

Д.Е. Данилов¹, В.Ф. Еремин², И.А. Карпов¹

ВИРУСНЫЙ ГЕПАТИТ «С» У ПАЦИЕНТОВ С ГЕМОФИЛИЕЙ

УО «Белорусский государственный медицинский университет»¹,

ГУ «Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии»²

Приведены особенности течения хронического вирусного гепатита С у пациентов с гемофилией; представлен филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей вируса гепатита С, выделенных у пациентов с гемофилией в различных регионах Республики Беларусь.

Ключевые слова: *хронический вирусный гепатит С, гемофилия, филогенетический анализ.*

D.E. Danilov¹, V.F. Eremin², I.A. Karpov¹

VIRAL HEPATITIS «C» AT PATIENTS WITH THE HEMOPHILIA

Features of a chronic HCV at patients with hemophilia are resulted; the phylogenetic analysis nucleotide sequences of HCV, allocated at hemophiliacs in various regions of Republic of Belarus are presented.

Key words: *chronic viral hepatitis C (HCV), hemophilia, phylogenetic analysis.*

Парентеральные вирусные гепатиты представляют серьезную проблему для здравоохранения и служат ведущей причиной хронической патологии печени у больных гемофилией А и В.

Около 170 млн. человек в мире инфицированы вирусным гепатитом С. Риск хронизации составляет 75-85%. У части пациентов хронический вирусный гепатит С (ХВГС) формируется после перенесенного острого вирусного гепатита С (ОВГС), в других случаях

можно диагностировать ОВГС, но не более, чем в 10-15% случаев. ХВГС имеет широкий диапазон клинических проявлений - от форм с минимальной активностью процесса до тяжелых прогрессирующих, с развитием цирроза и первичной гепатоцеллюлярной карциномы. Риск цирроза печени составляет 10% за 20 лет, 20% за 30 лет после инфицирования. Цирроз-ассоциированная летальность - до 5% в год. До 4% больных с циррозом имеют риск развития гепатоцеллюлярной карциномы.

ХВГС длительное время протекает по типу персистирующего с минимально выраженными клиническими и биохимическими признаками активности процесса, что является причиной поздней диагностики. Морфологические изменения в печени при ХВГС нередко не соответствуют клинико-биохимическим, и даже цирроз печени может протекать бессимптомно.

Существуют факторы, способствующие более быстрому прогрессированию болезни: возраст старше 50 лет, состояние иммунной системы, хронический алкоголизм (более частый у больных гемофилией), наркомания, инфицирование другими гепатотропными вирусами, ВИЧ. При прогрессировании инфекции заболевание может протекать с признаками выраженной активности хронического гепатита или цирроза печени.

У 50-55% пациентов с ХВГС наблюдаются преимущественно признаки хронического поражения печени - увеличение печени, астенический синдром, волнообразное повышение активности АЛТ в 1,5-3 раза; у 40-45% больных, наряду с печеночными, отмечаются внепеченочные проявления. Внепеченочная репликация в клетках костного мозга, крови, лимфатических узлов, селезенки, не контролируемых иммунными - существенный механизм ускользания вируса от иммунного надзора. Мультивариантная изменчивость вируса намного превышает функциональные возможности Т- и В-клеток распознать непрерывно обновляющиеся структуры антигенов.

ХВГС у пациентов с гемофилией, с длительным парентеральным анамнезом, в большинстве случаев характеризуется малосимптомным течением, низкой биохимической активностью в виде минимального повышения уровня АЛТ при отсутствии значимых изменений других показателей нарушения функции печени, однако у большей части пациентов отмечается высокая вирусная нагрузка, которая не коррелирует с клиническими проявлениями. Возможно, инфицирование ВГС в раннем возрасте приводит к вирусной иммунотолерантности, усиливающейся развитием вторичного иммунодефицита вследствие многократных кровопотерь, переливаний крови и ее компонентов. Клинико-лабораторные проявления ХВГС не связаны с тяжестью гемофилии по основным показателям гемостаза. При этом относительная независимость течения ВГС от выраженности врожденной коагулопатии подтверждает основную значимость влияния инфицирования в раннем детском возрасте на выраженность манифестации и темпы прогрессирования вирусного гепатита С.

В Республике Беларусь под наблюдением гематологов находятся свыше 700 пациентов с различными видами гемостазиопатий (гемофилия А, В, С, болезнь Виллебранда, редкие виды заболеваний - дефицит XII фактора, гипопроконвертинемия), в том числе около 500 человек - взрослые пациенты, страдающие различными формами гемофилии. Согласно данным литературы, инфицированность парентеральными вирусными гепатитами при тяжелой форме гемофилии А и В превышает 90%.

По данным, полученным из амбулаторных карт, от 27% до 42% (в зависимости от региона) пациентов с гемофилией в Республике Беларусь инфицированы парентеральными вирусными гепатитами, в структуре которых ВГС занимает до 86%. Процент инфицированности возрастает пропорционально степени тяжести гемофилии.

Для данной группы пациентов затруднено исследование морфологической активности и степени фиброза в печени. Есть определенные трудности и в проведении этиотропной терапии ХВГС пациентам с гемофилией. Лечение длительное, курс лечения составляет от 6 до 12 месяцев, а поскольку введение интерферона производится подкожно, на фоне выраженных изменений гемостаза при тяжелых формах гемофилии такие инъекции могут сопровождаться необходимостью введения фактора свертывания, что сопряжено с большими финансовыми затратами. Соответственно, нужна оптимизация схемы этиотропной терапии с учетом фармакоэкономических параметров, использование интерферонов пролонгированного действия.

Материалы и методы

Для выполнения исследования взрослым пациентам с гемофилией из различных областей Республики Беларусь было

предложено по желанию сдать кровь на наличие парентеральных вирусных гепатитов и ВИЧ-инфекции. С целью выявления источников инфицирования проведен анализ нуклеотидных последовательностей вируса гепатита С путём секвенирования РНК, выделенной из крови инфицированных пациентов. Все образцы крови прошли тестирование (ИФА) на наличие антител к ВГС, ВГВ, ВИЧ: для определения маркеров ВГС и ВИЧ использовали иммуноферментные тест-системы производства ЗАО «Вектор-Бест» (Россия) («КомбиБест ВИЧ-1,2 АГ/АТ» и «Бест анти-ВГС»). Для определения маркеров ВГВ (anti-HBcore, HBs Ag) использовали иммуноферментные тест-системы производства «Диагностические системы» (Россия). Выделение РНК ВГС проводили с использованием коммерческого набора «РНК-сорб» (Россия) согласно прилагаемой инструкции. ПЦР в гнездовом варианте проводили на амплификаторе «Corbet Research» (Австралия) в два этапа в объеме 25 мкл. Праймеры были синтезированы в ОДО «Праймтех» (Беларусь). Для проведения секвенирующей ПЦР применяли набор «BigDye terminators v.3.1» («Applied Biosystems», США), продукты амплификации очищали ацетатно-спиртовой преципитацией. Электрофорез очищенных фрагментов после секвенирующей ПЦР проводили на приборе «ABI PRISM 3100-AVANT» («Applied Biosystems», США). Анализ полученных фрагментов генома ВГС осуществляли с использованием программных продуктов «Sequencing Analysis Software v.5.1.1», «BioEdit v.7.0.9.0», «SeqScape v.2.6». Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей проводили с помощью программы «Mega v.4.1». Для выравнивания генетических последовательностей использовали программу «Clustal W».

Результаты и обсуждение

В исследовании участвовало 44 пациента с гемофилией различной степени тяжести из трех областей РБ; 43 человека из 44 (97,8%) были инфицированы ВГС; у 2 пациентов (4,5%) в качестве коинфекции к ВГС обнаружен ВГВ; тестирование на ВИЧ не выявило инфицированных среди обследованной группы. Лишь 1 пациент (2,3%) оказался не инфицированным ни одним из тестируемых вирусов. Филогенетическое дерево различных нуклеотидных последовательностей отражено на рисунке 1.

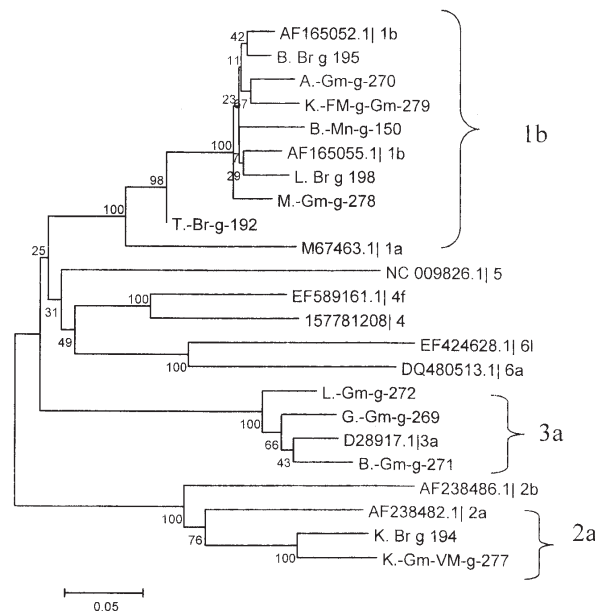


Рис. 1. Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей вируса гепатита С, выделенных из крови обследованных больных гемофилией.

Таким образом, можно констатировать, что среди пациентов с гемофилией, также, как и в общей популяции, доминирует 1b генотип ВГС. С учетом добровольной сдачи крови больными гемофилией реальный процент инфицированности ВГС может быть выше официальной статистики. Инфицирование ВГС происходило из различных источников. На фоне инфицирования



пациентов, длительно страдающих тяжелой гемофилией, парентеральными вирусными гепатитами (в первую очередь ВГС), можно с удовлетворением отметить отсутствие среди обследованных инфицированных ВИЧ. Необходим постоянный молекулярно-эпидемиологический мониторинг для совершенствования системы противозидемических мероприятий.

Литература

1 Гасич, Е.Л., Еремин, В.Ф., Сосинович, С.В., Пинчук М.Г. Молекулярно-генетические особенности вируса гепатита С в Республике Беларусь. // Здравоохранение. -2010. №12. –С.27-34.

2 Дашкевич, Э.В., Змачинский, В.А., Данилов, Д.Е., Ольховик, Ю.В. Гепатиты у больных гемофилией в Республике Беларусь.// Медицина. -2010. -№2. –С.53-55

3 Стрельцов, А.Г. Жданов, К.В., Селиванов, Е.А., Гусев, Д.А. Анализ клинико-лабораторных особенностей течения ХГС у больных гемофилией // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. - 2005. - Т.15, №1. Прилож.24. - С.12.

4 Стрельцов, А.Г., Жданов, К.В., Селиванов, Е.А., Гусев, Д.А., Андреева, Т.А., Золотых, В.Г. Особенности течения HCV-инфекции у пациентов с гемофилией // Тез. докл. V съезда научного общества гастроэнтерологов России и XXXII сессии ЦНИИ гастроэнтерологии. - М., 2005. - С.243-244.

5 Метод молекулярно-генетического мониторинга вируса гепатита С на территории Республики Беларусь: инструкция по применению : утв. 2010 г. № 034-0310/ В. Ф. Еремин Матиевская, Н.В., Гасич, Е.Л., Цыркунов, В.М.; М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Респ. науч.-практ. центр эпидемиологии и микробиологии, Гродн. гос. мед. ун-т. - Минск,

2010. -11 с.

6 Лазовская, Н.В., Олингер, С.М., Еремин, В.Ф., Мюллер, К.П. Молекулярная эпидемиология вируса гепатита С в Республике Беларусь. // Здравоохранение. -2006. №11. –С.12-15

7 Denholm, JT, Wright EJ, Street A, Sasadeusz JJ, et al. HCV treatment with pegylated interferon and ribavirin in patients with haemophilia and HIV/HCV co-infection. Haemophilia. 2009.

8 Eremin, V.F., Olinger, C.M., Gasich, E.L., Karpov, I.A., Danilov, D.E., Eremin, S.V., Lukashov, V.V., Muller, C.P. Genetical Diversity of Viral Hepatitis B and C, Revealed in Various Risk Groups. VIII Nordic-Baltic Congress on Infectious Diseases. Book of Abstracts, Sept.23-26, 2009, San-Petersburg, Russia, P.27.

9 Leebeek, F., Mauser-Bunschoten E., Van der Meer J., Willemsse J. Hepatitis C in haemophilia patients in the Netherlands. The Lancet, Volume 366, Issue 9487, P. 715-715.

10 Massimo Franchini, Nicoletta Nicolini, Franco Capra. Treatment of hepatitis C in hemophiliacs. American Journal of Hematology Vol. 81 Issue 9, P. 696 – 702.

11 Massimo Franchini, Carlo Mengoli, Dino Veneri, Romualdo Mazzi, Giuseppe Lippi and Mario Cruciani. Treatment of chronic hepatitis C in haemophilic patients with interferon and ribavirin: a meta-analysis. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 2008 61(6):1191-1200.

12 Telfer, P, Devereux H, Colvin B, Hayden S, Dusheiko G, Lee C. Alpha interferon for hepatitis C virus infection in haemophilic patients. Haemophilia 1995; 1:54-8.

Поступила 10.12.2012 г.