



УДК: 616.72–002+616.36–002–578.891

<https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-187-3-146-151>

Значимость генотипирования в диагностике ассоциированного с С- вирусным гепатитом артрита

Шукурова Ф. Н., Парпиева Д. А., Каримов М. Ш.

Ташкентская медицинская академия, г. Ташкент, Республика Узбекистан

Для цитирования: Шукурова Ф. Н., Парпиева Д. А., Каримов М. Ш. Значимость генотипирования в диагностике ассоциированного с С- вирусным гепатитом артрита. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2021;187(3): 146–151. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-187-3-146-151

✉ Для переписки:

Шукурова**Фазилят Нармаматовна**

fazilatshukurova@gmail.com

Шукурова Фазилят Нармаматовна, ассистент кафедры пропедевтики внутренних болезней № 2**Парпиева Динора Аюповна**, к.м.н., доцент кафедры пропедевтики внутренних болезней № 2**Каримов Маъриф Шакирович**, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой пропедевтики внутренних болезней № 2

Резюме

На сегодняшний день были проведены ряд исследований о взаимосвязи генотипов ВГС с такими осложнениями, как цирроз печени, гепатоцеллюлярная карцинома, исследовательских работы о корреляции генотипа с внепеченочными клиническими проявлениями, связанными с ВГС, особенно ревматическими проявлениями, недостаточно.

Цель исследования — провести анализ наиболее распространенных генотипов вирусного гепатита С в Республике Узбекистан и изучить их корреляцию с ревматическими проявлениями ХВГС.

Методы: В этом исследовании приняли участие 88 пациентов, инфицированных ВГС, получавших стационарное и в последующем амбулаторное лечение в НИИЭМИЗ Республика Узбекистан. Диагностика процедуры на исходном уровне включали комплекс исследований, т.е. клинический, ревматологический, клинико-лабораторные исследования, УЗИ сустава. А также, было проведено генотипирование 88 образцов РНК — положительной сыворотки пациентов с диагнозом ХВГС. Нуклеотидные последовательности продуктов амплификации определяли методом прямого секвенирования.

Результаты: Результаты показали, что генотип 1 ВГС (подтип 1b) является основным генетическим вариантом ВГС в Узбекистане. На основании данных полученных результатов, что генотипические особенности вирусов могут являться маркерами развития внепеченочных клинических проявлений. Имеется достоверная прямая взаимосвязь встречаемости и выраженности ассоциированного артрита у больных хроническим вирусным гепатитом С с генотипом 1b вируса по данным наших исследований.

Выводы: Результаты исследования можно предоставить в помощь врачу поликлинической службы в качестве рекомендаций, что у больных с 1b генотип вируса приверженность к ассоциированному артриту, больше и в этом случае необходима своевременная целенаправленная консультация специалиста.

Ключевые слова: вирусный гепатит С, генотип, генотипирование, секвенирование

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

<https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-187-3-146-151>



Significance of genotyping in the diagnosis of arthritis associated with C-viral hepatitis

F.N. Shukurova, D.A. Parpiboeva, M.Sh. Karimov

Tashkent medical Academy, Tashkent, Republic of Uzbekistan

For citation: Shukurova F.N., Parpiboeva D.A., Karimov M.Sh. Significance of genotyping in the diagnosis of arthritis associated with C-viral hepatitis. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2021;187(3): 146–151. (In Russ.) DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-187-3-146-151

Fazilat N. Shukurova, assistant of the Department of propaedeutics of internal diseases № 2

Dinora A. Parpiboeva, Cand. of Med. Sci., associate Professor of the Department of propedeutics of internal diseases № 2

Marif Sh. Karimov, doctor of medical Sciences, Professor, head of the Department of propaedeutics of internal diseases № 2

✉ *Corresponding author:*

Fazilat N. Shukurova

fazilatshukurova@gmail.com

Summary

To date, a number of studies have been conducted on the relationship of HCV genotypes with complications such as liver cirrhosis, hepatocellular carcinoma, but research on the correlation of the genotype with extrahepatic clinical manifestations associated with HCV, especially rheumatic manifestations, is insufficient.

The purpose of the study is to analyze the most common genotypes of viral hepatitis C in the Republic of Uzbekistan and study their correlation with rheumatic manifestations of HCV.

Methods: This study involved 88 patients with HCV infection who received inpatient and subsequent ambulatorioe treatment in Scientific Research Institute of Epidemiology, Microbiology and Infectious diseases of the Republic of Uzbekistan. Diagnostics procedures at the initial level included a set of studies, i.e. clinical, rheumatological and laboratory studies, ultrasound of the joint. In addition, 88 samples of RNA — positive serum from patients diagnosed with HCV were genotyped.

Results: the Results showed that genotype 1 of HCV (subtype 1b) is the main genetic variant of HCV in Uzbekistan. Based on the results obtained, the genotypic features of viruses can be markers of the development of extrahepatic clinical manifestations. There is a reliable direct correlation between the incidence and severity of associated arthritis in patients with chronic viral hepatitis C with genotype 1b of the virus according to our research.

Conclusions: The results of the study can be provided to help the doctor of the polyclinic service as recommendations that patients with the 1b genotype of the virus have a greater adherence to associated arthritis, and in this case, timely targeted consultation of a specialist is necessary.

Keywords: viral hepatitis C, genotype, genotyping, sequencing

Conflict of interest. Authors declare no conflict of interest.

Введение

На сегодняшний день в Узбекистане вирусные гепатиты С (ВГС, HCV) – серьёзная медико-социальная проблема. Официальная регистрация ВГС началась в Узбекистане 1998 г. Количество инфицированных за последний 10 лет увеличилось в 4 раза [1]. По последним данным, в Республике в настоящее время проживает не менее 1 млн людей, инфицированных HCV инфекцией [2]. Приведенные цифры приближены, поскольку в настоящее время в Узбекистане недостаточно статистических данных, позволяющих корректно оценить заболеваемость и смертность от данного заболевания.

Вирус гепатита С не только является основным этиологическим фактором хронических вирусных за-

болеваний печени [3], но и вызывает развитие внепечёночных проявлений, частота которых может достигать 40–74% [4]. Клиника внепечёночных проявлений может не только выходить на первый план, но и быть причиной нетрудоспособности и даже смерти [5].

Приоритетом внепечёночных проявлений ХВГС является суставная патология, роль вирусов в развитии которой может реализовываться прямой инвазией в синовию, отложением иммунных комплексов, либо опосредованно, вследствие иммунной дисрегуляции с гиперпродукцией провоспалительных цитокинов [6].

ВГС обладает наибольшей вариабельностью среди всех возбудителей вирусных гепатитов и благодаря

высокой мутационной активности способен избежать воздействия защитных механизмов иммунной системы. Геномы вируса значительно отличаются в разных странах мира и имеют различную чувствительность к препаратам интерферонов.

Филогенетический анализ последовательностей ВГС выявил более 70 различных подтипов и шесть больших групп вирусных генотипов, распространенных по всему миру [7]. Среди них генотипы 1, 2 и 3 и их подтипы имеют глобальное распределение, тогда как другие генотипы имеют более локальное распространение, например, генотип 4, обнаруженный на Ближнем Востоке и в Африке, генотип 5 в Южной Африке и генотип 6 в основном в Азии [7].

Определение генотипа ВГС имеет немаловажное значение при проведении противовирусной терапии. Достижение стойкого вирусологического ответа (СВО) является главной целью терапии пациентов с ВГС инфекцией. Главными критериями СВО считают исчезновение вирусной РНК из сыворотки крови в конце терапии и её отсутствие в течение 6 месяцев после окончания лечения [8].

Данная информация о генотипах может иметь эпидемиологическое значение, раскрывая особенности региональных эпидемий ВГС [9,10]. По литературным данным, показатели распространения и генетические особенности ВГС в Узбекистане мало изучены. Так как по исследованиям некоторых

специалистов считается, что этот факт может повлиять на результаты проводимой терапии и течение заболевания. В случае влияния генотипа на развитие заболевания, существуют ограниченные данные, показывающие, что при генотипе 1в клиническая картина выражена и протекает значительно тяжелее, чем при генотипах 1а или 2, однако эти наблюдения требуют дальнейших исследований [11; 12].

На сегодняшний день проводимые исследования по изучению корреляции генотипов НСВ с такими осложнениями, как цирроз печени, гепатоцеллюлярная карцинома актуальна, но взаимосвязь генотипа с ассоциированными клиническими проявлениями ХВГС, в частности ревматическими проявлениями мало изучена.

На сегодняшний день были проведены ряд исследований о взаимосвязи генотипов ВГС с такими осложнениями, как цирроз печени, гепатоцеллюлярная карцинома, но научно-исследовательских работ о корреляции генотипа с внепеченочными клиническими проявлениями, связанными с ВГС, особенно ревматическими проявлениями, недостаточно.

Цель исследования: провести анализ наиболее распространенных генотипов вирусного гепатита С в Республике Узбекистан и изучить их корреляцию с ревматическими проявлениями ХВГС.

Материалы и методы

В период с 2018 по 2020 гг. было проведено молекулярно-клиническое исследование вирусных гепатитов С среди пациентов клиники Научно-исследовательского института эпидемиологии, микробиологии и инфекционных заболеваний (НИИЭМИЗ) Республики Узбекистан.

Подбор объекта и стандартизированные инструменты

Перспективный анализ собран в клинике Научно-исследовательского института эпидемиологии, микробиологии и инфекционных заболеваний (НИИЭМИЗ) Республики Узбекистан, г. Ташкент. Серологические и биохимические исследования проведены в клинике Медицинского центра «Иродамед».

Возраст обследуемых от 20–60 лет с диагнозом ХВГС с НСВ- ассоциированным артритом. В нашем исследовании наблюдались 52 больных с диагнозом хронический вирусный гепатит С (ХВГС). Эти пациенты дали положительный результат на анти-НСВ и имели сывороточный уровень РНК НСВ ≥ 50 МЕ / мл. Распределение по полу субъектов исследовательской группы: 30 мужчин (М) и 22 женщины (Ф), средний возраст $38,54 \pm 6,00$ года. У всех пациентов был выявлен ВГС ассоциированный артрит (НСВА). Параллельно мы исследовали сравнительную группу, в которую вошли 36 больных ХВГС без ассоциированного артрита, состоявшие на учёте в поликлинике НИИЭМИЗ Республики Узбекистан (таблица 1).

Составлялась диагностическая карта на каждого больного, включающая в себя паспортные данные, анамнез ВГС и симптоматики артрита, данные

Исследование проводили с соблюдением принципов добровольности и конфиденциальности.

Диагностика процедуры на исходном уровне включали комплекс исследований, т.е. клинический, ревматологический, клинико-лабораторные исследования, УЗИ сустава.

объективного осмотра (оценка боли по ВАШ), болезненность и припухлость в различных суставах, ограничение объёма движений; кожные изменения, состояние печени, лабораторные данные: общий анализ крови (ОАК), общий анализ мочи (ОАМ); биохимические показатели крови: протеинограмма, АлАТ, АсАТ, гамма-глутамилтранспептидаза (ГГТП), билирубин по фракциям, холестерин (ХС), липидный спектр, глюкоза крови, тимоловая проба, электрофорез белков, С-РБ, а также ПЦР на РНК НСВ и генотипирование ВГС; инструментальные методы исследования (УЗИ печени, УЗИ суставов, рентгенография суставов, эластография печени).

У пациента, согласившегося принять участие в обследовании, был получен образец сыворотки крови (8–10 мл) и собрана индивидуальная информация посредством структурированного интервью по анкете. Забор крови производился из локтевой вены с использованием стерильных одноразовых систем для забора крови «Вакутайнер» («BD», Германия). Кровь необходимо сдавать утром с 08.00–12.00, спустя 2–4 часа после последнего приёма пищи. Накануне сдачи исследования нужно исключить физические и психоэмоциональные нагрузки.

Группа обследованных	Число больных		Пол			
			М		Ж	
	п	%	п	%	п	%
Основная группа – HCVaA	52	100	30	57,7	22	42,3
Группа сравнения – HCV без артрита	36	100	22	61,1	14	38,9

Таблица 1
Клиническая характеристика больных

Генотип вируса:	Частота встречаемости среди пациентов в основной группе с диагнозом HCVaA (%) n=52	Частота встречаемости среди пациентов в группе сравнения (HCV без HCVaA) (%) n = 36
1 a	1 (1,92%)	1 (2,77%)
1 b	30 (57,69%)	13 (36,11%)
2 a/b	4 (7,69%)	4 (11,11%)
3 a/b	15 (28,84%)	15 (41,66%)
Количество пациентов более чем с одним генотипом	2 (3,84%)	3 (8,33%)

Таблица 2
Распределение пациентов с HCVaA по различным генотипам хронического вирусного гепатита С

Полученные пробы с образцами крови центрифугировали на центрифуге при 3000 об/мин в течение 10 мин. для полного отделения сыворотки от сгустка. На каждую пробирку после получения образца крови наклеивался ярлык с тем же самым шифром, что на анкете и на форме информированного согласия.

Было проведено генотипирование 88 образцов РНК – положительной сыворотки пациентов

с диагнозом ХГВС. Нуклеотидные последовательности продуктов амплификации определяли методом прямого секвенирования (Kretz и др., 1994). Секвенирование продуктов амплификации проводили по обеим цепям с использованием автоматического секвенатора Beckman CEQ2000 XL. Использовали наборы реактивов CEQ DTCS Kit (Beckman, GenomeLab Methods Development Kit PN 608000) согласно инструкции производителя.

Статистический анализ

Статистический анализ проводился с помощью программного обеспечения GraphPad Prism 7 для Mac. Для сбора всей информации была создана база данных с использованием Microsoft Excel. Описательные данные представлены в виде средних значений, стандартных отклонений (SDs) и процентов.

Статистические различия были оценены по точному критерию вероятности Фишера и χ^2 теста с коррекцией Йетса, где это уместно, с использованием программного обеспечения версии STATA 8,0 (StataCorp. LP, Колледж Стейшн, шт. Техас, США). Статистически значимыми считались пороговые значения * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ и *** $p < 0,001$.

Результаты

В данном исследовании на основании распределения больных ХВГС по генотипам вируса в основной группе и группе сравнения, получены следующие данные. Так в основной группе в 57,69% случаев был выявлен 1b генотип вируса (см. таблицу 2), в то время, как у больных без ассоциированного артрита данный генотип выявлен только у 36,11% ($p < 0,001$), что косвенно может указывать на то, что 1b генотип является предрасполагающим фактором развития ассоциированных проявлений, включая артрит, отягощая тем самым течение основного заболевания.

В группе сравнения без HCVaA в 41,66% случаев выявлен 3a/b генотип вируса, который был определён в основной группе только в 28,84% случаев.

Распределение больных по другим генотипам представлено в таблице 2.

В результате нашего исследования получили данные, которые дополняют наши результаты вышеизложенные ранее, т.е. клинические проявления ассоциированного артрита встречались в процентном соотношении больше зависимости от конкретных генотипов и геновариантов вирусов. При анализе приводимых данных длительности артралгии, боли в суставах, припухлости в пораженных суставах, скованности и ограничения движений мы обнаружили, что вышеуказанные клинические признаки чаще всего наблюдались при 1b генотипе вируса гепатита С (таблица 3).

Обсуждение

Геномы вируса значительно отличаются в разных странах мира. Согласно современным рекомендациям генотипирование ВГС должно проводиться всем пациентам до начала терапии.

Генодиагностика с определением генотипов вируса (генотипирование) ГС у пациентов с ассоцииро-

ванным артритом HCV – один из самых необходимых методов исследования. Данный метод позволит предсказать шансы на успешное лечение и поможет врачу определить необходимые дозы препаратов, течение, длительность терапии. Кроме этого, изучение взаимосвязи вирусных генотипов с ассоциирован-

Таблица 3
Клинические проявления артрита, ассоциированного хроническим вирусным гепатитом С в зависимости от установленных генотипов вируса

Генотип вируса:	Выраженность артрита ассоциированным хроническим вирусным гепатитом С						
	Длительность артралгии:			Наличие болезненности в суставах	Наличие припухлости в области поражённых суставов	Наличие скованности в суставах	Наличие ограничения движений в суставах
	до 5 лет	6–10 лет	больше 10 лет				
Общее кол. больных	10	35	7	48 та	29	17	20
1 a		1		1	1		1
1 b	7	17	6	27	13	7	8
2		3	1	4	4	4	4
3a/b	3	12		14	9	4	5
было идентифицировано более одного генотипа		2		2	2	2	2

ными клиническими проявлениями ХВГС, особенно ревматических симптомов может дать возможность лучше диагностировать эти клинические проявления, их возникновение и течение. То есть, не только тактика и эффективность терапии, но и развитие и течение внепеченочных клинических признаков гепатита зависит от генотипа ВГС.

Следовательно, исходя из вышеизложенного ВГС, вызванный вирусом данного генотипа характеризуется более тяжёлым течением, частым развитием внепечёночных проявлений, более высоким

содержанием РНК в сыворотке крови и худшим ответом на лечение с высокой вероятностью рецидива болезни [2]. У больных с ассоциированным артритом в 57,69% случаев был выявлен 1b генотип вируса, в то время, как у больных без ассоциированного артрита данный генотип выявлен только у 36,11%, что косвенно может указывать на то, что 1b генотип является predisposing фактором развития внепечёночных проявлений, включая ассоциированной артрит, отягощая тем самым течение основного заболевания.

Выводы

Генотипические особенности вирусов могут являться маркерами развития внепеченочных клинических проявлений.

Для более полного понимания развития и течения внепеченочных клинических признаков хронического вирусного гепатита, необходимо изучение генетических характеристик вируса на разных уровнях гетерогенности.

Имеется достоверная прямая взаимосвязь встречаемости и выраженности ассоциирован-

ного артрита у больных хроническим вирусным гепатитом С с генотипом 1b вируса по результатам наших исследований.

Таким образом, на основании наших данных в помощь врачу поликлинической службы можно рекомендовать, что у больных с 1b генотипом вируса приверженность к ассоциированному артрит, больше и в этом случае необходима своевременная целенаправленная консультация специалиста.

Литература | References

1. Islambekova Z. A. Measures aiming to decrease hepatitis B and C morbidity rates may help prevent hepatocellular carcinoma in Uzbekistan, *Onkologiya*. 2009, no. 2, pp. 154–157. (In Russ.)
Исламбекова З. А. Снижение заболеваемости в Узбекистане вирусными гепатитами В и С – составляющая профилактики гепатоцеллюлярной карциномы. Онкология. – 2009–11 № 2 – С. 154–157.
2. Ananjeva L. P., Ignatova N. V., Smirnov A. V. Chronic erosive seropositive arthritis in a patient with chronic hepatitis C. *Rheumatology Science and Practice*. 2008;46(1):78–84. (In Russ.) Doi: 10.14412/1995–4484–2008–857
3. Alvarado-Mora M. V., Pinho J. R. Epidemiological update of hepatitis B, C and delta in Latin America. *Antivir Ther*. 2013, no. 18, pp. 429–433.
4. Rosner I., Rozenbaum M., Toubi E., Kessel A., Naschitz J. E., and Zuckerman E. The case for hepatitis C arthritis. *Semin Arthritis Rheum*. 2004, no. 33, pp. 375–387.
5. Muhin N. A., Lopatkina T. N., Ignatova T. M., et al. Vnepechenochnie proyavleniya khronicheskikh zabolevaniy pecheni, *Klinicheskaya gepatologiya*. 2008, no. 4, pp. 34–39. (In Russ.)
6. Baranov A. B., Maleev V. V. Immunologicheskie pokazateli pri hronicheskom techenii gepatita C. *Infectious diseases*. 2008, vol. 6, no. 1, pp. 13–15. (In Russ.)
7. Nakano T., Lau G. M., Sugiyama M., Mizokami M. An updated analysis of hepatitis C virus genotypes and subtypes based on the complete coding region. *Liver Int*. 2012, no. 32, pp. 339–345.
8. Poordad F., Dieterich D. Treating hepatitis C: current standard of care and emerging direct-acting antiviral agents. *J Viral Hepat*. 2012, no. 19 (7): pp. 449–464.
9. Tanaka Y., Kurbanov F., Mano S., et al. Molecular tracing of the global hepatitis C virus epidemic predicts regional patterns of hepatocellular carcinoma mortality. *Gastroenterology*. 2006, no. 130, pp. 703–714.
10. Kurbanov F., Tanaka Y., Sugauchi F., et al. Hepatitis C virus molecular epidemiology in Uzbekistan. *J Med Virol*. 2003, no. 69, pp. 367–375.
11. Bazarniy V., et al. Analiz chastoti serologicheskikh markyrov virusnih gepatitov u donorov. *Kliniko-laboratorniy konsilium*. 2010, no. 1, pp. 58–60.
12. Bel'tyukov P. P. Immunologicheskie metodi. *Medicinskaya immunologiya*. 2005, vol. 7, no. 2–3, pp. 272–286.