

Матиевская Н.В.¹, Цыркунов В.М.¹, Еремин В.Ф.², Гасич Е.Л.², Кузьмич И.А.³
**РЕЗУЛЬТАТЫ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ
 КОИНФЕКЦИИ ВИЧ/ВГС У ПАЦИЕНТОВ ГРОДНЕНСКОГО РЕГИОНА
 РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

¹ – Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

² – ГУ «РНПЦ эпидемиологии и микробиологии», Минск, Беларусь

³ – УЗ «Гродненская областная инфекционная больница», Гродно, Беларусь

Введение. Регулярно осуществляемый молекулярно-генетический мониторинг вирусов гепатита С и ВИЧ позволяет устанавливать генотипы ВГС и ВИЧ, циркулирующие на территории региона, определять филогенетические связи между генотипами вирусов. Данные исследования имеют большое практическое значение, поскольку позволяют своевременно выявлять наиболее уязвимые для инфицирования контингенты населения, проводить эффективные противоэпидемические мероприятия, выявлять мутации резистентности вирусов к противовирусным препаратам, прогнозировать эффективность различных схем терапии ВГС-инфекции и ВИЧ-инфекции, оценивать точность используемых тест-систем для диагностики ВГС- и ВИЧ-инфекции.

Цель исследования – анализ результатов молекулярно-генетического исследования субтипов ВГС и ВИЧ у пациентов с коинфекцией ВИЧ/ВГС, проживающих в Гродненской области.

Материалы и методы. Генотипы ВГС были определены у 129 пациентов с коинфекцией ВИЧ/ВГС. Группу сравнения составили 90 больных с моноинфекцией ВГС, проживающих там же. Определение генотипа ВГС осуществлялось методом ПЦР с электрофорезом, использовался набор реагентов «Амплиценс».

Для проведения молекулярно-филогенетического анализа субтипов ВГС и ВИЧ были отобраны образцы плазмы крови 35 пациентов из Гродненского региона, которые имели коинфекцию ВИЧ/ВГС.

Из полученных образцов была выделена РНК ВГС, проведены этапы обратной транскрипции и «гнездовой» ПЦР. Специфические фрагменты ДНК выделены при детекции в агарозном геле. Фрагменты ДНК были секвенированы в ПЦР, разогнаны в генетическом анализаторе ABI Prism 3100 Avant (США) и проанализированы в программах SeqScape, BioEdit, филогенетическое дерево было построено с использованием программы MEGA4. При проведении ПЦР в «гнездовом» варианте по генам env и gag ВИЧ получены специфические фрагменты ДНК (для env-гена ВИЧ, равный 380 пар нуклеотидов, для gag – 750 пар нуклеотидов). Учет результатов проводили визуально с помощью трансиллюминатора (УФ 302 нм). Амплифицированная ДНК была использована для последующего секвенирования и определения генотипов ВИЧ-1.

Результаты. Частота различных генотипов ВГС, установленных с использованием набора реагентов «Амплиценс» у больных с коинфекцией ВИЧ/ВГС и моноинфекцией ВГС, представлена в таблице 1.

Таблица 1 – Генотипы ВГС у больных с коинфекцией ВИЧ/ВГС и моноинфекцией ВГС в Гродненском регионе, абс. (%)

Генотипы ВГС	Коинфекция ВИЧ/ВГС N=129	Моноинфекция ВГС N=97	P
1 а	30 (23,3%)	6 (6,1%)	<0,05
1в	21 (16,8%)	43 (44,3%)	<0,05
2	4 (3,1%)	2 (2,1%)	>0,05
3а	49 (37,9%)	44 (45,4%)	>0,05
РНК ВГС («-»)	25 (19,3%)	-	

Примечание: * – тест χ^2

Как видно из представленной таблицы 1, в группе коинфекции ВИЧ/ВГС, как и среди пациентов с моноинфекцией ВГС, преобладали больные с 3а генотипом, на 2 месте по частоте встречаемости у коинфицированных пациентов выявлялся 1а генотип, в то время как среди моноВГС-инфекции частота 1а генотипа ВГС была значительно более низкой ($p < 0,05$). Генотип 1в у ВИЧ-инфицированных пациентов занимал 3 место после 1а генотипа и выявлялся значительно реже, чем при моноинфекции ВГС ($p < 0,05$). Генотип 1в у пациентов с моноинфекцией ВГС был одним из ведущих генотипов и встречался приблизительно с одинаковой частотой с генотипом 3а. Пациенты со 2 генотипом ВГС составляли незначительное меньшинство в обеих группах. Обращает на себя внимание высокая частота РНК ВГС-негативных пациентов (20,2%) в группе коинфекции, при этом у всех пациентов обнаружены антитела к вирусу гепатита С; кроме того, в данной группе отсутствовали пациенты, получавшие противовирусную терапию ВГС. Многие пациенты с негативными результатами исследования на РНК ВГС указали, что инфицирование ВГС у них произошло раньше, чем ВИЧ. Можно предположить, что в группе коинфекции имеет место высокая частота спонтанной ремиссии ВГС, что можно связать с особенностями иммунного ответа на ВГС при коинфекции ВИЧ/ВГС.

По результатам молекулярно-филогенетического анализа ВГС у пациентов с коинфекцией ВИЧ/ВГС из 35 проанализированных образцов сыворотки/плазмы крови 19 (54,3%) относились к генотипу 3а, 5 (14,3%) – к генотипу 1б, и 11 соответствовали 1а генотипу (31,4%). Все образцы, принадлежащие к генотипам 1а, 1б и 3а, кластрировались вокруг стандартных образцов, полученных из GeneBank, и формировали несколько филогенетических групп, указывающих на один источник их происхождения. Проведенные исследования по генотипированию образцов, поступивших от пациентов с коинфекцией ВИЧ+ВГС, проживающих в г. Гродно и Гродненской области, показали, что в данном регионе развитие гепатита С ассоциировано с 3а (54,3%) и 1а генотипами (31,4%). В то же время 1б генотип ВГС выявлялся только у 14,3% обследованных пациентов. В то время как, по данным РНПЦ эпидемиологии и микробиологии (Минск), 53,0% всех случаев ВГС-инфекции в Беларуси вызвано 1б генотипом.

По результатам молекулярно-филогенетического анализа ВИЧ у пациентов с коинфекцией ВИЧ/ВГС установлено, что 35 образцов были положительными по гену env, и 33 из них (94,3%) принадлежали к субтипу А, распространенность которого составляет в настоящее время около 80–85% на территории Беларуси, а 2 (5,7%) – к субтипу В. При филогенетическом анализе 22 образцов, положительных по гену gag, было установлено, что 21 (95,4%) из них относился к субтипу А, образуя единую филогенетическую группу вместе с референтными образцами из России и Украины, а 1 (4,6%) – к субтипу В. Таким образом, при исследовании образца плазмы крови от одного пациента с коинфекцией ВИЧ и ВГС была установлена рекомбинантная форма ВИЧ – АВ. По гену gag данный образец относится к субтипу А, по гену env – к субтипу В. Образец плазмы второго пациента как по гену gag, так и по гену env принадлежал к субтипу В. Установлено, что пациент с рекомбинантной формой ВИЧ длительное время проживает в Москве, где, вероятно, и был инфицирован половым путем. Пациент с субтипом В постоянно проживал на территории Гродненской области, был инфицирован при инъекционном наркопотреблении. Средняя эволюционная р-дистанция внутри нуклеотидных последовательностей ВИЧ для всех исследованных образцов, относящихся к субтипу А, по гену gag составила 0,04, а по гену env – 0,13, что свидетельствует о длительной циркуляции одних и тех же штаммов на территории страны.

Заключение. Исследование генотипов ВГС у ВИЧ-инфицированных пациентов с использованием коммерческой тест-системы, а также результаты молекулярно-филогенетического анализа указывают на преобладание в данной группе пациентов 3а и 1а генотипов ВГС. Ситуация, наблюдаемая в данном регионе, связана, вероятнее всего, с инфицированием ВГС пациентов в результате приема инъекционных наркотиков. По данным литературы, именно 1а и 3а генотипы ВГС преобладают в группах инъекционных наркоманов.

Среди пациентов с коинфекцией ВИЧ/ВГС в Гродненском регионе преобладает субтип А ВИЧ. Появление новых субтипов ВИЧ на территории Гродненского региона Беларуси свидетельствует о вероятном заносе вируса из других регионов и требует проведения молекулярно-генетического мониторинга ВИЧ в более обширных группах пациентов.

Определение РНК ВГС и изучение генотипов ВГС у ВИЧ-инфицированных пациентов позволяет сделать важные для практического здравоохранения выводы:

- среди пациентов с коинфекцией ВИЧ/ВГС существует достаточно обширная РНК-негативная группа (20%), которым не показана ИФТ;
- высокая суммарная частота 3а и 2 генотипов ВГС (>40%) у пациентов с коинфекцией ВИЧ/ВГС в Гродненском регионе позволяет прогнозировать вирусологический ответ на ИФТ при использовании схем монотерапии ИФН продолжительностью 24 недели.

Учет генотипических особенностей ВГС позволяет наиболее рационально расходовать государственные средства при проведении противовирусной терапии ВГС у ВИЧ-инфицированных пациентов.

Matsiyenskaya N.V.¹, Tsyrkunov V.M.¹, Eremin V.F.², Gasich E.L.², Kuzmich I.A.³
RESULTS OF MOLECULAR-GENETIC INVESTIGATION OF HIV/HCV
IN PATIENTS FROM GRODNO REGION OF BELARUS

¹ Grodno State Medical University, ² Republic scientific and practical center of epidemiology and microbiology, ³ Grodno Regional Clinical Hospital of Infectious Diseases, Grodno, Belarus

Results of molecular-genetic monitoring of HCV and HIV in 129 patients from Grodno region of Belarus has been presented. In this region the development of HCV infection among patients with HCV/HIV coinfection is associated with 3a and 1a genotypes of HCV. The dominant subtype of HIV among ones is subtype A. Two new subtypes of HIV – B and recombinant AB were detected in 2 patients. This fact requires to continuer molecular-genetic evaluation of HIV and HCV in larger groups of patients.

Матиевская Н.В.

СТАНДАРТНЫЕ ИНТЕРФЕРОНЫ АЛЬФА В ТЕРАПИИ ХГС У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

Введение. ВГС-инфекция, в отличие от ВИЧ-инфекции, может быть излечена радикально у части пациентов за относительно короткий срок. В связи с этим у пациентов с коинфекцией ВИЧ/ВГС есть реальный шанс избавиться от одной проблемы. Поэтому каждый пациент с коинфекцией ВИЧ/ВГС должен рассматриваться как кандидат для противовирусной терапии ВГС. В ряде зарубежных исследований была продемонстрирована высокая эффективность пегилированных интерферонов альфа (пегИФН) в терапии ВГС-инфекции у ВИЧ-инфицированных пациентов (J.K. Rockstroh, 2006). Однако внедрение пегИФН при лечении коинфекции сталкивается с рядом объективных препятствий, одним из которых является высокая стоимость лечения, что особенно актуально для данной категории пациентов. Кроме того, отмечается достаточно высокая частота нежелательных эффектов при назначении пегИФН на фоне антиретровирусной терапии и у пациентов с циррозом печени (A.K. Singal, 2009).

В то же время, в ряде зарубежных исследований при оценке эффективности стандартных ИФН у пациентов с коинфекцией ВИЧ/ВГС была продемонстрирована удовлетворительная переносимость, наличие противовирусной эффективности как в отношении ВГС-инфекции, так и ВИЧ-инфекции (Y.H. Zheng, 2005; P. Labarga, 2007). У пациентов со 2 и 3 генотипами ВГС частота УВО при терапии стандартными ИФН была сравнима с таковой при терапии пегИФН (S. Mauss, 2007).