14	18±8

АСТ достоверной статистической разницы не отмечалось. Также достоверно при высокой вирусной нагрузке была выше активность ГГТП ($p < 0,05$), что может свидетельствовать как о более выраженном собственно токсическом действии высоких концентраций вируса на печень, так и возможном проявлении сочетанного токсического эффекта вируса и алкоголя, так как нельзя исключить, что у больных с ХГС, употребляющих алкоголь, выявляется более

высокая вирусная нагрузка, однако данный факт требует дальнейшего изучения.

В связи со значительной гетерогенностью данных о вирусной нагрузке во второй группе больных (с вирусной нагрузкой более 800 тыс. МЕ/мл) она была нами условно разделена на подгруппу больных со средней вирусной нагрузкой (800 тыс. — 2,5 млн МЕ/мл) и подгруппу больных с очень высокой вирусной нагрузкой (более 2,5 млн МЕ/мл).

Достоверно чаще среди больных с вирусной нагрузкой более 2,5 млн МЕ/л встречались мужчины (критерий Фишера $p = 0,03$). Достоверной разницы в биохимических показателях в этих подгруппах не обнаружено. На основании анализа этих данных можно с уверенностью сказать о нецелесообразности выделения из группы больных ВГС с очень высокой вирусной нагрузкой, так как клинической значимости это не имеет.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам проведенного исследования в гастроэнтерологическом стационаре положительные иммунологические маркеры гепатита С встречаются у 6,7% (6,1 – 7,3; 95% ДИ). Частота вирусной инфекции, подтвержденной данными ПЦР-анализа, у этой группы больных составляет 72% (67,3 – 76,7; 95% ДИ). Встречаемость генотипов вируса гепатита С составляет для 1-го генотипа 61,4% (54,7 – 68,1; 95% ДИ), для 2-го генотипа — 10,9% (6,7 – 15,2; 95% ДИ) и 3-й генотип — у 27,6% (21,5 – 33,7; 95% ДИ). Таким образом, по нашим данным, среди больных в ЦНИИ гастроэнтерологии чаще выявляется 3-м генотипом вируса гепатита С, чем среди популяции РФ.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Mueller S., Millonig G., Seitz H.K.* Alcoholic liver disease and hepatitis C: a frequently underestimated combination. Department of medicine and center for alcohol research, liver disease and nutrition, University of Heidelberg, Zeppelinstrasse, 11–33, 69121. Heidelberg, Germany // *World J. Gastroenterol.* — 2009. — Vol. 15, № 28. — P. 3462–3471. sebastian.mueller@urz.uni-heidelberg.de PMID: 19630099
2. *Armstrong G.L., Wasley A., Simard E.P. et al.* The prevalence of hepatitis C virus infection in the United States, 1999 through 2002 // *Ann. Intern. Med.* — 2006. — Vol. 144. — P. 705–714.
3. *Шаханина И.Л., Радутко О.И.* Вирусные гепатиты в России: официальная статистика и экономические потери // *Вирусные гепатиты.* — 2001. — Т. 18, № 6. — С. 5–9.

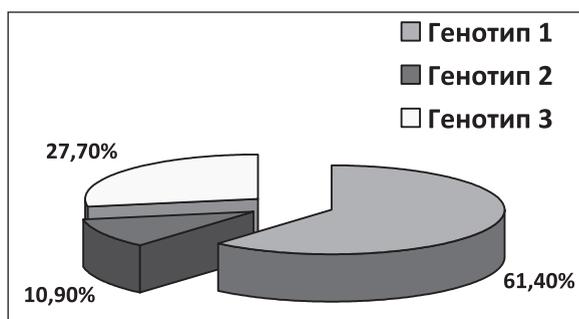


Рис. 1. Распределение больных позитивных по РНК ВГС по генотипам

Среди больных с 3 генотип гепатита С достоверно чаще встречались мужчины, отмечались более высокая вирусная нагрузка и достоверно более высокие показатели активности ГГТП в крови.

Установленные гендерные особенности встречаемости вируса гепатита С 3-го генотипа требуют дальнейшего изучения для уточнения роли пола, наличия сочетанного с вирусным алкогольного поражения печени или других факторов, сопутствующих увеличению его распространенности.

4. *Oliveira-Filho A.B., Pimenta A.S., Rojas M.F. et al.* Prevalence and genotyping of hepatitis C virus in blood donors in the state of Para, Northern Brazil // *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* — 2010. — Vol. 105, № 1. — P. 103–106. PMID: 20209338.
5. *Maieron A., Metz-Gercek S., Hackl F. et al.* Chronic hepatitis C in Austria, 1992–2006: genotype distribution and demographic factors // *Euro Surveill.* — 2010. — Vol. 15, № 8. pii: 19492. PMID: 20197021.
6. *Te H.S., Jensen D.M.* Epidemiology of hepatitis B and C viruses: a global overview // *Clin. Liver Dis.* — 2010. — Vol. 14, № 1. — P. 1–21, vii. PMID: 20123436.
7. *World health organization strategy for control of Hepatitis // Control of virus disease / Ed. E. Kurstan.* — 2nd ed. — N.-Y. Ghendon Y. Z.: Marcel Dekker Inc., 1993. — P. 141–164.