

© Коллектив авторов, 2001
УДК 576.856:616.61-008.64-036.12-085.38-073.27-06

*К.К.Кюрегян, Е.В.Эсауленко, Е.М.Костерева, О.В.Исаева, О.Е.Попова,
Т.В.Антонова, М.И.Михайлов*

ЧАСТОТА ВЫЯВЛЕНИЯ ДНК ТТВ СРЕДИ ПАЦИЕНТОВ, НАХОДЯЩИХСЯ НА ПРОГРАММНОМ ГЕМОДИАЛИЗЕ

*К.К.Кюрегян, Е.В.Эсауленко, Е.М.Костерева, О.В.Исаева, О.Е.Попова,
Т.В.Антонова, М.И.Михайлов*

FREQUENCY OF DETECTION OF DNA TTV AMONG PATIENTS ON MAINTENANCE HEMODIALYSIS

Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф.Гамалеи РАМН, Москва;
Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П.Павлова, Россия

РЕФЕРАТ

Обследованы 78 больных с хронической почечной недостаточностью в возрасте от 18 до 67 лет, находившихся на программном гемодиализе. В зависимости от продолжительности лечения больных разделили на группы: 1 — до года, 2 — 1–5 лет, 3 — 5–10 лет и 4 — 10–15 лет. ДНК ТТВ обнаружены в 44,9% случаев. Инфекция выявлена у половины пациентов 1-й группы. Зависимости между числом ДНК ТТВ-позитивных больных со стажем гемодиализа не отмечено. Выраженных различий встречаемости ДНК ТТВ у больных с маркерами вирусов гепатитов В и С (HBsAg и HCVAb) и без них не отмечено. Таким образом, ТТ-вирус широко распространен среди пациентов, находившихся на программном гемодиализе, однако инфицирование им не отражается на уровнях активности АЛТ и АСТ.

Ключевые слова: хроническая почечная недостаточность, гемодиализ, ТТ-вирус, ДНК ТТВ, вирус гепатита В, вирус гепатита С.

ABSTRACT

Under investigation there were 78 chronic renal failure patients on maintenance hemodialysis aged from 18 to 67. The patients were divided into several groups according to duration of treatment: 1 — less than a year; 2 — from 1 to 5 years; 3 — from 5 to 10 years and 4 — from 10 to 15 years of treatment. DNA TTV were revealed in 44,9% of cases. The infection was found in half of the first group patients. No correlation was noted between the number of DNA TTV positive patients and duration of dialysis. There was no marked difference between frequency of DNA TTV in patients having hepatitis B and C virus markers (HBsAg and HCVAb) and patients without them. Thus the TT virus is widely spread among patients on hemodialysis but their presence does not influence the levels of ALT and AST.

Key words: chronic renal failure, hemodialysis, TT virus, DNA TTV, hepatitis B virus, hepatitis C virus.

ВВЕДЕНИЕ

Совершенствование экстракорпоральных методов лечения больных с хронической почечной недостаточностью привело к снижению летальности в диализной популяции, увеличению средней продолжительности жизни больных. Вместе с тем, не только сохраняется, но и заметно увеличивается актуальность возникновения у диализных больных инфекционных болезней с гемоконтактным (парентеральным) механизмом заражения. Во всем мире эти пациенты являются группой высокого риска заболевания вирусными гепатитами. Это не только эпидемиологическая, но и клиническая проблема, так как возбудители гепатитов склонны к длительной персистенции в организме, с чем

связано формирование хронических форм инфекции.

В настоящее время, наряду с хорошо известными гепатитами В, С, D, установлено широкое распространение гемодиализных пациентов других гепатотропных вирусов — G и ТТV.

Вирус ТТ (TTV — transfusion-transmitted virus) — описан в 1997 г. как ДНК-содержащий вирус, обнаруженный первоначально в образцах сывороток пациентов с посттрансфузионным гепатитом неизвестной этиологии, сопровождающимся подъемом уровней активности сывороточных трансаминаз. Эпидемиологические исследования показали широкую распространенность ТТV в различных группах населения, характеризующихся высокой частотой парен-

теральных манипуляций и высокой степенью риска инфицирования парентерально передающимися вирусами (пациенты, получающие лечение хроническим гемодиализом; лица, принимающие наркотики внутривенно; больные гемофилией и др.). Несмотря на то, что распространенность TTV среди пациентов с заболеваниями печени высока, взаимосвязь между инфицированием этим вирусом и развитием гепатита остается неопределенной. Данные по распространенности TTV на территории России ограничены, сведения о встречаемости этого вируса в России среди пациентов, получающих лечение хроническими гемодиализом (ГД), отсутствуют.

Целью работы явилось выявление распространенности TTV среди пациентов, находящихся на программном ГД, а также изучение взаимосвязи между выявлением TTV в этой группе пациентов и уровнями трансаминаз крови, повышение активности которых указывает на наличие цитолитического процесса в печени, как основного проявления гепатита.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Проведено обследование 78 пациентов отделения хронического гемодиализа СПбГМУ им. акад. И.П.Павлова. Возраст больных был от 18 до 67 лет, среди них были 44 мужчины и 34 женщины. В зависимости от продолжительности лечения ГД больных разделили на группы: в 1-ю группу вошли 10 больных со стажем ГД до 1 года, 2-ю группу составил 31 пациент, лечившийся ГД от 1 до 5 лет, 3-ю — 22 больных с продолжительностью ГД от 5 до 10 лет и 4-ю — 15 пациентов со стажем ГД 10–15 лет. Средний стаж ГД в 1-й группе составлял 6,8 мес, во 2-й группе — 3,3 года, в 3-й группе — 6,9 лет, в 4-й группе — 12,9 лет.

Сыворотки крови пациентов, находящихся на ГД, тестировали на присутствие HBsAg и анти-HCV в иммуноферментном анализе. Биохимические показатели функции печени, включающие определение уровней активности аланинаминотрансферазы (АЛТ) и аспаргатаминотрансферазы (АСТ), проводили по стандартной методике [Меньшиков В.В., 1987].

ДНК TTV определяли в сыворотках крови методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с праймерами, описанными Н.Окамото и соавт. [10] — NG059, NG061 и NG063. Условия реакции были следующими: 94°C — 30 с, 55°C — 30 с, 72°C — 45 с для 35 и 25 циклов, соответственно. Продукты реакции анализировали по-

сле электрофореза в 2% агарозном геле.

РЕЗУЛЬТАТЫ

ДНК TTV обнаружена в сыворотках крови 35 и 78 обследованных пациентов (44,9%). Данные по выявлению ДНК TTV, HBsAg и анти-HCV в четырех группах пациентов в зависимости от продолжительности ГД приведены в табл. 1. В 1-й группе с длительностью получения лечения ГД до 1 года ДНК TTV была обнаружена у 5 (50%) пациентов, во 2-й группе — у 12 (38,7%) пациентов, в 3-й группе — у 9 (40,9%) пациентов, в 4-й группе — у 9 (60,0%). Следует отметить, что в 1-й группе HBsAg и анти-HCV выявлены не были. Во 2-й группе (длительность ГД от 1 года до 5 лет) HBsAg был обнаружен у 3 (9,7%) пациентов, анти-HCV — у 12 (38,7%) пациентов, в 3-й группе (стаж ГД — от 5 до 10 лет) — HBsAg — у 2 (9,1%), анти-HCV — у 12 (54,5%), в 4-й группе HBsAg — у 3 (20%), анти-HCV — у 12 (80%) пациентов. Таким образом, число HBV- и HCV-инфицированных пациентов возрастало с увеличением стажа получения лечения ГД, особенно существенно в отношении HCV. В отличие от HBV и HCV, TTV-инфекция была обнаружена у 50% пациентов в 1-й группе, и выраженного увеличения числа ДНК TTV-позитивных пациентов с увеличением длительности пребывания на программном ГД отмечено не было, однако число ДНК TTV-позитивных лиц составило 60,0% и было максимальным в группе пациентов со стажем ГД от 10 до 15 лет.

Таблица 1

Частота выявления ДНК TTV, HBsAg и анти-HCV у пациентов, получающих лечение программным гемодиализом в зависимости от длительности лечения

Длительность лечения гемодиализом	Число обследованных	Из них выявлено					
		ДНК TTV		HBsAg		Анти-HCV	
		Абс. число	%	Абс. число	%	Абс. число	%
До 1 года	10	5	50	—	—	—	—
1–5 лет	31	12	38,7	3	9,7	12	38,7
5–10 лет	22	9	40,8	2	9,1	12	54,5
10–15 лет	15	9	60,0	3	20,0	12	80,0

Средний возраст ДНК TTV-позитивных пациентов составил 46,2 лет, ДНК TTV-негативных — 46,8, таким образом, значимых отличий по возрасту не наблюдалось.

Частота выявления ДНК TTV в зависимости от HBsAg- и анти-HCV-позитивности пациентов, находящихся на программном ГД, представлена в табл. 2. ДНК TTV обнаруживали у

Таблица 2
Частота выявления ДНК ТТV у пациентов, получающих лечение программным гемодиализом, в зависимости от выявления HBsAg и анти-HCV

Наличие HBsAg и/или анти-HCV	Число обследованных	Из них выявлено ДНК ТТV	
		Абс. число	%
Наличие анти-HCV	36	18	50,0
Отсутствие анти-HCV	42	17	40,5
Наличие HBsAg	8	3	37,5
Отсутствие HBsAg	70	30	43,0
Наличие анти-HCV и HBsAg	5	3	60,0
Отсутствие анти-HCV и HBsAg	38	16	42,1

50% анти-HCV-положительных пациентов и среди 40,5% анти-HCV-негативных пациентов. Не отмечалось выраженных различий встречаемости ДНК ТТV среди HBsAg-положительных и HBsAg-негативных пациентов, находящихся на ГД (37,5% и 43,0%, соответственно). У пациентов, положительных по HBsAg и анти-HCV одновременно, ДНК ТТV была обнаружена в 60,0% случаев, а среди HBsAg и анти-HCV-негативных пациентов — в 42,1% случаев.

Средние показатели активности сывороточных трансаминаз (АЛТ и АСТ) среди ДНК ТТV-положительных и ДНК ТТV-негативных пациентов, получающих лечение хроническим ГД, оказались сходными: средние значения активности АЛТ у ДНК ТТV-положительных составили $0,32 \pm 0,06$ ммоль/(л·ч), у ДНК ТТV-негативных — $0,31 \pm 0,06$ ммоль/(л·ч), средние значения АСТ — $0,304 \pm 0,06$ и $0,290 \pm 0,07$ у ДНК ТТV-положительных и ДНК ТТV-негативных пациентов, соответственно.

В табл. 3 приведены средние значения показателей активности сывороточных трансаминаз в зависимости от обнаружения ТТV, HBV и HCV у пациентов, находящихся на программном ГД. Определяющими факт увеличения

уровней активности сывороточных трансаминаз (АЛТ и АСТ) оказались маркеры анти-HCV и HBsAg, свидетельствующих об инфицировании вирусами гепатита В и С. Причем при сочетании анти-HCV и HBsAg зарегистрировано максимальное повышение активности АЛТ и АСТ. Важно, что наличие ТТV не приводило к подъему уровней активности АЛТ и АСТ у анти-HCV-положительных пациентов, находящихся на ГД (см. табл. 3). Что касается влияния ТТV-инфекции на уровни активности трансаминаз у HBsAg-положительных и пациентов, одновременно имеющих анти-HCV и HBsAg, то его оценить трудно по причине малой статистической выборки (одновременно анти-HCV, HBsAg и ДНК ТТV-положительными были только три пациента). У анти-HCV и HBsAg-негативных пациентов, находящихся на ГД, присутствие ДНК ТТV в сыворотках не вызвало значимого изменения активности трансаминаз. Таким образом, какого-либо выраженного влияния ТТV-инфекции на уровни АЛТ и АСТ у пациентов, находящихся на программном ГД, отмечено не было.

ОБСУЖДЕНИЕ

Встречаемость ДНК ТТV среди пациентов, находящихся на программном ГД, составила 44,9%, превышая уровень ТТV-инфекции среди первичных доноров крови (т. е. условно «здоровой» популяции), у которых ДНК ТТV выявляли в 16,7% [1], более чем в 2 раза. Частота обнаружения ТТV-инфекции среди пациентов, находящихся на ГД, также как и соотношение между выявлением ДНК ТТV в этой группе и среди доноров крови, сходны с данными других исследований. Так, имеется информация о том, что распространенность ТТV среди гемодиализных пациентов составляет 32–53%, превышая этот показатель у доноров крови в 2–3 раза [4, 9].

Первоначально ТТV был описан как вирус, передающийся при переливаниях крови [8], что подтверждалось широкой распространенностью вируса среди групп населения, имеющих высокий риск парентерального инфицирования — помимо пациентов, получающих лечение хроническим ГД, ТТV широко распространен среди лиц, употребляющих внутривенно наркотики (19–40%) [3, 10] и больных гемофилией (27,4–68%) [12]. Однако исследования частоты выявления ДНК ТТV в зависимости от длительности пребывания

Таблица 3
Средний уровень активности сывороточных трансаминаз (АЛТ и АСТ) у пациентов, получающих лечение программным гемодиализом, в зависимости от выявления HBsAg, анти-HCV и ДНК ТТV ($\bar{x} \pm m$)

Наличие HBsAg и/или анти-HCV	АЛТ		АСТ	
	+ДНК ТТV	-ДНК ТТV	+ДНК ТТV	-ДНК ТТV
Наличие анти-HCV	$0,32 \pm 0,10$	$0,35 \pm 0,09$	$0,29 \pm 0,06$	$0,31 \pm 0,07$
Отсутствие анти-HCV	$0,25 \pm 0,06$	$0,27 \pm 0,06$	$0,29 \pm 0,06$	$0,26 \pm 0,05$
Наличие HBsAg	$0,50 \pm 0,36$	$0,25 \pm 0,16$	$0,40 \pm 0,29$	$0,33 \pm 0,18$
Отсутствие HBsAg	$0,24 \pm 0,06$	$0,32 \pm 0,07$	$0,26 \pm 0,06$	$0,26 \pm 0,06$
Наличие анти-HCV и HBsAg	$0,68 \pm 0,40$	$0,45 \pm 0,40$	$0,58 \pm 0,38$	$0,30 \pm 0,25$
Отсутствие анти-HCV и HBsAg	$0,24 \pm 0,06$	$0,23 \pm 0,05$	$0,29 \pm 0,06$	$0,21 \pm 0,06$

длительности пребывания

ния пациентов на ГД не показали зависимости частоты ТТV-инфекции от увеличения стажа ГД [6,9].

В нашей работе у пациентов с наименьшим стажем ГД (до 1 года) наблюдался высокий уровень ТТV-инфекции — 50%, а в группе с продолжительностью ГД от 1 года до 15 лет выявление ТТV было от 39% до 60%. Таким образом, затруднительно связывать распространенность ТТV-инфекции среди пациентов, с длительностью их пребывания на ГД. В отличие от ДНК ТТV, HBsAg и анти-НСV (маркеры инфицирования HBV- и HCV-вирусов с преимущественно парентеральным путем передачи) не были обнаружены в группе пациентов, находящихся на ГД менее 1 года, и частота их выявления увеличивалась с возрастанием стажа ГД. Основные пути заражения пациентов на программном ГД «кровяными» вирусами, такими как HBV, HCV и HGV — посттрансфузионное заражение, за счет переливания крови и ее препаратов, и госпитальное — через мониторы, диализаторы, фистульные иглы, инструментарий [2]. Поэтому при исследовании путей передачи ТТV среди пациентов, находящихся на ГД, представляет интерес не только зависимость распространенности ТТV от длительности пребывания пациентов на ГД, но и взаимосвязь выявления ДНК ТТV и маркеров HCV. Отсутствие такой взаимосвязи по полученным нами данным, а также в работах других авторов [5, 6, 9], предполагает существование другого, непарентерального пути передачи ТТV среди пациентов, находящихся на ГД. Вместе с тем, на парентеральный путь передачи ТТV среди пациентов, находящихся на ГД, указывает возрастание частоты выявления ДНК ТТV от 38,7% в группе 2 (стаж ГД — 1–5 лет) до 40,9% в группе 3 (стаж ГД — 5–10 лет) и 60,0% в группе 4 (стаж ГД — 10–15 лет). Для ТТV показана возможность существования фекально-орального [7, 11] механизма передачи, поэтому высокий уровень ТТV-инфекции среди пациентов, находящихся на программном ГД, может быть обусловлен сочетанием парентерального и непарентерального путей передачи вируса.

Н. Okamoto и соавт. [10] продемонстрировали, что уровни концентраций ДНК ТТV в печени равны или в 10–100 раз превышают концентрацию ДНК ТТV в сыворотке крови, что предполагает репликацию ТТV в печени. Т. Nishizawa и соавт. [8] показали существование корреляции между уровнями ДНК ТТV в сыворотке и уровнями АЛТ у пациентов с посттрансфузионным гепатитом неизвестной этиологии. Эти данные указывают на то, что ТТV является гепатотропным вирусом и может вызывать гепатит. Однако полученные нами данные демонстрируют отсутствие корреляции между выявле-

нием ДНК ТТV в сыворотках пациентов, находящихся на ГД, и увеличением ферментативной активности сывороточных трансаминаз (АЛТ и АСТ). Средние значения АЛТ и АСТ у пациентов, находящихся на ГД, позитивных по ДНК ТТV, сходны с аналогичными показателями у ДНК ТТV-негативных пациентов. Средние уровни активности сывороточных трансаминаз у анти-НСV-позитивных пациентов с ТТV-виремией и без ТТV-виремии были сходными. Присутствие ДНК ТТV в сыворотках HBsAg-позитивных пациентов и пациентов, имеющих одновременно HBsAg и анти-НСV, вызывало повышение средних уровней активности АЛТ и АСТ, однако делать вывод о влиянии коинфекции ТТV и HBV, ТТV в сочетании с HBV и HCV на уровни активности сывороточных трансаминаз, на основании полученных данных, неправомерно по причине малой статистической выборки (3 пациента). Работы других авторов, исследовавших ТТV среди пациентов, находящихся на ГД, показали, что пациенты с наличием и отсутствием ДНК ТТV в сыворотках имели сходные уровни трансаминаз [3]. У доноров крови, инфицированных ТТV, также показано отсутствие взаимосвязи между наличием ДНК ТТV в сыворотке и уровнями АЛТ [1]. Эти данные предполагают, что ТТV имеет ограниченную роль в патогенезе поражения печени и не оказывает влияния на течение гепатита С.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, ТТ-вирус имеет широкое распространение среди пациентов, находившихся на программном гемодиализе, однако инфицирование ТТ-вирусом не оказывает влияния на уровни активности АЛТ и АСТ у пациентов, получающих лечение хроническим гемодиализом. Мультиинфицирование различными гепатотропными вирусами у пациентов на ГД нуждается в дальнейшем изучении.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Михайлов И.И., Кюрегян Ю.С., Исаева О.В. и др. Новый вирус, ассоциированный с посттрансфузионным гепатитом (ТТV). Начало изучения // Росс. журн. гастрол. гепатол. колопроктол. — 1999. — № 8, Т. 3. — С. 35–40.
2. Николаев А.Ю., Милованов Ю.С. Лечение почечной недостаточности: Руководство для врачей. — М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 1999. — 363 с.
3. Biagini P., Gallian P., Cantaloube J.F. et al. Presence of TT virus in French blood donors and intravenous drug users // J. Hepatology. — 1998. — Vol. 29. — P. 684–685.
4. Forns X., Hegerich P., Dai Tiell A. et al. High prevalence of TTV infection in patients on maintenance hemodialysis: Frequent mixed infections with different genotypes and lack of evidence of associated liver disease // J. Med. Virol. — 1999. — Vol. 59, № 3. — P. 313–317.

5. Gallian P., Berland Y., Olmer M. et al. TT virus infection in French hemodialysis patients: study of prevalence and risk factors // J. Clin. Microbiol.—1999.—Vol. 37, № 8.—P. 2538–2542.

6. Ikeuchi T., Okuda K., Yukusuka O. et al. Superinfection of TT virus and hepatitis C among chronic hemodialysis patients // J. Gastroenterol. Hepatol.—1999.—Vol. 14., № 8.—P. 796–800.

7. Leary T.P., Erker J.C., Chalmers M.L. et al. Improved detection systems for TT virus reveal high prevalence in humans, non-human primates and farm animals // J. Gen. Virol.—1999.—Vol. 80.—P. 2115–2120.

8. Nishizawa T., Okamoto H., Konishi et al. A novel DNA virus (TTV) associated with elevated transaminase levels in posttransfusion hepatitis of unknown etiology // Biochem. Biophys. Res. Commun.—1997.—Vol. 241.—P. 92–97.

9. Oguchi T., Tanaka E., Orii K. et al. Transmission of and liver injury by TT virus in patients on maintenance hemodialysis // J. Gastroenterol.—1999.—Vol. 34, № 2.—P. 234–240.

10. Okamoto H., Nishizawa T., Kato N. et al. Molecular cloning and characterization of a novel DNA virus (TTV) associated with posttransfusion hepatitis of unknown etiology // Hepatol. Res.—1998.—P. 101–116.

11. Okamoto H., Nishizawa T., Ukita M. et al. The entire nucleotide sequence of TT virus isolate from the United States (TUSOI): Comparison with reported isolates and phylogenetic analysis // Virology.—1999.—Vol. 259, № 5 (Pt. 2).—P. 437–448.

12. Simmonds P., Davidson F., Lycett C. et al. Detection of a novel DNA virus (TTV) in blood donors and blood products // Lancet.—1998.—Vol. 352.—P. 191–195.

13. Yuki N., Kato M., Masuzawa M. et al. Clinical implications of coinfection with a novel DNA virus (TTV) in hepatitis C virus carriers on maintenance hemodialysis // J. Med. Virol.—1999.—Vol. 59, № 4.—P. 431–436.

Поступила в редакцию 07.09.2000 г.

Уважаемый автор!

Редакция нашего журнала с удовольствием примет дискету с текстом Вашей статьи

- ◆ Дискета должна быть **3,5-дюймовая**.
- ◆ Статья может быть набрана в редакторе Word (не выше версии **Word-6**, работающей под Windows-95) или **Lexicon**. Если Вы работаете с Word-8 под Windows-97, пожалуйста, сохраните текст как text only для **Word-6 под Windows-95** (File→Save as→text only).
- ◆ Текстовый файл должен иметь **расширение**, соответствующее тому редактору, в котором он был набран (**.TXT, .DOC** или **.RTF**).
- ◆ Файлы должны быть **незаархивированы**.
- ◆ Распечатка текста статьи должны в точности соответствовать её электронному варианту.

Если Ваша статья содержит **рисунки**, Вы также можете передать их нам на дискете в формате TIFF (расширение **.TIF**), JPEG (**.JPG**), BitMap (**.BMP**) или PCX. Если рисунки выполнены в редакторе Word (версии не выше Word-7), они обязательно должны содержаться в **отдельных файлах**, а не внутри файла с текстом статьи.

Файлы с рисунками также **не должны быть заархивированы**.

Если Вы не можете передать рисунки в электронном формате, постарайтесь, чтобы оригиналы были хорошего качества. *Графические рисунки* должны быть выполнены на белой бумаге чёрной тушью или чёрными чернилами либо напечатаны на лазерном или струйном принтере. *Фотографии* должны быть в 2-х экземплярах, один — с обозначениями (если они есть), другой — без.

Желаем здоровья Вам и Вашему компьютеру!