

*Гусакова Ю.В. врач-лаборант  
ГУ "Минский городской центр гигиены и эпидемиологии"*

*Карпов И.А. д.м.н., профессор, заведующий кафедрой инфекционных болезней  
УО "Белорусский государственный медицинский университет"*

---

**Сравнение кинетики элиминации  
экстраклеточной и содержащейся в  
моноклеарах периферической крови РНК  
HCV при терапии препаратами прямого  
противовирусного действия**

---

---

# Актуальность

---

Во всем мире 1,6% (1,3% - 2,1%) положительные anti HCV  
~ 115 млн человек (92 – 149 млн).

1% (0,8 – 1,14%) определяемый уровень РНК ВГС в крови  
~ 71 млн человек (62 – 79 млн).

Отличительной чертой ВГС – инфекции является хронизация процесса, по меньшей мере у 50 – 80% острая инфекция переходит в хроническую форму.

ХВГС – длительно протекающий воспалительный процесс, приводящий к развитию фиброза, цирроза и гепатоцеллюлярной карциномы.

**Ведущая причина трансплантации печени во многих странах мира.**

---

# Актуальность

---

Вирус гепатита С относят не только к гепатотропным, но и к лимфотропным вирусам. Вирусная РНК ВГС определяется в мононуклеарах периферической крови, костного мозга, нервной системы.

Репликация вируса внутри мононуклеаров периферической крови в части случаев может продолжаться после элиминацией вируса в плазме крови как в случае “спонтанного излечения”, так и в случае проведенной противовирусной терапии.

В ряде исследований было установлено, что у части пациентов, достигших устойчивый вирусологический ответ, но имеющих РНК ВГС в мононуклеарах периферической крови в течении года развивался рецидив заболевания.

Рутинные методы исследования предполагают определение только экстраклеточного пула РНК ВГС, при этом остается неизвестным наличие внутриклеточной репликации РНК ВГС.

Abd Alla M.D.A. et al: PBMCs HCV infection legitimizes eradication 2017

Abd Alla M.D.A et al: Cost-effective HCV treatment by CTF2 protocol 2018

---

# Цель исследования

---

Целью настоящего исследования являлось изучение ранней кинетики элиминации вируса в плазме крови, а также моноклеарах периферической крови при терапии препаратами прямого противовирусного действия у пациентов с ХВГС.

Задачи:

1. Оценить динамику снижения вирусной нагрузки ВГС в плазме и моноклеарах периферической крови у пациентов, получающих терапию препаратами прямого противовирусного действия,
2. Изучить особенности элиминации экстраклеточной и содержащейся моноклеарах крови РНК ВГС в зависимости от генотипа,
3. Выполнить сравнительный анализ кинетики вирусной нагрузки в течение 1 недели противовирусной терапии препаратами Софосбувир и Велпатасвир (SOF/VEL) и Софосбувир и Даклатасвир (SOF+DCV).

---

# Материалы и методы

---

Группа исследования:

14 человек, получающих противовирусную терапию препаратами прямого противовирусного действия в минском городском центре инфекционной гепатологии.

Схемы терапии:

- ❖ софосбувир 400 мг и Велпатасвир 100 мг (SOF/VEL),
- ❖ софосбувир 400 мг и Даклатасвир 60 мг (SOF+DCV).

Длительность терапии 12, 24 недели согласно клиническим протоколам.

Определение вирусной нагрузки проводилось до начала терапии (0 день), а также в 1, 2, 3, 4, 5 дни от начала приема препаратов.

---

# Группа исследования (общая характеристика)

---

***В исследовании приняли участие 7 мужчин (50%), 7 женщин (50%).***

***Возраст от 29 до 68 лет.***

***Стадия фиброза :***

- F0 - 2 (14,3%),
- F0-1 - 4 (28,6%),
- F1 - 4 (28,4%),
- F2 - 3 (21,4%),
- F4 - 1 (7,1%).

***Генотип :***

- 1 - 11 (78,6%),
- 3 - 3 (21,4%).

***Клинико – биохимическая активность ХВГС :***

- без клинико-биохимической активности – 4 (28,6%),
- низкая – 8 (57,1%),
- средняя – (14,3%) .

*У всех пациентов отсутствовала предшествующая противовирусная терапия.*

*1 генотип был представлен 1b подтипом.*

---

# Материалы и методы

---

## Выделение мононуклеарах из периферической крови

- набор реагентов Проба - Фиколл (ООО НПО ДНК - технология, РФ).
- принцип метода основан на градиентном разделении клеток крови:
  1. разведение в физиологическом растворе крови (1:1), наслаивание на фиколл-урографин,
  2. центрифугирование при 4000 g в течение 20 мин,
  3. отбор промежуточной фракции в центрифужные пробирки,
  4. двукратная отмывка в физиологическом растворе,
  5. центрифугирование при 4000 g в течение 10 мин,
  6. смешение осадка моноцитарных клеток с лизирующим раствором,
  7. замораживание при - 20 0С до проведения дальнейших исследований.

## Определение вирусной нагрузки в плазме крови и мононуклеарах

- набор реагентов АмплиСенс® HCV-Монитор-FL. Количественное определение РНК вируса гепатита С (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, РФ).
- метод исследования - полимеразная цепная реакция в режиме реального времени (Real-time CFX96 Bio-Rad, USA).

# Результаты исследования

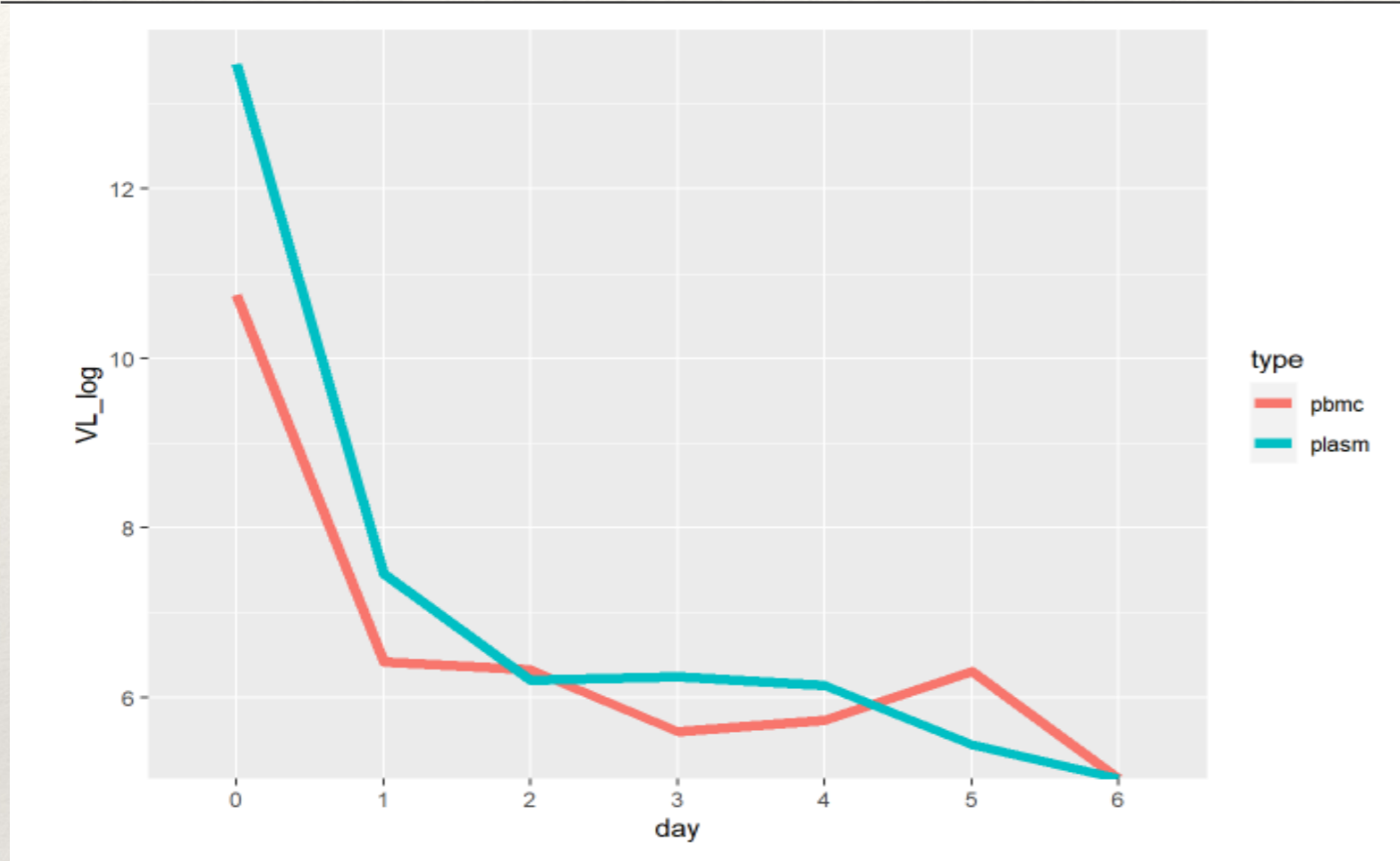


Рис.1. Кинетика вирусной нагрузки в плазме и мононуклеарах периферической крови у пациентов, получающих ПВТ.

Согласно полученным данным представленным на рис.1 у пациентов, получающих противовирусную терапию, в течение первых суток приема препаратов наблюдается резкое снижение РНК ВГС (4-6 Log) как в плазме, так и в мононуклеарах периферической крови. В течение последующих дней (2 - 6 сутки наблюдения) снижение вирусной нагрузки было минимальным.



# Результаты исследования

Табл.1. Клинические и лабораторные характеристики пациентов, получающих ПВТ, в зависимости от генотипа.

Показатель	Генотип 1 (n =11)	Генотип 3 (n =3)
Пол (м/ж), %	45.5% / 54.5%	33.3% / 67.7%
Возраст, медиана (лет)	37 (31;53)	46 (44;61)
F0, %	1 (9.1%)	1 (33.3%)
F0-1, %	4 (36.4%)	0 (0.0%)
F1, %	4 (36.4%)	0 (0.0%)
F2, %	2 (18.2%)	1 (33.3%)
F4, %	0 (0.0%)	1 (33.3%)
АЛТ, медиана (МЕ/мл)	63 (51; 86)	66 (64; 119)
Уровень тромбоцитов, медиана (×10 <sup>9</sup> /л)	244 (167; 264)	182 (161; 188)
Низкая клиническо –б/х актив-ть, %	6 (54.5%)	2 (66.7%)
Средняя клиническо –б/х актив-ть, %	1 (9.1%)	1 (33.3%)
Без клиническо –б/х актив-ть, %	4 (36.4%)	0 (0.0%)
SOF/VEL, %	6 (54.5%)	3 (100.0%)
SOF+DCV, %	5 (45.5%)	0 (0.0%)

# Результаты исследования

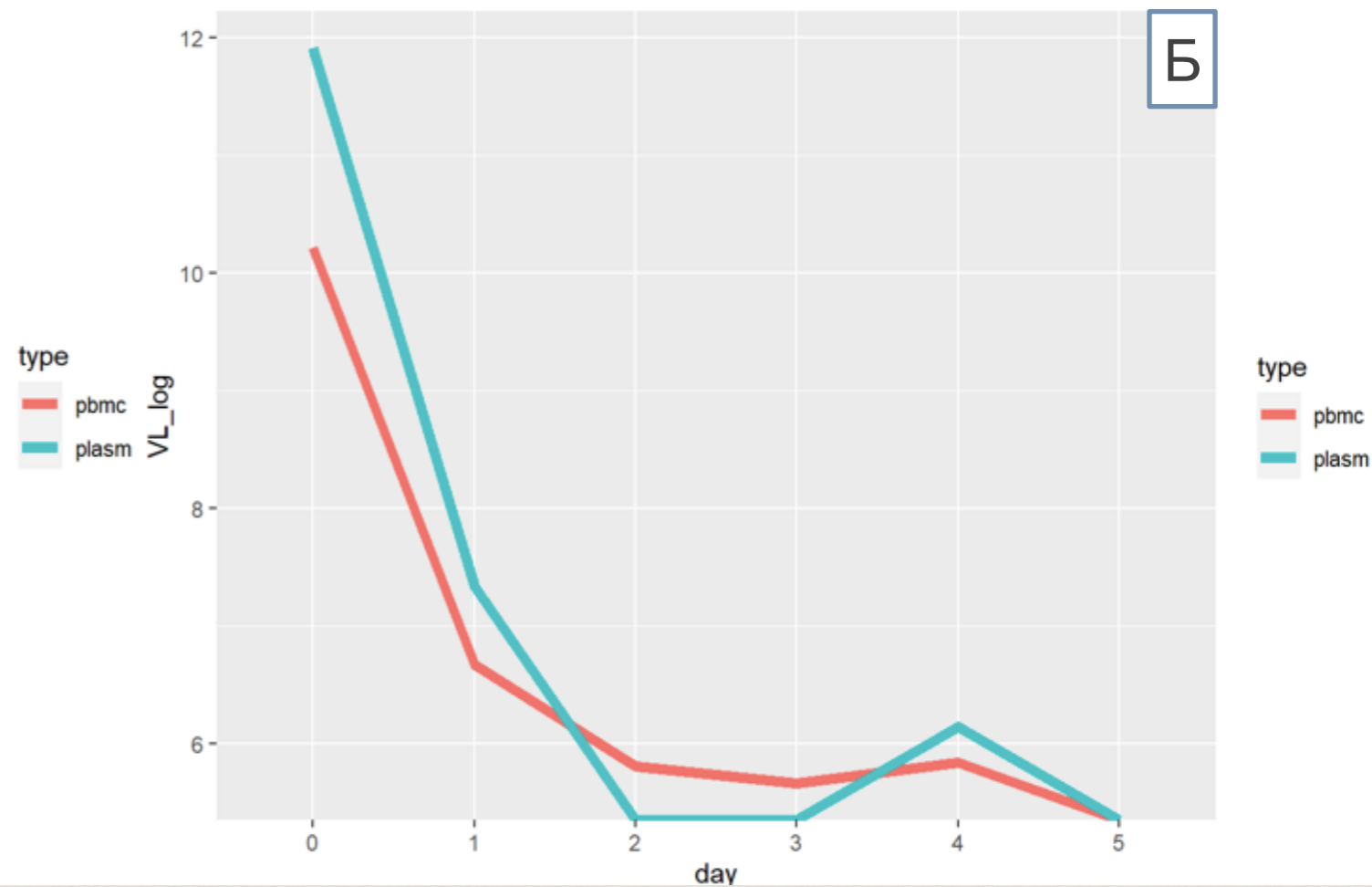
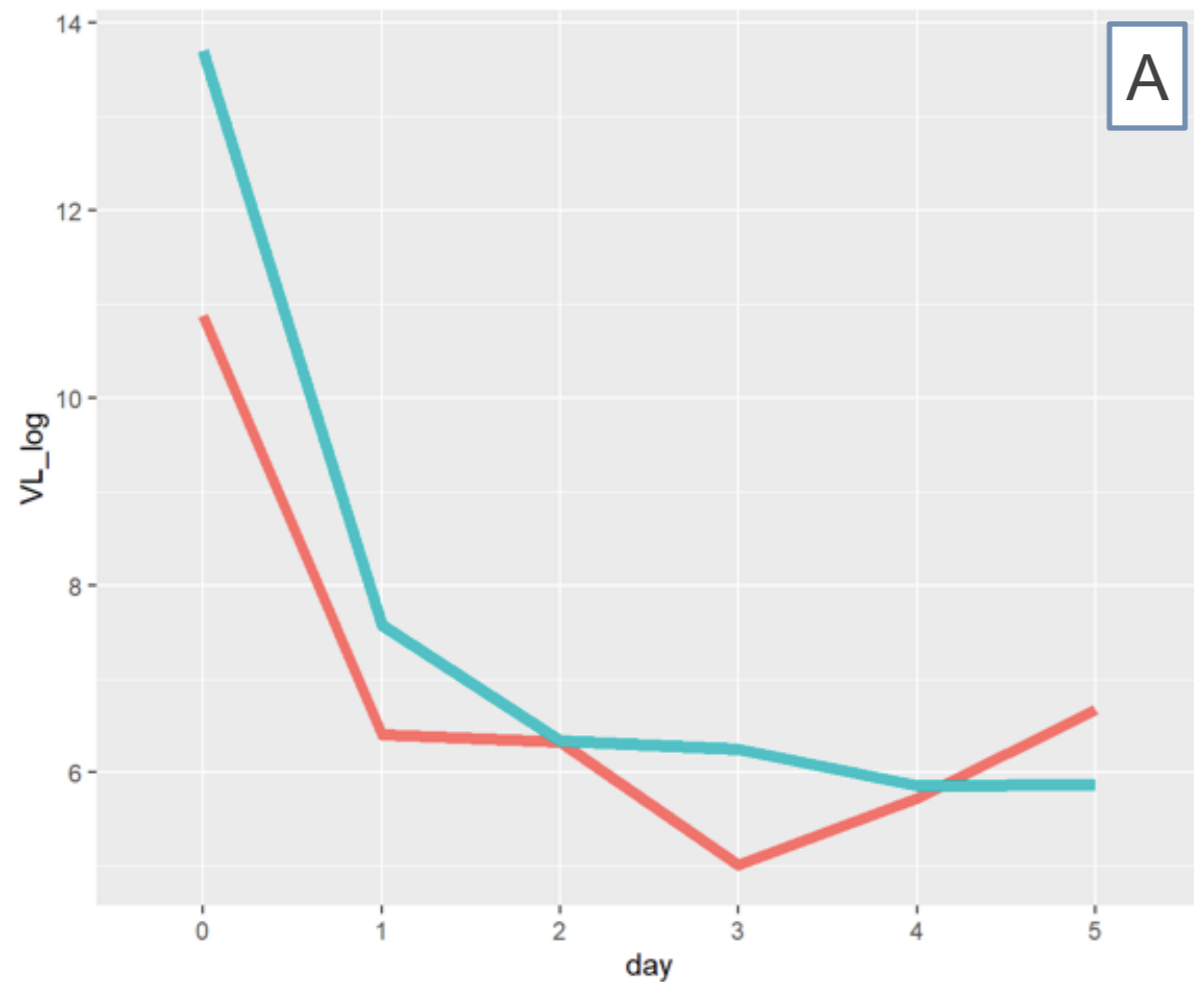


Рис.2. Кинетика вирусной нагрузки в плазме и мононуклеарах периферической крови у пациентов, получающих ПВТ с генотипом 1 (А) и генотипом 3 (Б)

Для 1 и 3 генотипа отмечается сходный диапазон значений как в экстраклеточной, так и содержащейся мононуклеарах крови РНК ВГС при изначально более высоких значениях вирусной нагрузки при 1 генотипе.

# Результаты исследования

**Табл.1. Клинические и лабораторные характеристики пациентов в зависимости от схемы ПВТ.**

Показатель	SOF/VEL, (n = 9)	SOF+DCV, (n = 5)
Пол (м/ж), %	44.4% / 55.6%	60,0% / 40.0%
Возраст, медиана (лет)	42 (37; 56)	31 (31; 50)
F0, %	1 (11.1%)	1 (20.0%)
F0-1, %	3 (33.3%)	1 (20.0%)
F1, %	2 (22.2%)	2 (40.0%)
F2, %	2 (22.2%)	1 (20.0%)
F4, %	1 (11.1%)	0 (0.0%)
АЛТ, медиана (МЕ/мл)	63 (49; 74)	89 (61; 186)
Уровень тромбоцитов, медиана (×10 <sup>9</sup> /л)	193 (171; 256)	206 (162; 273)
Низкая клиничко –б/х акти-ть, %	6 (66.7%)	2 (40.0%)
Средняя клиничко –б/х акти-ть, %	1 (11.1%)	1 (20.0%)
Без клиничко –б/х акти-ть, %	2 (22.2%)	2 (40.0%)
Генотип 1, %	6 (66.7%)	5 (100%)
Генотип 3, %	3 (33.3%)	0 (0%)

# Результаты исследования

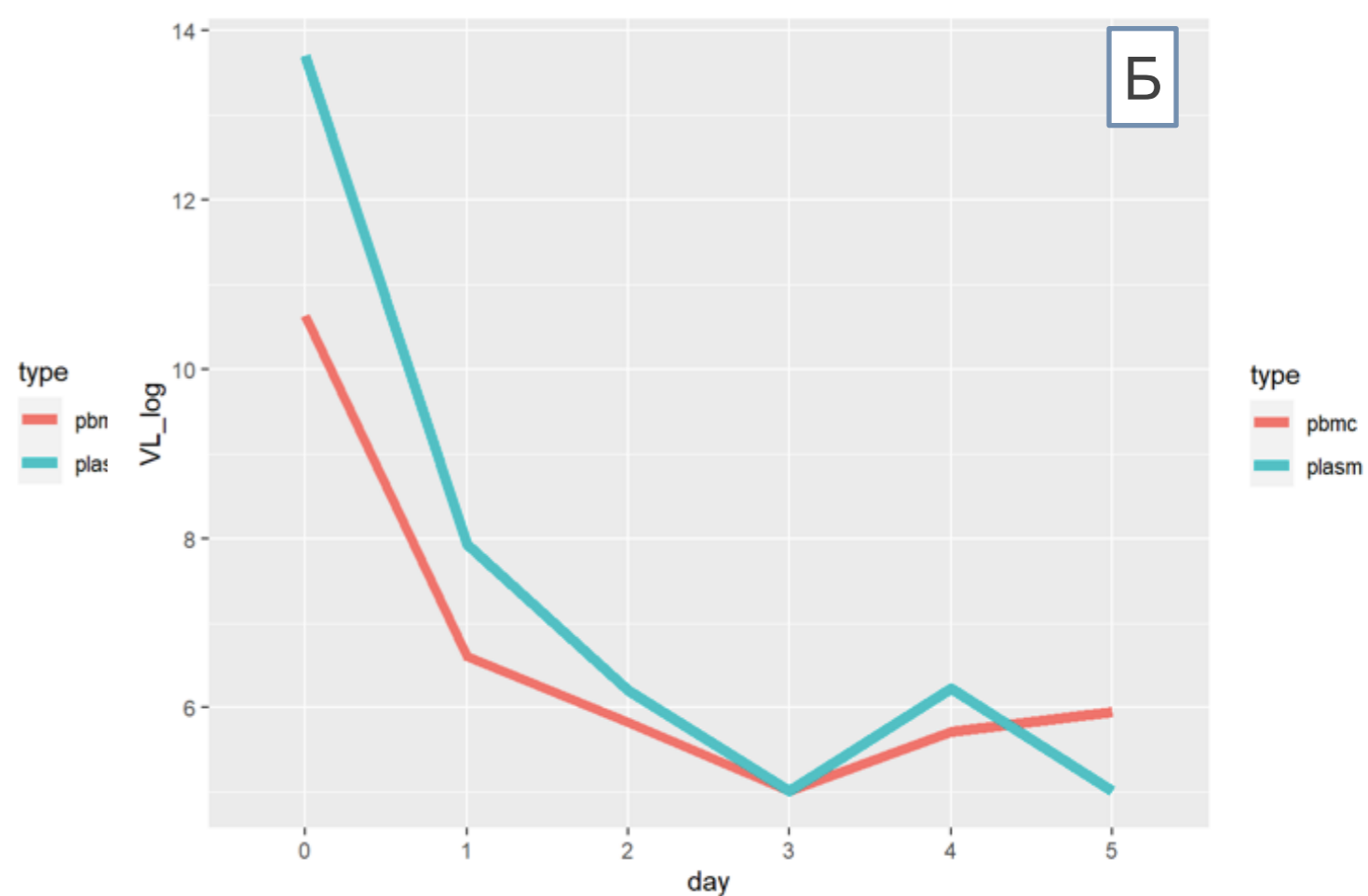
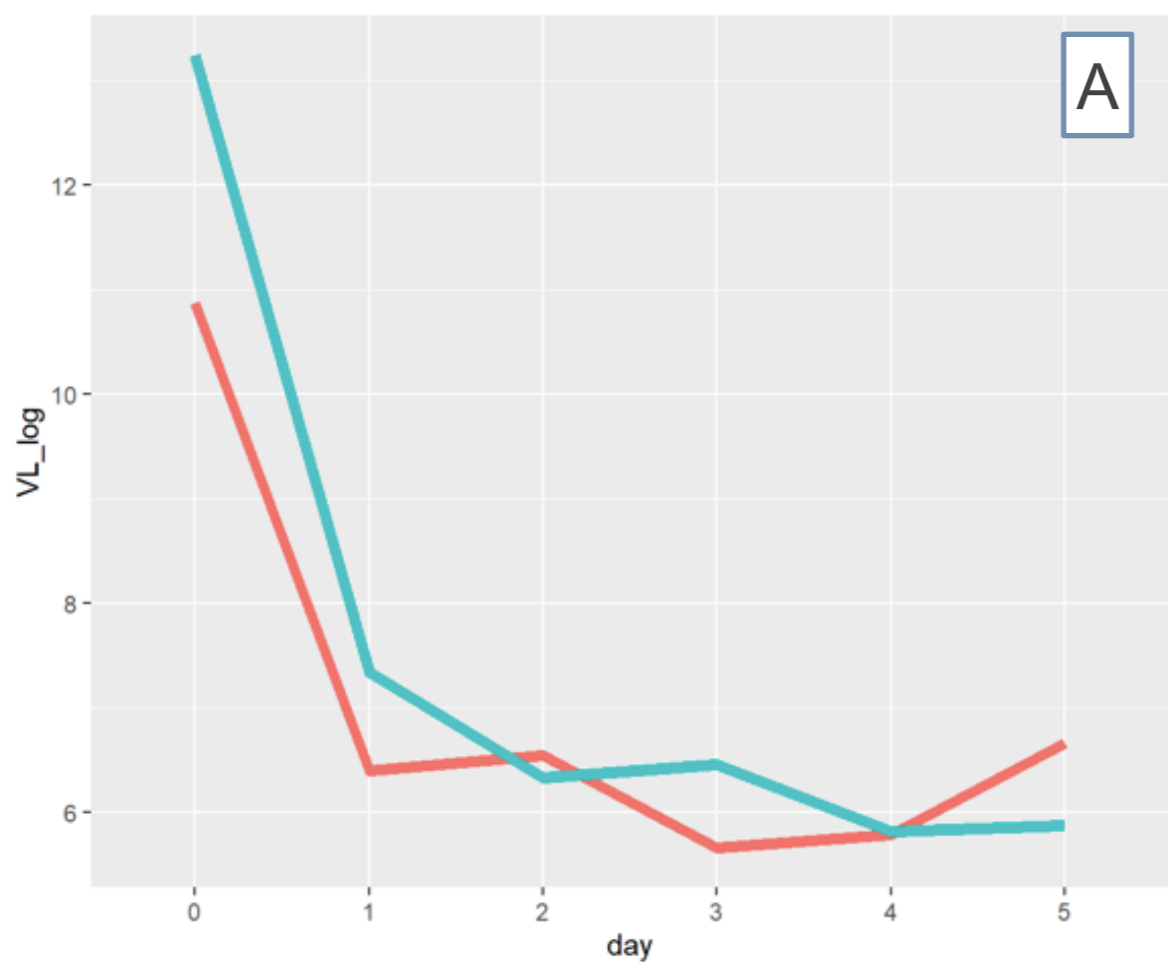


Рис.3. Кинетика вирусной нагрузки в плазме и мононуклеарах периферической крови у пациентов, получающих ПВТ SOF/VEL (А) и SOF+DCV (Б)

При оценке эффективности применяемых схем противовирусной терапии SOF/V

# Выводы

1. У пациентов получающих терапию препаратами прямого противовирусного действия наблюдается быстрое снижение вирусной нагрузки в течение первой недели как в плазме, так и в мононуклеарах периферической крови, причем наибольшее снижение отмечается в первые 24 часа противовирусной терапии.
2. В последующие дни уровень экстраклеточной и содержащейся в мононуклеарах периферической крови РНК ВГС сохраняется на стабильно низких значениях, что обуславливает необходимость увеличения сроков наблюдения.
3. Ранняя кинетика вирусной нагрузки при терапии хронического вирусного гепатита С препаратами прямого противовирусного действия не зависит от генотипа и схемы терапии.