

Роль молекулярных методов диагностики в оптимизации алгоритмов лечения вирусного гепатита С

Чуланов В.П., Шипулин Г.А.

ФГУН Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии Роспотребнадзора

Обзор литературы обобщает современные представления о роли молекулярных методов диагностики в оптимизации алгоритмов лечения хронического гепатита С. Это касается в первую очередь определения генотипа вируса гепатита С и вирусной нагрузки в плазме крови до лечения и в процессе противовирусного лечения. Несмотря на несомненные успехи в лечении хронического гепатита С, достигнутые в течение последних лет, дальнейшая оптимизация алгоритмов лечения является актуальной проблемой. Известно множество факторов, влияющих на исход противовирусной терапии, наиболее важными из них являются генетические особенности вируса и динамика вирусной нагрузки в процессе лечения. Правильное применение современных молекулярных методов диагностики уже сегодня позволяет максимально оптимизировать имеющиеся алгоритмы противовирусного лечения и добиться высоких показателей устойчивого вирусологического ответа.

Хронический вирусный гепатит С (ХГС) – одно из наиболее распространенных заболеваний печени, ведущих к развитию цирроза и гепатоцеллюлярной карциномы. В настоящее время в мире насчитывается более 170 млн. инфицированных, что составляет около 3% населения Земли [5]. На фоне постоянного увеличения числа инфицированных и отсутствия вакцины актуальность проблема ХГС из года в год возрастает.

Последние 15 лет ознаменовались значительными успехами в разработке лекарственных препаратов для лечения ХГС. Если в начале 90-х эффективность эрадикации вируса составляла лишь 8–12%, то сегодня с применением современных препаратов и схем лечения она достигает в среднем 60%. В ряде исследований было показано, что при ХГС именно эрадикация вируса коррелирует с улучшением гистологических показателей при биопсии печени и выживаемостью пациентов [25, 32]. Поэтому главной целью лечения является устойчивый вирусологический ответ ((УВО) – отсутствие РНК вируса гепатита С (ВГС) при исследовании чувствительными молекулярно-биологическими методами через 24 недели после окончания лечения. Этот критерий считается вполне адекватным для оценки эффективности терапии, поскольку у пациентов достигших УВО РНК ВГС не выявляется в течение 5 лет с вероятностью 97–99% [28]. Современный стандарт лечения ХГС предполагает использование комбинированной терапии препаратами пегелированного интерферона- α (ПЭГ-ИФН) с рибавири-

ном (РБВ) в течение 24–48 недель, однако устойчивого ответа удается достичь только в 54–63% случаев [17, 18, 24].

Выявление факторов, определяющих эффективность противовирусного лечения, позволило бы индивидуализировать схемы лечения, определить оптимальную его длительность и достичь УВО в каждом конкретном случае. Кроме того, лечение ПЭГ-ИФН и РБВ сопряжено с множеством побочных эффектов и раннее выявление тех пациентов, у которых лечение окажется неэффективным, позволило бы избежать множества нежелательных последствий.

Исследования последних лет позволили выявить некоторые факторы, от которых зависит ответ на противовирусное лечение. Ряд из этих факторов отражает характеристики пациента, другие факторы относятся к особенностям вируса (рис. 1). При этом для прогноза эффективности лечения важными оказались не только (и не столько) статические характеристики пациента и вируса до начала лечения, но также и динамические характеристики вирусной нагрузки в процессе лечения [3, 7, 22, 42].

Генотипы ВГС

Наиболее важным фактором, от которого зависит эффективность противовирусного лечения, является генотип вируса. Согласно современной классификации ВГС подразделяют на 6 генотипов, каждый из которых, в свою очередь подразделяется на некоторое количество

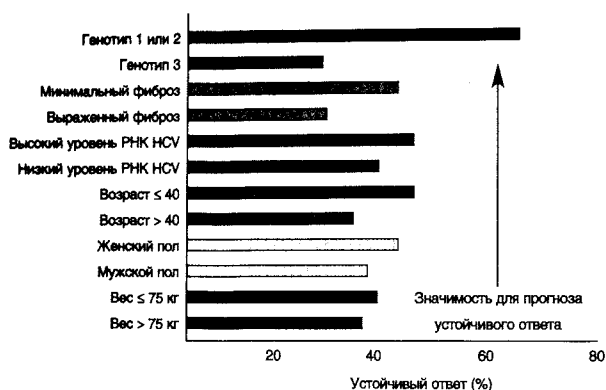


Рисунок 1. Факторы, определяющие эффективность противовирусного лечения. По McHatchison J.G. [27].

субтипов [47]. Генотип вируса обозначается арабскими цифрами, а субтип – строчными латинскими буквами. В ряде работ было показано, что генотип 1 ВГС хуже отвечает на противовирусное лечение, чем другие генотипы вируса [17, 18, 21, 24, 26, 41, 53]. Процент УВО при комбинированном лечении ПЭГ-ИФН и РБВ в течение 48 недель у пациентов с генотипом 1 ВГС варьирует от 41 до 52% [17, 18, 24], в то время как у пациентов с генотипом 2 или 3 при таком же комбинированном лечении в течение 48 недель УВО удается достичь в 76–84% случаев [17, 18, 28, 55]. Более того, было показано, что сокращение длительности лечения до 24 недель не приводит к снижению эффективности лечения у пациентов со 2 и 3 генотипом вируса по сравнению с 48-недельным курсом [18, 26, 41, 55]. В этой группе пациентов доля УВО составляла 81–84% по сравнению с 76–82% в группе пациентов, лечившихся 48 недель [17, 18, 24, 55]. Было доказано, что для пациентов с генотипом вируса 2 и 3 возможно использование комбинированных схем лечения с более низкими дозами РБВ без ухудшения показателей УВО. Так, снижение дневной дозы РБВ с 1200 до 800 мг в комбинации с ПЭГ-ИФН-альфа-2а не привело к снижению доли пациентов с УВО [18].

Приведенные выше факты явились основой для разработки различных рекомендаций по лечению для пациентов с генотипом 1 и генотипами 2 или 3 и отразились в консенсусном мнении международных экспертов по лечению ХГС. Причины выявленных отличий в эффективности противовирусного лечения между генотипами ВГС изучены недостаточно. В исследованиях на основе моделирования инфекционного процесса при лечении ХГС выдвигаются предположения, что подобные различия в эффективности противовирусного лечения для

генотипа 1 и генотипов 2 и 3 могут быть следствием более медленного процесса разрушения гепатоцитов при инфицировании генотипом 1 ВГС [33, 54].

В большинстве ранних исследований генотипы 2 и 3 считались «благоприятными» и рассматривались как единая группа в сравнении с генотипом 1. Однако в ряде работ последних лет было показано, что различия в эффективности противовирусного лечения существуют также и для генотипов 2 и 3. Так, при лечении ПЭГ-ИФН α -2b у пациентов с генотипом 2 ВГС удавалось достичь УВО в 80–93% случаев, тогда как для генотипа 3 доля пациентов с УВО составляла лишь 66–71% [23, 55].

Неоднородной с точки зрения эффективности лечения оказывается и группа пациентов с генотипом 1 ВГС. Анализ данных двух исследований 2006 года показал, что пациенты с генотипом 1a вируса хуже отвечают на комбинированное противовирусное лечение, чем пациенты с генотипом 1b [19, 56]. Однако эти результаты требуют дополнительного изучения, так как в исследовании с другими характеристиками пациентов была выявлена противоположная тенденция [2].

Данных, касающихся генотипов 4, 5 и 6 опубликовано мало, хотя эти генотипы часто встречаются в регионах с высокой пораженностью ХГС. Генотип 4 наиболее часто выявляется в Египте и Африке, генотип 5 – в Южной Африке, генотип 6 – в Юго-Восточной Азии. Эффективность лечения пациентов с генотипом 4 ВГС в значительной степени зависит от географического фактора. Так, пациенты-египтяне гораздо лучше отвечают на противовирусное лечение, чем пациенты из других регионов, что может свидетельствовать о большей чувствительности Египетских штаммов 4-го генотипа к лечению [15]. Данные исследований, касающиеся способности генотипа 5 отвечать на лечение, противоречивы: одни авторы относят этот генотип к «благоприятным» [36], другие считают, что он ближе к «неблагоприятному» генотипу 1 [10]. Генотип 6 с точки зрения прогноза эффективности противовирусного лечения занимает промежуточное положение между генотипом 1 и генотипами 2 и 3 [36].

Таким образом, генотип ВГС является важным фактором, определяющим эффективность противовирусного лечения, а, следовательно, и его тактику. В настоящее время в России зарегистрировано и разрешено к применению несколько тест-систем отечественного производства для генотипирования ВГС, основанных на генотип-специфичной ПЦР, позволяющих выявлять основные генотипы ВГС.

Значение качественных и количественных методов определения РНК ВГС

Вирусная нагрузка до лечения

В настоящее время вирусная нагрузка при ХГС измеряется в международных единицах на мл (МЕ/мл). Переход на МЕ с других единиц измерения (копий/мл, эквивалент генома/мл) стал возможен после создания международного количественного стандарта РНК ВГС и в значительной мере способствовал стандартизации измерений концентрации вирусной РНК в тест-системах разных производителей. В России на сегодняшний день разрешены к применению две тест-системы для количественного измерения РНК ВГС в плазме крови: АмплиСенс ВГС монитор (ФГУН «Центральный НИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора) и Cobas AmpliCor HCV Monitor (Roche Diagnostics). В современных исследованиях границей между высокой и низкой вирусной нагрузкой принято считать 600 000 МЕ/мл, хотя в более ранних работах встречалась цифра 800 000 МЕ/мл (2 000 000 копий/мл). Поскольку термин не является устоявшимся, в настоящем обзоре при его упоминании мы будем указывать конкретное значение.

Хотя в большинстве исследований было показано, что степень поражения печени при ХГС не зависит от вирусной нагрузки, пациенты с высокой вирусной нагрузкой до лечения хуже отвечают на противовирусную терапию препаратами интерферона. Результаты клинических испытаний комбинированной терапии ИФН и РБВ в сравнении с монотерапией ПЭГ-ИФН α -2а и ПЭГ-ИФН α -2b было показано, что низкая вирусная нагрузка (800 000 МЕ/мл) является независимым фактором, влияющим на УВО [21, 26, 41, 53]. Подобные результаты были получены и в испытаниях комбинированной терапии ПЭГ-ИНФ α -2b с РБВ. В этих испытаниях среди пациентов с низкой вирусной нагрузкой (<800 000 МЕ/мл) УВО достигли 78%, тогда как среди пациентов с высокой вирусной нагрузкой – только 42% [24]. В ряде работ было показано, что пациенты с генотипом 3 и высокой вирусной нагрузкой (>600 000 МЕ/мл [12], >800 000 МЕ/мл [50]) значительно хуже отвечают на лечение, чем пациенты с генотипом 2 или генотипом 3 и низкой вирусной нагрузкой и, возможно, требуют более длительного лечения.

Моделирование вирусной кинетики в процессе лечения

Попытки проанализировать и обобщить накопившиеся данные о динамике вирусной нагрузки в процессе противовирусного лечения привели к созданию ряда математи-

ческих моделей вирусной кинетики. В стандартные модели включаются такие параметры как число инфицированных и неинфицированных гепатоцитов, количество вируса в плазме крови, взаимоотношения между которыми описываются рядом постоянных коэффициентов (скорость элиминации вируса из плазмы, скорость разрушения инфицированных гепатоцитов, количество вируса, продуцируемого инфицированным гепатоцитом и т.д.) [33, 34, 40]. В процессе лечения, как правило, наблюдается двухфазное снижение вирусной нагрузки: начальная фаза (первые 24–48 часов) характеризуется быстрым снижением концентрации РНК ВГС в плазме, для второй фазы характерно более медленное снижение. Расчетные параметры, как первой, так и второй фазы позволяют достаточно точно прогнозировать вероятность УВО [34, 54]. Однако этот подход сегодня мало применим в клинической практике, так как для создания математической модели необходимы частые измерения вирусной нагрузки в течение первых 2–6 недель лечения.

Лабораторные критерии раннего вирусологического ответа

Как отмечалось выше, эффективность противовирусной терапии ХГС составляет далеко не 100%, поэтому одной из главных задач оптимизации алгоритмов лечения является максимально рано после начала лечения выявить тех пациентов, у которых не удастся достичь УВО, другими словами, выявить пациентов, у которых отсутствует ранний вирусологический ответ (РВО). В большинстве опубликованных исследований по лечению ХГС в качестве критериев РВО используется качественное или количественное определение РНК ВГС через 4, 12 и 24 недели после начала лечения [3, 13, 16, 17, 20, 49]. Во всех исследованиях для оценки критерия РВО используются понятия отрицательного предсказательного значения (ОПЗ) и положительного предсказательного значения (ППЗ).

$$\text{ОПЗ} = \frac{\text{Число пациентов, не достигших устойчивого вирусологического ответа}}{\text{Число пациентов, не имевших раннего вирусологического ответа}} \cdot 100\%$$

$$\text{ППЗ} = \frac{\text{Число пациентов, достигших устойчивого вирусологического ответа}}{\text{Число пациентов, имевших ранний вирусологический ответ}} \cdot 100\%$$

ОПЗ определяется как процент пациентов, не достигших УВО, среди тех, у кого не наблюдалось РВО.

Таблица 1. Критерии раннего вирусологического ответа в процессе комбинированного лечения ИНФ и РБВ

Критерий РВО	Срок (неделя)	Лечение	Автор	ОПЗ, %	ППЗ, %
Качественное выявление РНК HCV					
РНК ВГС в плазме не выявляется методом ПЦР (чувствительность 50 МЕ/мл)	4	ПЭГ-ИФН + РБВ, 48 нед.	Davis G.L. [13]	59	89
	12	ПЭГ-ИФН + РБВ, 48 нед.	Davis G.L. [13]	91	84
		Fried M.W. [17]	79	75	
	24	ПЭГ-ИФН + РБВ, 48 нед.	Davis G.L. [13]	99	81
ИФН + РБВ/ПЭГ-ИФН + РБВ, 48 нед.		Mihm U. [29]	100	58	
Измерение вирусной нагрузки (однократное)					
РНК ВГС \leq 450 000 МЕ/мл	4	ИФН + РБВ/ПЭГ-ИФН + РБВ/ПЭГ-ИФН, 24/48 нед.	Berg J.T. [3]	100	57
РНК ВГС \leq 100 000 МЕ/мл	4	ИФН + РБВ, 24/48 нед.	Terrault N.A. [49]	100	56
РНК ВГС \leq 750 МЕ/мл	4	ИФН + РБВ/ПЭГ-ИФН + РБВ/ПЭГ-ИФН, 24/48 нед.	Berg J.T. [3]	81	89
РНК ВГС \leq 10 000 МЕ/мл	8	ИФН + РБВ, 24/48 нед.	Terrault N.A. [49]	99	67
РНК ВГС \leq 30 000 МЕ/мл	12	ИФН + РБВ/ПЭГ-ИФН + РБВ/ПЭГ-ИФН, 24/48 нед.	Berg J.T. [3]	100	65
РНК ВГС \leq 10 000 МЕ/мл	12	ИФН + РБВ, 24/48 нед.	Terrault N.A. [49]	97	59
Измерение вирусной нагрузки (в динамике)					
Снижение РНК ВГС \geq 3 log (в 1000раз)	4	ПЭГ-ИФН + РБВ, 48 нед.	Davis G.L. [13]	75	82
	12	ПЭГ-ИФН + РБВ, 48 нед.	Davis G.L. [13]	95	73
		ПЭГ-ИФН + РБВ, 48 нед.	Davis G.L. [13]	87	70
Снижение РНК ВГС \geq 2 log (в 100 раз)	4	ПЭГ-ИФН, 48 нед.	Lee S.S. [20]	91	54
		ПЭГ-ИФН + РБВ, 48 нед.	Ferenci P. [16]	74	75
	8	ИФН + РБВ, 24/48 нед.	Terrault N.A. [49]	98	67
		ИФН + РБВ, 24/48 нед.	Terrault N.A. [49]	97	61
	12	ПЭГ-ИФН, 48 нед.	Lee S.S. [20]	98	46
		ПЭГ-ИФН + РБВ, 48 нед.	Fried M.W. [17]	97	65
		ПЭГ-ИФН + РБВ, 48 нед.	Davis G.L. [13]	100	72
	24	ПЭГ-ИФН + РБВ, 48 нед.	Ferenci P. [16]	100	66
Снижение РНК ВГС \geq 1 log (в 10 раз)	4	ПЭГ-ИФН + РБВ, 48 нед.	Davis G.L. [13]	95	70
	12	ПЭГ-ИФН + РБВ, 48 нед.	Davis G.L. [13]	100	66

ППЗ, в свою очередь, определяется как процент пациентов, имевших УВО, среди тех, у кого наблюдался РВО. Особую важность имеет ОПЗ, которое в идеале должно быть равно 100%, чтобы избежать преждевременной отмены лечения у тех пациентов, которые имеют шанс достичь УВО. С другой стороны, пациенты, у которых наблюдался РВО, должны с высокой вероятностью достигать УВО. В противном случае, большое число пациентов будут напрасно продолжать лечение.

Качественное выявление РНК HCV в процессе лечения

ОПЗ и ППЗ для критериев раннего вирусологического ответа, полученные в различных исследованиях, приведены в таблице 1. Если в качестве критерия РВО использовать отрицательный результат, полученный при выявлении РНК ВГС методом ПЦР (чувствительность

50 МЕ/мл) в плазме крови на 4 неделе лечения, то доля пациентов, достигших УВО среди тех, которые имели РВО, будет достаточно высокой (89%). Однако, при относительно высоком ППЗ этого критерия, ОПЗ составляет менее 60%, что является неприемлемо низким значением [13]. Использование того же критерия на 12 неделе лечения, повышает значение ОПЗ в среднем до 85% [13, 17]. Это означает, что при использовании обсуждаемого критерия у 15% пациентов, которые могли бы достичь УВО, лечение было бы напрасно прервано. На 24 неделе лечения этот критерий приобретает ОПЗ близкое к 100% при достаточно хороших показателях ППЗ (в среднем 70%), что является вполне удовлетворительным [13, 29]. Таким образом, использование качественных методов обнаружения РНК ВГС на 4 и 12 неделях лечения является слишком жестким критерием оценки РВО и может приводить к необоснованному прерыванию лечения у значительной

доли пациентов, потенциально имеющих возможность достичь УВО. Однако на 24 неделе лечения этот критерий может вполне быть применим, учитывая высокие показатели ППЗ и, что более важно, ОПЗ.

Следует отметить, что описанные выше значения ОПЗ и ППЗ были получены для качественных методов обнаружения РНК ВГС с чувствительностью 50 МЕ/мл. Использование тест-систем с более высокой чувствительностью будет приводить к снижению ОПЗ и повышению ППЗ данного критерия, однако такие тест-системы на российском рынке пока недоступны. Напротив, применение менее чувствительных тест-систем приведет к повышению ОПЗ и снижению ППЗ. Другими словами, риск необоснованного прерывания лечения будет снижаться, а риск напрасного продолжения лечения будет возрастать, что для пациента, настроенного на лечение, является приемлемым.

Однократное измерение вирусной нагрузки в процессе лечения

Во многих исследованиях были предприняты попытки решить задачу разработки критериев РВО с использованием количественных методов оценки вирусной нагрузки. Ряд авторов попытались найти пограничное значение вирусной нагрузки, которое бы имело высокие показатели ОПЗ и ППЗ в течение первых 12 недель лечения (таблица 1) [3, 49]. При использовании в качестве порогового значения 450 000 МЕ/мл на 4 неделе комбинированного лечения ПЭГ-ИФН и РБВ были получены очень хорошие показатели ОПЗ (100%), тогда как ППЗ было неудовлетворительно низким (57%). Значение вирусной нагрузки 750 МЕ/мл, напротив, давало хорошие показатели ППЗ, тогда как ОПЗ снижался до неприемлемого значения (81%) [3]. При лечении короткоживущими ИФН в комбинации с РБВ значение 100 000 МЕ/мл на 4 неделе давало не очень высокие показатели ППЗ, тогда как уровень вирусной нагрузки 10 000 МЕ/мл уже на 8 неделе имел приемлемые показатели ППЗ (67%) при отличном уровне ОПЗ (99%) [48]. Все критерии на 12 неделе, при высоких значениях ОПЗ, имели недостаточно высокое ППЗ. Подводя итог, следует отметить, что для комбинированной терапии ПЭГ-ИФН и РБВ, которая в настоящее время является оптимальной, не удалось найти адекватного порогового значения вирусной нагрузки для использования в качестве критерия РВО ни на 4, ни на 12 неделе лечения. При лечении короткоживущими ИФН в комбинации с РБВ вполне удовлетворительным критерием РВО может быть уровень вирусной нагрузки 10 000 МЕ/мл и ниже.

Динамическое измерение вирусной нагрузки в процессе лечения

В работах по моделированию динамики изменения концентрации РНК ВГС в плазме крови в процессе лечения было показано, что скорость снижения вирусной нагрузки является одним из ключевых факторов прогноза эффективности лечения [33, 34, 40, 54]. В связи с этим, были предприняты попытки найти оптимальный критерий РВО на основе динамических показателей на 4, 8, 12 и 24 неделях лечения [13, 16, 17, 20, 49]. Снижение концентрации РНК ВГС в плазме крови на 3 log (в 1000 раз) и более на 4 и 12 неделях комбинированного лечения препаратами ПЭГ-ИФН и РБВ оказалось слишком жестким критерием РВО. При достаточно хороших показателях ППЗ (82% на 4 неделе и 75% на 12 неделе), значения ОПЗ оказались низкими (75% – на 4 неделе и 95% – на 12 неделе). Снижение концентрации РНК ВГС на 2 log (в 100 раз) и более для 4 недели лечения оказался также жестким критерием (ОПЗ в среднем 80%). Однако на 12 неделе лечения этот критерий дал хорошие результаты. В исследовании Davis G.L. с соавт. ОПЗ составлял 100% при уровне ППЗ 72% [13]. На 24 неделе лечения значительного улучшения показателей ППЗ и ОПЗ для этого критерия не наблюдалось. Для комбинированной терапии короткоживущими ИФН с РБВ данный критерий показал наилучшие значения ППЗ и ОПЗ на 8 неделе лечения (98% и 67% соответственно), без улучшения показателей к 12 неделе [49]. Хотя снижение концентрации РНК ВГС на 1 log (в 10 раз) и более в качестве критерия РВО давало относительно неплохие показатели, по сравнению с предыдущим критерием: на 4 неделе значение ОПЗ было ниже, а на 12 неделе было ниже значение ППЗ [13]. Таким образом, из динамических критериев РВО при лечении ПЭГ-ИФН в комбинации с РБВ оптимальным оказалось снижение вирусной нагрузки на 2 log (в 100 раз) и более на 12 неделе. Для комбинированной терапии короткоживущими ИФН с РБВ этот критерий РВО возможно использовать уже на 8 неделе.

Лабораторные критерии быстрого и медленного вирусологического ответа

Ретроспективный анализ результатов некоторых многоцентровых исследований выявил, что группа пациентов имевших РВО на 12 неделе (снижение вирусной нагрузки на 2 log (в 100 раз) неоднородна. У части пациентов вирусная РНК не обнаруживается качественными методами при чувствительности 50 МЕ/мл уже на 4 неделе лечения, у других же она исчезает только к 24 неделе лечения. В первом случае вирусологический

Таблица 2. Национальные и международные консенсус-рекомендации по диагностике и лечению гепатита С

Название документа, конференция/организация	Страна	Год	Статус
Ведение больных гепатитом С 1997, Консенсус-конференция национальных институтов Здоровья США (NIH) [30]	США	1997	международный
Консенсус-рекомендации, международная консенсус-конференция Европейского общества по изучению печени (EASL) [9]	Франция	1999	международный
Гепатит С - Российский консенсус, Научно-практическая конференция [1]	Россия	2000	национальный
Ведение больных гепатитом С 2002, Консенсус-конференция национальных институтов здоровья США (NIH) [31]	США	2002	международный
Лечение гепатита С. Французский консенсус 2002. [14]	Франция	2002	национальный
Руководство по гепатиту С 2002: реферат и замечания (Скандинавский консенсус). [37]	Нидерланды	2003	региональный
Практические рекомендации, Американская ассоциация по изучению болезней печени (AASLD) [48]	США	2004	национальный
Ведение больных хроническими вирусными гепатитами, Канадская консенсус-конференция 2004 [45]	Канада	2004	национальный
Стандарт лечения острого и хронического гепатита С, Германская ассоциация по болезням органов пищеварения и нарушениям обмена веществ [51]	Германия	2004	национальный

ответ назвали быстрым (БВО), во втором случае – медленным (МВО).

Ряд авторов показали, что у пациентов с генотипом 1 ВГС и БВО длительность противовирусного лечения может быть сокращена до 24 недель без снижения процента УВО в этой группе [19, 52]. Обнадешивающие данные были получены и для пациентов с генотипами 2 и 3, получавших комбинированное лечение ПЭГ-ИФН α -2b и РБВ. Те из них, кто показал БВО, проходили сокращенный курс лечения (14 недель) и 90% из них достигли УВО. Тогда как пациенты, не имевшие БВО, лечились 24 недели и только 56% из них достигли УВО [12]. Однако применение этих результатов требует осторожности, поскольку в другом исследовании с использованием ПЭГ-ИФН α -2a в комбинации с РБВ сокращение лечения до 16 недель приводило к снижению процента УВО, особенно среди пациентов с генотипом 3 ВГС [46].

Для пациентов с генотипом 1 имевших МВО целесообразным оказалось продление стандартного курса лечения с 48 до 72 недель. Это позволило значительно снизить частоту рецидивов и повысить процент УВО с 32 до 46% [4, 43].

Таким образом, использование качественного метода обнаружения РНК ВГС с чувствительностью 50 МЕ/мл на 4 и 24 неделях лечения позволяет выявить пациентов с быстрым и медленным вирусологическим ответом и оптимизировать алгоритм лечения для каждой из этих групп.

Молекулярные методы диагностики в современных консенсус-рекомендациях по диагностике и лечению ХГС

Как следует из изложенного выше, проблема диагностики и лечения гепатита С была и остается актуальной. Несмотря на множество опубликованных исследований, остается много нерешенных вопросов, неоднозначных, а порой и противоречивых результатов. Для того, чтобы выработать обобщенное, взвешенное мнение о тактике диагностики и лечения гепатита С в течение последних 10 лет было проведено несколько «консенсус-конференций» с участием ведущих экспертов в области гепатологии. Кроме того, ряд национальных ассоциаций обобщили данные современных исследований в собственных рекомендациях по диагностике и лечению гепатита С (таблица 2) [1, 9, 14, 30, 31, 37, 45, 48, 51]. Относительно недавно были опубликованы рекомендации Американской ассоциации по изучению болезней печени (AASLD) [48], материалы Канадской «консенсус-конференции» [45] и стандарт лечения гепатита С, выработанный Германской ассоциацией по болезням органов пищеварения [51]. Последняя «консенсус-конференция» международного уровня была организована Национальным институтом Здоровья США в 2002 году [31]. Применение молекулярных методов диагностики для генотипирования ВГС, качественного выявления РНК ВГС и определения вирусной нагрузки вошло во все консенсус-рекомендации как основа для оптимизации алгоритмов лечения ХГС.

Главным фактором, определяющим длительность лечения и выбор схемы лечения, является генотип вируса. Во всех консенсус-документах рекомендуется 48 недель лечения для пациентов с генотипом 1 ВГС и 24 недели – для пациентов с генотипом 2 или 3. Основываясь на результатах большого многоцентрового рандомизированного исследования [18], большинство экспертов рекомендуют стандартную дозу РБВ для пациентов с генотипами 2 и 3 (800 мг/день) и более высокую, подобранную в зависимости от веса, дозу для пациентов с генотипом 1 ВГС (1000-1200 мг/день). Для пациентов с генотипами 4, 5 и 6 рекомендации такие же, как и для пациентов с генотипом 1 [39].

Для пациентов с генотипом 1 ВГС в качестве критерия РВО рекомендуется использовать снижение вирусной нагрузки в плазме крови на $2 \log$ (в 100 раз) и более на 12 неделе лечения по сравнению с вирусной нагрузкой до начала лечения. Следует отметить, что согласно рекомендациям Канадской «консенсус-конференции», при принятии решения о прерывании терапии необходимо учитывать возможность колебаний результатов количественных тестов до $0,5 \log$. В данных рекомендациях снижение на $1,8 \log$ предлагается считать критерием достижения РВО [45]. Важно также дополнить, что количественные исследования вирусной нагрузки до лечения и через 12 недель после начала лечения необходимо проводить с использованием одной и той же тест-системы, поскольку колебания значений концентрации между тест-системами могут быть еще более выраженными [6]. Как дополнение к вышеописанному критерию РВО, Канадские и Германские консенсус-документы рекомендуют проводить качественное исследование на РНК ВГС на 24 неделе лечения у тех пациентов, которые имели положительный результат на 12 неделе. В случае положительного результата лечение рекомендуется прекратить. Учитывая высокий процент УВО у пациентов со 2 и 3 генотипами вируса, согласно имеющимся рекомендациям оценивать РВО на 12 неделе лечения у таких пациентов необходимости нет.

Важное дополнение к существующим рекомендациям, касающееся сокращения сроков лечения у пациентов с генотипом 1 ВГС, было сделано на основе недавнего исследования Zeuzem с соавт. [52]. Согласно результатам, полученным авторами, у пациентов с генотипом 1 и низкой вирусной нагрузкой до лечения ($\leq 600\,000$ МЕ/мл) длительность комбинированного лечения ПЭГ-ИФН α -2b и РБВ может быть сокращена до 24 недель, при условии отрицательного результата выявления РНК ВГС на 4 неделе лечения. Несмотря на то, что эти данные пока

не обсуждались на «консенсус-конференциях», Европейское агентство по оценке изделий медицинского назначения (ЕМЕА) одобрило использование данной схемы лечения.

Результаты исследований, касающиеся более длительных курсов лечения у пациентов с генотипом 1 и МВО, а также у пациентов с генотипом 3 и высокой вирусной нагрузкой пока не вошли в опубликованные консенсус-рекомендации. Современный алгоритм использования молекулярных методов диагностики для оптимизации схем лечения ХГС приведен на рис. 2.

Перспективы использования молекулярных методов диагностики для оптимизации алгоритмов лечения ХГС

Быстрое развитие инновационных технологий в области молекулярной диагностики открывает широкие возможности для разработки современных подходов к поиску новых маркеров для прогноза эффективности противовирусной терапии. Быстрое развитие технологии ПЦР в реальном времени значительно ускорило и упростило применение количественных методов оценки вирусной нагрузки, сделала эти методы более точными и воспроизводимыми. Это, в свою очередь, позволит в будущем более широко использовать в клинической практике эффективные критерии прогноза на основе ранней кинетики РНК ВГС, которые уже на первой неделе лечения позволяют точно прогнозировать устойчивость ответа на лечение [35].

Все чаще в современных исследованиях выявляют мутации в геноме человека, наличие которых коррелирует с исходом лечения. Schott E. с соавт. обнаружили нуклеотидную замену в гене, кодирующем один из антигенов цитотоксических Т-лимфоцитов (CTLA-4), присутствие которой было достоверно связано с более выраженным РВО [44]. Внедрение в практику методов широкомасштабного выявления точечных мутаций даст возможность учитывать генетические факторы хозяина в прогнозировании эффективности лечения.

В ряде работ, касающихся изучения экспрессии генов в гепатоцитах с использованием технологии микрочипов, удалось выявить целый ряд генов, по уровню экспрессии которых возможно с высокой точностью предсказать вероятность УВО при лечении ХГС на основе ИФН [8,11]. Внедрение этой технологии в практику здравоохранения очевидно, откроет новые возможности для оптимизации алгоритмов лечения ХГС.

Первые исследования на основе современных протеомных технологий, касающиеся изучения закономерностей

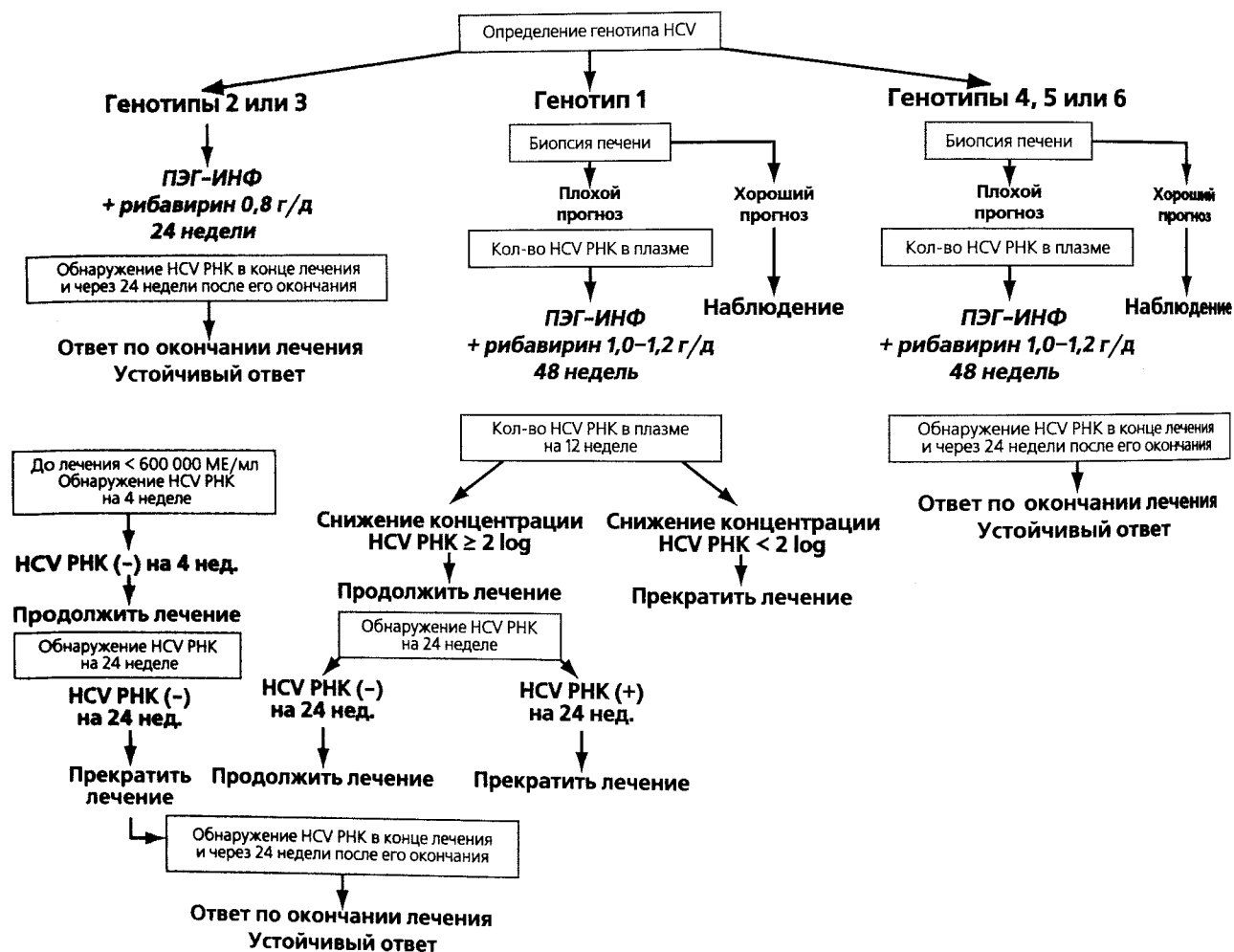


Рисунок 2. Современные алгоритмы использования молекулярных методов диагностики для оптимизации тактики лечения ХГС. По Pawlotsky J.-M. [39]

ответа на противовирусное лечение, открывают новое направление для развития эффективных диагностических методов. Исследуя белковый профиль сыворотки крови при различных исходах лечения, Paradis V. с соавт. удалось идентифицировать специфические белковые пики, эффективно предсказывающие вероятность УВО [38].

Результаты исследований, опубликованные в 2005–2006 годах, показали новые возможности для дальнейшего совершенствования алгоритмов лечения ХГС на основе более глубокого анализа генетических особенностей вируса и пациента. Быстрое развитие и внедрение в клиническую практику инновационных молекулярных технологий, таких как ПЦР в режиме реального времени, ДНК микрочипы и методы протеомики, позволяют значительно повысить прогностические возможности лабораторной диагностики и индивидуализировать подходы к лечению хронического гепатита С.

Литература

1. Материалы научно-практической конференции "Гепатит С (Российский консенсус)", Москва, 26-27 сентября 2000 г.
2. Alberti A., Colombo M., Craxi A. et al. HCV-1 subtypes and response to pegylated interferon plus ribavirin therapy. *J. Clin. Virol.*, 2006; 36(Suppl. 2):S132.
3. Berg J.T., Sarrazin C., Herrmann E. et al. Prediction of treatment outcome in patients with chronic hepatitis C: significance of baseline parameters and viral dynamics during therapy. *Hepatology*, 2003; 37:600-609.
4. Berg T., von Wagner M., Hinrichsen H. et al. Reduction of the relative relapse rate by prolongation of the duration of a therapy with peginterferon alfa-2a plus ribavirin in patients with genotype 1 infection up to 72 weeks. *Hepatology*, 2004; 40:238A.
5. Berkes J., Cotler S.J. Global epidemiology of HCV infection. *Current hepatitis reports*, 2005, 4(4):125-129.

6. Caliendo A.M., Valsamakis A., Zhou Y. et al. Multilaboratory comparison of hepatitis C virus viral load assays. *J. Clin. Microbiol.*, 2006; 44(5):1726-1732.
7. Castro F.J., Esteban J.I., Juarez A. et al. Early detection of nonresponse to interferon plus ribavirin combination treatment of chronic hepatitis C. *J. Viral. Hepat.* 2002, 9:202-207.
8. Chen L., Borozan I., Feld J. et al. Hepatic gene expression discriminates responders and nonresponders in treatment of chronic hepatitis C viral infection. *Gastroenterology*, 2005; 128:1437-1444.
9. Consensus Statement. EASL international consensus conference of hepatitis C: Paris 26-27 February 1999. *J. Hepatol.*, 1999; 31(Suppl. 1):3-8.
10. D'heygere F. Patients infected with HCV-5 showed no differences in response rates as compared to patients with HCV-1: results from Belgian randomized trial for naïve and relapsers (BERNAR-1). Abstract 558. 40th EASL, April 13-17, 2005, Paris, France.
11. Daiba A., Inaba N., Ando S. et al. A low-density cDNA microarrays with a unique reference RNA: pattern recognition analysis for IFN efficacy prediction to HCV as a model. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2004; 315(4):1088-1096.
12. Dalgard O., Bjoro K., Minerva N. et al. Treatment with pegylated interferon and ribavirin in HCV infection with genotype 2 or 3 for 14 weeks: a pilot study. *Hepatology*, 2004; 40:1260-1265.
13. Davis G.L., Wong J.B., McHutchison J.G. et al. Early virologic response to treatment with peginterferon alpha-2b plus ribavirin in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology*, 2003, 38:645-652.
14. Dhumeaux D., Marcellin P., Lerebours E. Treatment of hepatitis C. The 2002 French consensus. *Gut*, 2003; 52:1784-1787.
15. El Ray A., Moukari R., Ripault M. et al. Egyptian patients have better sustained response and more rapid drop of HCV RNA level than non-Egyptian patients with HCV genotype 4. *J. Clin. Virol.*, 2006, 36 (Suppl. 2):S133.
16. Ferenci P., Fried M.W., Shiffman M.L. et al. Predicting sustained virological responses in chronic hepatitis C patients treated with peginterferon alpha-2a (40 kd)/ribavirin. *J. Hepatol.* 2005, 43:425-433.
17. Fried M.W., Shiffman M.L., Reddy K.R. et al. Peginterferon alpha-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N. Engl. J. Med.*, 2002, 347:975-982.
18. Hadziyannis S.J., Sette H. Jr., Morgan T.R. et al. Peginterferon alpha-2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann. Intern. Med.*, 2004; 140:345-355.
19. Jensen D.M., Morgan T.R., Marcellin P. et al. Early identification of HCV genotype 1 patients responding to 24 weeks peginterferon alpha-2a (40 kd)/ribavirin therapy. *Hepatology*, 2006, 43:954-960.
20. Lee S.S., Heathcote E.T., Reddy K.R. et al. Prognostic factors and early predictability of sustained viral response with peginterferon alpha-2a (40 kd). *J. Hepatol.*, 2002; 37:500-506.
21. Lindsay K.L., Treppe C., Heintges T. et al. A randomized, double-blind trial comparing pegylated interferon alpha-2b to interferon alpha-2b as initial treatment for chronic hepatitis C. *Hepatology*, 2001, 34:395-403.
22. Liu L.W., Tomlinson G., Mazzulli T. et al. Early prediction of nonresponders to treatment with interferon alpha-2b and ribavirin in patients with chronic hepatitis C. *Can. J. Gastroenterol.*, 2003, 17:483-487.
23. Mangia A., Santoro R., Minerva N. et al. Peginterferon alpha-2b and ribavirin for 12 vs. 24 weeks in HCV genotype 2 or 3. *N. Engl. J. Med.*, 2005, 352:2609-2617.
24. Manns M.P., McHutchison J.G., Gordon S.C. et al. Peginterferon alpha-2b plus ribavirin compared with interferon alpha-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomized trial. *Lancet*, 2001; 358:958-965.
25. Marcellin P., Boyer N., Gervais A. et al. Long-term histologic improvement and loss of detectable intrahepatic HCV RNA in patients with chronic hepatitis C and sustained response to interferon-alpha therapy. *Ann. Intern. Med.*, 1997; 127:875-881.
26. McHutchison J.G., Gordon S.C., Schiff E.R. et al. Interferon alpha-2b alone or in combination with ribavirin as initial treatment for chronic hepatitis C. Hepatitis International Therapy Group. *N. Engl. J. Med.*, 1998, 339:1485-1492.
27. McHutchison J.G., Poynard T. Combination therapy with interferon plus ribavirin for the initial treatment of chronic hepatitis. *Semin. Liver. Dis.*, 1999;19(Suppl 1):57-65.
28. McHutchison J.G., Shiffman M.L., Gordon S.C. et al. Sustained virologic response (SVR) to interferon-alpha-2b +/- ribavirin therapy at 6 months reliably predict long-term clearance of HCV at 5-year follow-up. *J. Hepatol.*, 2006; 44(Suppl. 2):S275.
29. Mihm U., Hofmann W.P., Kronenberger B. et al. Highly sensitive hepatitis C virus RNA detection assays for decision of treatment (dis)continuation in patients with chronic hepatitis C. *J. Hepatol.*, 2005; 42:605-606.
30. National Institutes of Health Consensus Development Conference Panel statement: management of hepatitis C. *Hepatology*, 1997;26(3 Suppl 1):2S-10S
31. National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement: Management of hepatitis C 2002 (June 10-12, 2002). *Hepatology*, 2002; 36(Suppl. 1):S3-S20.
32. Neiderau C., Lange S., Heintges T. et al. Prognosis of chronic hepatitis C: results of a large prospective cohort study. *Hepatology*, 1998; 28:1687-1695.
33. Neumann A.U., Lam N.P., Dahari H. et al. Differences in viral dynamics between genotypes 1 and 2 of hepatitis C virus. *J. Infect. Dis.*, 2000; 182:28-35.

34. Neumann A.U., Lam N.P., Dagari H. et al. Hepatitis C viral dynamics in vivo and the antiviral efficacy of interferon-alpha therapy. *Science*, 1998, 282:103-107.
35. Neumann A.U., Schalm S.W., von Wagner M. et al. Early viral kinetics prediction of sustained virological response after 1 or 4 weeks of PEG-interferon-alfa-2a and ribavirin therapy (DITTO-HCV project). *Hepatology*, 2003; 42(Suppl. 1):248A.
36. Nguyen M.N., Keefe E.B. Prevalence and treatment of hepatitis C virus genotype 4, 5 and 6. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.*, 2005, 3(Suppl. 3):97-101.
37. Orlent H., Vrolijk J.M., Veldt B.J., Schalm S.W. Hepatitis C 2002 guidelines: summary and annotations. *Scand. J. Gastroenterol.*, 2003; 00 (Suppl):105-110.
38. Paradis V., Asselah T., Dargere D. et al. Serum proteome to predict virologic response in patients with hepatitis C treated by pegylated interferon plus ribavirin. *Gastroenterology*, 2006; 130(7):2189-2197.
39. Pawlotsky J-M. Therapy of hepatitis C: from empiricism to eradication. *Hepatology*, 2006; 43(Suppl. 1):S207-S220.
40. Powers K. A., Dixit N.M., Ribeiro R.M. et al. Modeling viral and drug kinetics: hepatitis C virus treatment with pegylated interferon alfa-2b. *Semin. Liver Dis.*, 2003, 126:703-714.
41. Poynard T., Marcellin P., Lee S.S. et al. Ransomed trial of interferon alpha2b plus ribavirin for 48 weeks or for 24 weeks vs. interferon alpha2b plus placebo for 48 weeks for treatment of chronic infection with hepatitis C virus. International Hepatitis Interventional Therapy Group (IHIT). *Lancet*, 1998, 352:1426-1432.
42. Poynard T., McHutchison J., Goodman Z. et al. Is an "a la carte" combination interferon alpha-2b plus ribavirin regimen possible for the first line treatment in patients with chronic hepatitis C? The ALGOVIRC Project Group. *Hepatology*, 2000, 31:211-218.
43. Sanchez-Tapias J.M., Escartin P., Enriquez J., et al. Longer treatment duration with peginterferon alfa-2? (40 kd) (PEGASYS) and ribavirin (COPEGUS) in na?ve patients with chronic hepatitis C and detectable HCV RNA by week 4 of therapy: final results of the randomized, multicenter TERAVID-4 study. *Hepatology*, 2004; 40:218A
44. Schott E., Witt H., Tinjala S. et al. Association of a single nucleotide polymorphism of the CTLA-4 gene with response to interferon-based treatment in patients with chronic hepatitis C virus infection. *Hepatology*, 2005; 42(Suppl. 1):657A.
45. Sherman M., Bain V., Villeneuve J.P. et al. Management of chronic viral hepatitis : a Canadian consensus conference 2004. *Can. J. Gastroenterol.*, 2004; 18:715-728.
46. Shiffman M.L., Pappas S., Nyberg L. et al. Peginterferon alpha-2a (PEGASYS) plus ribavirin (COPEGUS) for 16 or 24 weeks in patients with HCV genotype 2 or 3. Final results of the ACCELERATE trial. *J. Hepatol.*, 2006; 44(Suppl. 2):S270.
47. Simmonds P., Bukh J., Combet C. et al. Consensus proposals for a unified system of nomenclature of hepatitis C virus genotypes. *Hepatology*, 2005; 42(4):962-73.
48. Strader D.B., Wright T., Thomas D.L. et al. Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C. *Hepatology*, 2004; 39:1147-1171.
49. Terrault N.A., Pawlotsky J-M., McHutchison J.G. et al. Clinical utility of viral load measurements in individuals with chronic hepatitis C infection antiviral therapy. *J. Viral Hepatitis*, 2005; 12:465-472.
50. von Wagner M., Huber M., Berg T. et al. Peginterferon alfa-2a (40 kd) and ribavirin for 16 or 24 weeks in patients with genotype 2 or 3 chronic hepatitis C. *Gastroenterology*, 2005; 129:522-527.
51. Zeuzem S. Standardtherapie der akuten und chronischen Hepatitis C. *Z. Gastroenterol.*, 2004; 42:714-719.
52. Zeuzem S., Buti M., Ferenci P. Et al. Efficacy of 24 weeks treatment with peginterferon alfa-2b plus ribavirin in patients with chronic hepatitis C infected with genotype 1 and low pretreatment viremia. *J. Hepatol.*, 2006; 44:97-103.
53. Zeuzem S., Feinman S.V., Rasenak J. et al. Peginterferon alfa-2a in patients with chronic hepatitis C. *N. Engl. J. Med.*, 2000; 343:1666-1672.
54. Zeuzem S., Herrmann E., Lee J.H. et al. Viral kinetics in patients with chronic hepatitis C treated with standard or peginterferon alpha2a. *Gastroenterology*, 2001; 120:1438-1447.
55. Zeuzem S., Hultcrantz R., Bourliere M. et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin for treatment of chronic hepatitis C in previously untreated patients infected with HCV genotype 2 or 3. *J. Hepatol.* 2004, 40:993-999.
56. Zeuzem S., Marcellin P., Pockros P. et al. Treatment outcome in patients with hepatitis C virus genotype 1a and 1b and persistently "normal" alanine aminotransferase (ALT) levels receiving peginterferon alpha-2a (40 kd) plus ribavirin. *J. Clin. Virol.*, 2006, 36 (Suppl. 2):S136.