

Мицура В. М.

*Гомельский государственный медицинский университет,
Беларусь*

Воропаев Е. В.

*Гомельский государственный медицинский университет,
Беларусь*

Жаворонок С. В.

*Белорусский государственный медицинский университет,
г. Минск*

ПОЛИМЕРАЗНАЯ ЦЕПНАЯ РЕАКЦИЯ И ЕЕ ЗНАЧЕНИЕ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ХРОНИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА

Вирус гепатита С (НСV) поражает от 1 % до 2 % населения Беларуси и России, преимущественно вызывая хронический гепатит С (ХГС). Для скрининга инфекции используют определение антител методом иммуноферментного анализа. Полимеразная цепная реакция (ПЦР) используется для подтверждения инфицированности (качественный тест), вирусной нагрузки (количественный тест) и определения генотипа вируса (для выбора длительности противовирусного лечения). Изучение последовательности нуклеотидов (секвенирование) генома вируса на основе ПЦР используется преимущественно в научных целях.

Цель: определение генотипа вируса, вирусной нагрузки и нуклеотидной последовательности НСV в зоне NS3 методом ПЦР и их клинического значения для пациентов с ХГС в Беларуси.

Материалы и методы. Проанализирована встречаемость различных генотипов НСV у 94 больных ХГС, из них генотип 1b выявлен у 49 (52,1 %), 1a — у 2 (2,1 %), 3 — у 34 (36,2 %), 2 — у 5 (5,3 %), два генотипа 1b+3a — у 1 (1,1 %), 2a+3a — у 2 (2,1 %), три генотипа 1b+2a+3a — у 1 пациента (1,1 %). Среди лиц с генотипом 1 НСV преобладали мужчины (75,5 %), у лиц с генотипами НСV 2 или 3 — женщины (53,7 %); различия статистически значимы ($\chi^2 = 8,39$; $p = 0,004$).

Оценивалось количество РНК НСV у больных ХГС («вирусная нагрузка»). Значения вирусной нагрузки колебались от 1500 МЕ/мл до 19 804 400 МЕ/мл (медиана 89500 МЕ/мл, 25–75 % 86 000–1 289 700 МЕ/мл). У лиц с 1 генотипом медиана вирусной нагрузки составила 318 700 МЕ/мл, у лиц со 2 и 3 генотипами — 226 800 МЕ/мл. Статистически значимых различий не выявлено ($p = 0,47$; тест Манна–Уитни).

Оценивались результаты лечения препаратами альфа-интерферона (стойкий вирусологический ответ, СВО). Всего СВО оценивался у 70 больных. Для оценки влияния различных факторов (генотип НСV, вирусная нагрузка) на эффективность терапии использовалось отношение шансов (ОШ) и его 95 % доверительный интервал (ДИ). СВО чаще достигался у пациентов со 2 или 3 генотипами НСV (ОШ 4,6; 95 % ДИ 1,6–13,3; $p = 0,003$), зависимости от исходной вирусной нагрузки не выявлено (ОШ 0,6; 95 % ДИ 0,2–1,8; $p = 0,35$).

Результаты и обсуждение. Генотип 1b является самым распространенным в Республике Беларусь и хуже поддается противовирусному лечению препаратами интерферона, поэтому он был выбран для анализа нуклеотидной последовательности локуса NS3 HCV. Вирус был выделен от 19 пациентов с ХГС. Идентификация изолятов была проведена с помощью программы BLAST в базе данных NCBI и HCV Sequence Database. Нуклеотидные последовательности изученных нами образцов зарегистрированы в международной базе данных GenBank. Они отличаются от изолятов из базы данных GenBank и составляют отдельный кластер, что, возможно, говорит об уникальности штаммов 1b субтипа, выделенных от пациентов в Беларуси.

При анализе нуклеотидной последовательности локуса NS3 у лиц, ответивших и не ответивших на терапию интерфероном, различий не обнаружено.

Для оценки возможного влияния полиморфизма NS3 гена HCV на скорость прогрессирования заболевания выделены группы больных с ранним развитием цирроза печени после заражения (12–18 лет, $n = 5$) и без признаков цирроза печени со стажем инфекции более 15 лет ($n = 4$). Проанализированные образцы от пациентов с быстрым прогрессированием болезни характеризуются минимальными отличиями. Полиморфизм образцов от пациентов с медленным прогрессированием болезни был более выраженным.

Заключение. Таким образом, метод ПЦР позволяет определять важные при ХГС клинические параметры: генотип HCV, вирусную нагрузку. Преобладание генотипа 1, который хуже поддается лечению интерфероном, диктует необходимость изучения свойств вируса методом ПЦР-секвенирования. С помощью этого метода можно изучать молекулярную эпидемиологию HCV-инфекции и разрабатывать новые подходы к лечению (создание препаратов «прямого противовирусного действия»).