

ივანე ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის სახელმწიფო
უნივერსიტეტი მედიცინის ფაკულტეტი

ლანა გაწერელია

მწვავე HCV ინფექცია, ვირუსის კინეტიკა, იმუნური პასუხი და
დაავადების გამოსავალი როგორც მონო, ასევე HIV/HCV
კო-ინფექციით პაციენტებში საქართველოში

მედიცინის დოქტორის აკადემიური ხარისხის მოსაპოვებლად
წარდგენილი დისერტაცია

სამეცნიერო ხელმძღვანელები:

თენგიზ ცერცვაძე, ივანე ჯავახიშვილის სახელობის
თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტის მედიცინის
ფაკულტეტის ინფექციური დაავადებების და
კლინიკური იმუნოლოგიის დეპარტამენტის
სრული პროფესორი

ლალი შარვაძე, ივანე ჯავახიშვილის სახელობის
თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტის მედიცინის
ფაკულტეტის ინფექციური დაავადებების და
კლინიკური იმუნოლოგიის დეპარტამენტის
ასოცირებული პროფესორი

თბილისი, 2016

სარჩევი

თემის აქტუალობა	4
მიზანი.....	6
ამოცანები.....	6
სამეცნიერო სიახლე და პრაქტიკული ღირებულება.....	7
ნაშრომის აპრობაცია.....	8
საერთაშორისო კონფერენციები/პრეზენტაციები:.....	9
ნაშრომის მოცულობა და სტრუქტურა.....	9
ლიტერატურის მიმოხილვა.....	10
დაავადების დეფინიცია და კლასიფიკაცია.....	10
C ჰეპატიტის ეპიდემიოლოგია.....	10
C ჰეპატიტის ეტიოლოგია.....	15
HCV გენოტიპები.....	18
HCV გადაცემის გზები.....	23
HCV-ს ინფექციის დიაგნოსტიკა.....	27
დაავადების სიმძიმის შეფასება.....	29
C ჰეპატიტის მკურნალობა საქართველოში.....	40
კვლევის ობიექტი და მეთოდები.....	41
კვლევა 1:.....	41
კვლევის დიზაინი და კვლევაში ჩართულ პირთა მახასიათებლები:.....	41
კვლევა 2:.....	43
კვლევის დიზაინი და კვლევაში ჩართულ პირთა მახასიათებლები:.....	43
კვლევა 3:.....	45
კვლევის დიზაინი და კვლევაში ჩართულ პირთა მახასიათებლები:.....	45
კვლევა 4:.....	47
კვლევის დიზაინი და კვლევაში ჩართულ პირთა მახასიათებლები:.....	47
კვლევებში გამოყენებული ლაბორატორიული მეთოდები.....	50
ლაბორატორიული კვლევის მოლეკულური მეთოდები.....	52
ვირუსული რნმ-ის ექსტრაქცია:.....	52
HCV რნმ-ის რაოდენობრივი განსაზღვრა რეალური დროის პჯრ მეთოდით.....	54
HCV გენოტიპირება და სუბტიპირება.....	58
IP-10 განსაზღვრა.....	64
ბიოქიმიური გამოკვლევები.....	65
დვიდლის ელასტოგრაფია.....	66

ხარისხის კონტროლი.....	67
სტატისტიკური ანალიზი	67
ეთიკური კომისიის ნებართვა.....	67
შედეგები.....	68
კვლევა 1 შედეგები:.....	68
კვლევა 2 შედეგები:.....	73
კვლევა 3 შედეგები:.....	74
კვლევა 4 შედეგები:.....	76
კვლევის შედეგების განხილვა.....	80
კვლევა 1.....	80
კვლევა 2.....	84
კვლევა 3.....	86
კვლევა 4.....	86
დასკვნები და პრაქტიკული რეკომენდაციები:.....	88
დასკვნები:.....	88
კვლევა 1.....	88
კვლევა 2.....	88
კვლევა 3.....	89
კვლევა 4.....	89
რეკომენდაციები:.....	90
ლიტერატურა	91
დანართი 1. ინგლისური რეზიუმე.....	104

შესავალი

თემის აქტუალობა

მედიცინის და ტექნოლოგიების სწრაფი განვითარების მიუხედავად, XXI-ე საუკუნეში, C ჰეპატიტი ჯანდაცვის ერთ-ერთ უმწვავეს გლობალურ პრობლემას წარმოადგენს. ბოლო ათწლეულების განმავლობაში მისი აქტუალობა დღითიდღე იზრდება. დაავადებას წამყვანი ადგილი უჭირავს ავადობის, სიკვდილობის, ჰოსპიტალიზაციის და შრომის უუნარობის მაჩვენებლების მიხედვით (Alter, 1997a, 1997b, 2006; HIN, 2002c; Kim, 2002).

მსოფლიოში C ჰეპატიტის ვირუსით (HCV) ინფიცირებულთა რიცხვი განუხრელად იზრდება და 170 მილიონს აღემატება. ეს პლანეტის მოსახლეობის დაახლოებით 3%-ია (Alter, 2006; HIN, 2002a; Lauer & Walker, 2001; Lavanchy, 2009).

საქართველო C ჰეპატიტის გავრცელების მიხედვით მაღალი პრევალენტობის ქვეყნების რიცხვს მიეკუთვნება (Kuniholm et al., 2008; Stvilia et al., 2006). ქვეყანაში ჩატარებული უახლესი ეპიდემიოლოგიური კვლევის მონაცემებით, მოსახლეობის 7,1% C ჰეპატიტის ვირუსითაა ინფიცირებული.

C ჰეპატიტი, სხვა ვირუსული ჰეპატიტებისაგან განსხვავებით მაღალი ქრონიკული პოტენციალით (70-80%) ხასიათდება (Hajarizadeh, Grebely, & Dore, 2013). მისი მიმდინარეობისას ვითარდება ღვიძლის ანთებითი დაზიანება. დაავადების ქრონიკული მიმდინარეობა ხშირად არის მიზეზი ისეთი მძიმე გამოვლინებების, როგორცაა ღვიძლის ფიბროზი, ციროზი, ჰეპატოცელულარული კარცინომა და შედეგად ღვიძლის უკმარისობა (Daniele, Bencivenga, Megna, & Tinessa, 2004; Davila, Morgan, Shaib, McGlynn, & El-Serag, 2004; HIN, 2002a, 2002b; Hoofnagle, 2004; Mandell, 2005).

ჯანდაცვის საერთაშორისო ორგანიზაციის მონაცემებით ყოველწლიურად აღირიცხება C ჰეპატიტით ინფიცირების 3-4 მილიონი ახალი შემთხვევა, ხოლო C ჰეპატიტის ვირუსით ინფიცირების ფონზე განვითარებული ღვიძლის ქრონიკული დაავადებებით ყოველწლიურად 350 000-ზე მეტი ადამიანი იღუპება (WHO, 2013).

აღნიშნული პრობლემის გამო მარტო ამერიკის შეერთებულ შტატებში ყოველწლიურად დაახლოებით 10 000 ადამიანს უტარდება ღვიძლის ტრანსპლანტაცია (Kim, 2002; D. Moradpour, 2004)

C ჰეპატიტის პრობლემის აქტუალობას საქართველოში და ზოგადად მსოფლიოში დამატებით განაპირობებს შემდეგი ფაქტორები: არ არსებობს C ჰეპატიტის საპროფილაქტიკო ვაქცინა და სპეციფიკური იმუნოგლობულინი. დაავადებასთან ბრძოლა ხდება მაღალი ღირებულების მქონე ანტივირუსული პრეპარატების საშუალებით. ანტივირუსული პრეპარატების მრავალრიცხოვნების მიუხედავად, მკურნალობისას ხშირად გვხვდება გვერდითი ეფექტები და ზოგ შემთხვევებში უკუჩვენებები. მაღალი ღირებულების გამო, მრავალი ქვეყნის მოსახლეობისათვის, ანტივირუსული მკურნალობა ნაკლებად ხელმისაწვდომია.

რაც შეეხება საქართველოში HCV ინფექციის ინსიდენტობას, ყოველწლიურად იმატებს ახალი შემთხვევების რიცხვი. 2014 წელში 2647 ახალი შემთხვევა გამოვლინდა (IDFI,2015), რაც 100 000 მოსახლეზე გადაანგარიშებით შეადგენს 4.45 შემთხვევას.

ყოველივე აღნიშნულიდან გამომდინარე, შეიძლება ითქვას, რომ C ჰეპატიტი არის არა მხოლოდ სამედიცინო, არამედ მნიშვნელოვანი სოციალურ-ეკონომიკური პრობლემა. განსაკუთრებით, ისეთი დაბალი ეკონომიკური შესაძლებლობების ქვეყნისათვის როგორც საქართველოა.

ბოლო პერიოდში განსაკუთრებით დიდი პროგრესია მიღწეული მკურნალობის საკითხებში. ქრონიკული HCV ინფექცია გახდა პირველი და ჯერ-ჯერობით ერთადერთი ყველა სხვა ქრონიკულ ინფექციათა შორის, რომელიც გახდა განკურნებადი.

ქრონიკული C ჰეპატიტის მართვა მეტად მნიშვნელოვანია. დღესდღეობით კარგად არის შესწავლილი ქრონიკული C ჰეპატიტის მიმდინარეობა, საერთაშორისო თუ ეროვნულ გაიდლაინებში შემუშავებულია ანტივირუსული მკურნალობის მრავალი კომბინაცია, რომლებიც მორგებულია ვირუსის გენოტიპზე, ღვიძლის დაზიანების ხარისხზე, მასპინძელის გენეტიკურ მახასიათებლებზე და მრავალ ფაქტორზე, რომელთაც უშუალო კავშირი აქვთ დაავადების გამოსავალთან.

მწვავე C ჰეპატიტი, ქრონიკულისაგან განსხვავებით არ ხვდება ყურადღების ქვეშ და ამიტომ ნაკლებად არის შესწავლილი. მწვავე HCV ინფექციასთან დაკავშირებული ზოგიერთი საკითხი, რომლებიც ამჟამად აქტუალურია, ბოლომდე გარკვეული არ არის და ჯერ კიდევ კვლევის პროცესშია. მწვავე C ჰეპატიტზე დაკვირვება და შესწავლა ძნელია შემდეგი გარემოებების გამო: უმეტეს შემთხვევებში მიმდინარეობს უსიმპტომოდ და სეროკონვერსია (C ჰეპატიტის ვირუსის საწინააღმდეგო ანტისხეულების წარმოქმნა) შესაძლებელია 6 თვემდე არ მოხდეს

და შესაბამისად, C ჰეპატიტის საწინააღმდეგო ანტისხეულებზე სეროლოგიური ტესტირებისას არ გამოვლინდეს.

არსებობს სხვადასხვა მიდგომა და აზრი, მკურნალობის დაწყება არ დაწყების გადაწყვეტილების მიღების შესახებ. გამომდინარე იქიდან, რომ ნაკლებად არის შესწავლილი C ჰეპატიტის ვირუსის ბუნებრივი მიმდინარეობა მისი ორგანიზმში მოხვედრის პირველი დღეებიდან სეროკონვერსიამდე, ვირუსის რეპლიკაციის კინეტიკა და მისი როლი, ვირუსის კონცენტრაციის კავშირი განკურნებასთან, ვირუსისა და მასპინძლის გენეტიკური ფაქტორები და მათი დამოკიდებულება დაავადების გამოსავალზე. ამიტომ, გაჩნდა აზრი, რომ პრაქტიკული ღირებულების მქონე იქნებოდა მომხდარიყო მწვავე C ჰეპატიტის სულ ახალი შემთხვევების გამოვლენა და მათი ინფიცირების პირველივე დღეებიდან შესწავლა როგორც მონონინფიცირებულ, ასევე HIV/HCV კო-ინფექციით პაციენტებში.

მიზანი

კვლევის მიზანია, HCV მონო და HIV/HCV კო-ინფექციით პაციენტებში მწვავე C ჰეპატიტის ბუნებრივ მიმდინარეობაზე ინფიცირების პირველივე დღეებიდან დაკვირვება. ვირუსისა და მასპინძლის ფაქტორების შესწავლა და მიღებული შედეგების დაავადების გამოსავალთან დაკავშირებით, ანტივირუსული მკურნალობის დაწყების საჭიროების კრიტერიუმების შემუშავება.

ამოცანები

მწვავე HCV ინფექციის შემთხვევების გამოვლენა და მისი ბუნებრივი მიმდინარეობის შესწავლა ინფიცირების პირველივე დღეებიდან, ჯერ კიდევ სეროკონვერსიამდე.

HCV მონო და HIV/HCV კო-ინფექციით პაციენტებში მწვავე HCV ინფექციის გამოსავალის კავშირის დადგენა:

- სქესთან
- ასაკთან
- დაავადების კლინიკურ მიმდინარეობასთან(კლინიკური ფორმა)
- ვირუსის რეპლიკაციის კინეტიკასთან

- ვირუსის კონცენტრაციასთან
- ვირუსის გენოტიპთან
- მასპინძლის იმუნურ პასუხთან
- მასპინძლის გენეტიკურ ფაქტორთან (IL28B)
- ღვიძლის ფიბროზის ხარისხთან
- მასპინძლის სეროლოგიურ მარკერებთან (ALT, IP-10)

სამეცნიერო სიახლე და პრაქტიკული ღირებულება

საქართველოში პირველად გამოვავლინეთ მწვავე C ჰეპატიტის შემთხვევები და შევისწავლეთ მისი ბუნებრივი მიმდინარეობა როგორც მონო ასევე HIV/HCV კო-ინფიცირებულ პაციენტებში C ჰეპატიტით ინფიცირების პირველი დღეებიდან ჯერ კიდევ სეროკონვერსიამდე.

ნაშრომში აღვწერეთ მწვავე/ახალი HCV ინფექციის შესაძლო სხვადასხვა კლინიკურ-ლაბორატორიული ვარიანტი.

ნაშრომში წარმოვადგინეთ HCV ინფექციისაგან სპონტანურ გამოჯანმრთელებაში მდებრობითი სქესის, ახალგაზრდა ასაკის, დაავადების მწვავედ მიმდინარეობის პროგნოზული ღირებულება.

შევისწავლეთ ვირუსის კინეტიკასა და იმუნურ პასუხს შორის კორელაცია და დავადგინეთ მისი კავშირი დაავადების გამოსავალთან.

დავადგინეთ მწვავე C ჰეპატიტის სპონტანურ გამოჯანმრთელებაში მასპინძლის სეროლოგიური მარკერის, IP-10-ის პროგნოზული ღირებულება როგორც მონო, ასევე HIV/HCV კოინფექციით პაციენტებში.

შევისწავლეთ და დავადგინეთ, რომ ვირუსის გენეტიკური ტიპი არ ახდენს გავლენას მწვავე C ჰეპატიტისაგან თვითგანკურნებისას.

მაღალი რისკის ქცევის HIV/HCV კოინფექციით პაციენტებში გამოვავლინეთ ოკულტური C ჰეპატიტის რამოდენიმე შემთხვევა.

შევიმუშავეთ რეკომენდაციები უსაფრთხო სისხლის და სისხლის კომპონენტების სავალდებულო კვლევების ალგორითმის დასახვეწად, რომელთა განხორციელება მნიშვნელოვანია როგორც უსაფრთხოების ასევე საზოგადოებრივი ჯანმრთელობის კუთხით.

სისტემაში მოვიყვანეთ საქართველოში მწვავე C ჰეპატიტისას ანტივირუსული მეურნეობის დაწყების კრიტერიუმები როგორც მონო, ასევე HIV/HCV კონინფექციით პაციენტებში.

ნაშრომის აპრობაცია

გამოქვეყნებული შრომები:

Prevailing HCV genotypes and subtypes among hiv infected patients in Georgia.

Karchava M, Sharvadze L, **Gatserelia L**, Badridze N, Tsertsvadze T.

Georgian Med News. 2009 Dec;(177):51-5.

IL28B favorable genotype and ultrarapid viral response as the earliest treatment predictors of a sustained viral response in a Georgian cohort infected with the hepatitis C genotype 1.

Karchava M, Sharvadze L, Chkhartishvili N, Nelson K, Gochitashvili N, **Gatserelia L**, Dvali N, Dolmazashvili E, Dzigua L, Badridze N, Zhamutashvili M, Tsertsvadze T.

Eur J Gastroenterol Hepatol. 2012 Jul;24(7):817-23. doi: 10.1097/MEG.0b013e328353fd11.

Occurrence of occult HCV infection among Hiv infected patients in Georgia.

Gatserelia L, Sharvadze L, Karchava M, Dolmazashvili E, Tsertsvadze T.

Georgian Med News. 2014 Jan;(226):37-41.

Discrepancy between HCV structural and non structural genes in Georgian genotype two patients.

Tsertsvadze T, Karchava M, Sharvadze L, **Gatserelia L**, Dolmazashvili E.

Georgian Med News. 2014 Oct;(235):74-8.

High incidence of the hepatitis C virus recombinant 2k/1b in Georgia: Recommendations for testing and treatment.

Karchava M, Waldenström J, Parker M, Hallack R, Sharvadze L, **Gatserelia L**,

Chkhartishvili N, Dvali N, Dzigua L, Dolmazashvili E, Norder H, Tsertsvadze T.

Hepatol Res. 2015 Feb 16. doi: 10.1111/hepr.12505

The natural history of recent hepatitis C virus infection among blood donors and injection drug users in the country of Georgia.

Tsertsvadze T, Sharvadze L, Chkhartishvili N, Dzigua L, Karchava M, **Gatsereia L**, Abutidze A, Nelson KE.

Virol J. 2016 Feb 3;13(1):22. doi: 10.1186/s12985-016-0478-6.

საერთაშორისო კონფერენციები/პრეზენტაციები:

პოსტერ-პრეზენტაცია – Detection of acute HCV infection among different risk groups. **Gatsereia L.**, Sharvadze L., Karchava M., Badridze N., Tsertsvadze T. 14th International Congress on Infectious Diseases. March 9-12, 2010 Miami, Florida, USA

პოსტერ-პრეზენტაცია – Acute HCV Infection. **Gatsereia L.**, Sharvadze L., Karchava M., Badridze N., Tsertsvadze T. The 21th Conference of the The Asian Pacific Association for the Study of the Liver [APASL] 17 – 20 February 2011, Bangkok, Thailand

პოსტერ-პრეზენტაცია – Occurrence of occult HCV among HIV infected patients in Georgia. **Gatsereia L.**, Sharvadze L., Karchava M., Badridze N., Tsertsvadze T. 20th Anniversary NYS-ITRP Alumni Reunion. June 20-21 2013 Kiev, Ukraine

პოსტერ-პრეზენტაცია – Acute HCV infection among HIV infected individuals and disease outcome in the country of Georgia. **Lana Gatsereia**, Kakabadze T., Karchava M., Dvali N., Dzigua L., Abutidze A., Sharvadze L. U.S. – Georgia Partnership in Science. June 16-18, 2014, Tbilisi, Georgia.

ნაშრომის მოცულობა და სტრუქტურა

ნაშრომში წარმოდგენილია: შესავალი, ლიტერატურის მიმოხილვა, საკუთარი გამოკვლევის შედეგები, მიღებული შედეგების ანალიზი, დასკვნები, პრაქტიკული რეკომენდაციები. გამოყენებული ლიტერატურის სია, რომელიც მოიცავს 163 წყაროს. შედეგები ასახულია 18 დიაგრამასა და 7 ცხრილში, ნაშრომი ილუსტრირებულია 23 ფოტოთი.

ლიტერატურის მიმოხილვა

დაავადების დეფინიცია და კლასიფიკაცია

ჯანმრთელობის მსოფლიო ორგანიზაციის დაავადებათა კლასიფიკაციისა და კოდირების სისტემის მიხედვით (Disease classification and coding systems DIMDI-ICD-10-WHO-2007) C ჰეპატიტი განეკუთვნება დაავადებათა ჯგუფს – ვირუსული ჰეპატიტები.

ამავე კლასიფიკაციით გამოყოფენ დაავადების ორ ფორმას:

1. მწვავე C ჰეპატიტის – კოდი B17.1
2. ქრონიკული C ჰეპატიტის – კოდი B18.2

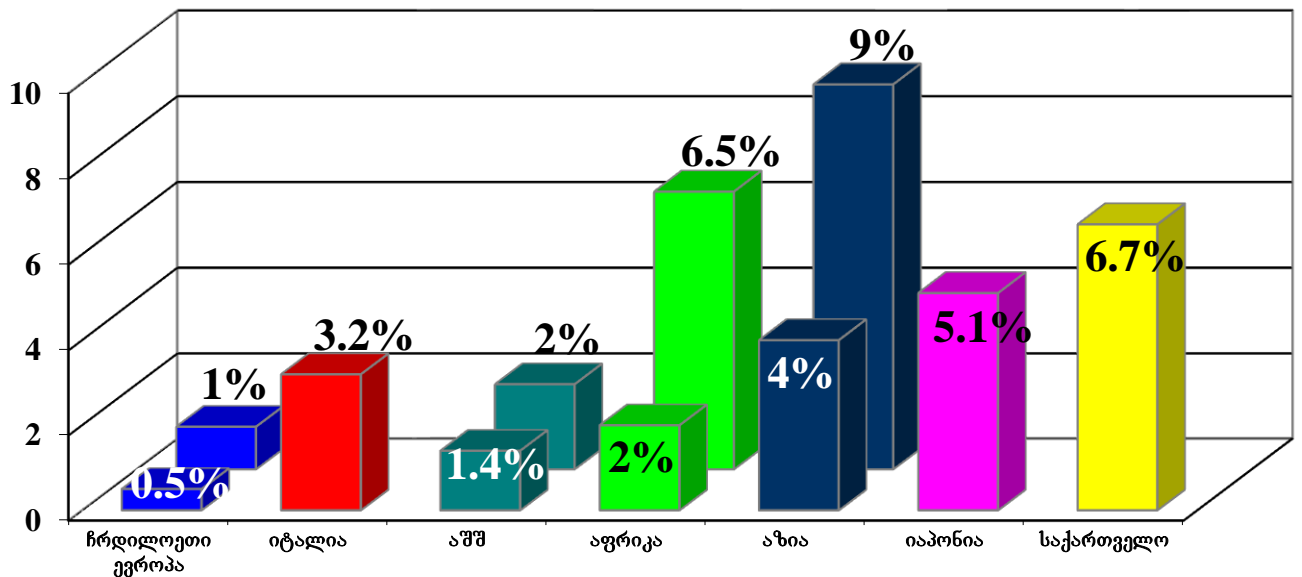
C ჰეპატიტი ინფექციური დაავადებაა, რომელსაც იწვევს ჰეპატოტროპული რნმ ვირუსი, C ჰეპატიტის ვირუსი (HCV). HCV არის პირველი ვირუსი, რომელიც გამოყოფილი იქნა მოლეკულური კლონირების პროცესის შედეგად (კულტურის გარეშე) ამერიკაში, 1989 წ-ს (Alter, 2006; HIN, 2002b; Purcell, 1994; Rehermann et al., 1996; Sherlock S, 1997; Takeuchi et al., 1990).

C ჰეპატიტის ეპიდემიოლოგია

C ჰეპატიტი მსოფლიო ჯანდაცვის მნიშვნელოვანი გლობალური პრობლემაა. ჯანდაცვის მსოფლიო ორგანიზაციის მონაცემებით, პლანეტის მოსახლეობის 3% C ჰეპატიტის ვირუსითაა ინფიცირებული და ეს რიცხვი ყოველ წელს მკვეთრად მატულობს. C ჰეპატიტით გამოწვეული ღვიძლის ტერმინალური დაავადებებით, მსოფლიოში ყოველწლიურად დაახლოებით 350 000 ადამიანი კვდება (Kim, 2002; Lavanchy, 2009; WHO, 2014b).

C ჰეპატიტი გავრცელებულია მთელს მსოფლიოში, თუმცა სხვადასხვა გეოგრაფიული არეალი თუ ქვეყანა განსხვავდება C ჰეპატიტის პრევალენტობით და ვირუსის გენეტიკური ტიპების პროცენტული გადანაწილებით.

(დიაგრამა №1) C ჰეპატიტის პრევალენტობა სხვადასხვა ქვეყნების მიხედვით.

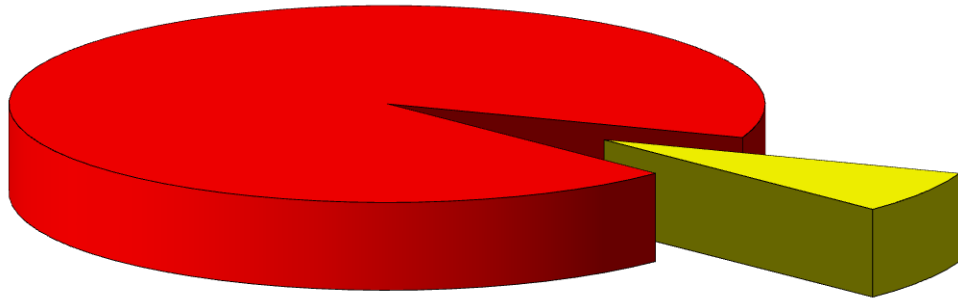



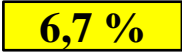
წყარო: C ჰეპატიტის მართვა(გაიდლაინი) 2006 წ.

C ჰეპატიტის ყველაზე მაღალი პრევალენტობა ფიქსირდება აზიასა და აფრიკაში (Shepard, Finelli, & Alter, 2005). ეგვიპტეში C ჰეპატიტის პრევალენტობა 15-20% და ძირითადად გამოწვეულია პარენტერალური ანტიმისტოსომიური თერაპიით (Frank et al., 2000). შედარებით დაბალი პრევალენტობა 1-2% ფიქსირდება ამერიკაში, ავსტრალიაში, იაპონიაში და ცენტრალური ევროპის ქვეყნებში. რუსეთში 1.3% (Ogarkov, Malyshev, Tokmakov, & Smirnov, 2004), სამხრეთ ევროპაში C ჰეპატიტის პრევალენტობა ცოტა უფრო მაღალია და შეადგენს 2,5-3,5%-ს. ჩრდილოეთ ევროპაში ნაკლებია 1%-ზე, ყველაზე დაბალია ინგლისსა და სკანდინავიაში (Alter, 2007; Alter et al., 1999; Armstrong et al., 2006).

საქართველო მიეკუთვნება C ჰეპატიტის მაღალი პრევალენტობის ქვეყნების ჯგუფს. 2001-2004 წლებში ქვეყანაში ჩატარებული ეპიდემიოლოგიური კვლევების მონაცემების მიხედვით C ჰეპატიტის ვირუსით ინფიცირებულია ზრდასრული მოსახლეობის 6,7 % ($\approx 150\ 000$) (Stvilia, et al., 2006).

(დიაგრამა №2) HCV-ს პრევალენტობა საქართველოს ზოგად მოსახლეობაში
(ჯვარედინ-სელექციური კვლევა, 2001-2004 წწ).



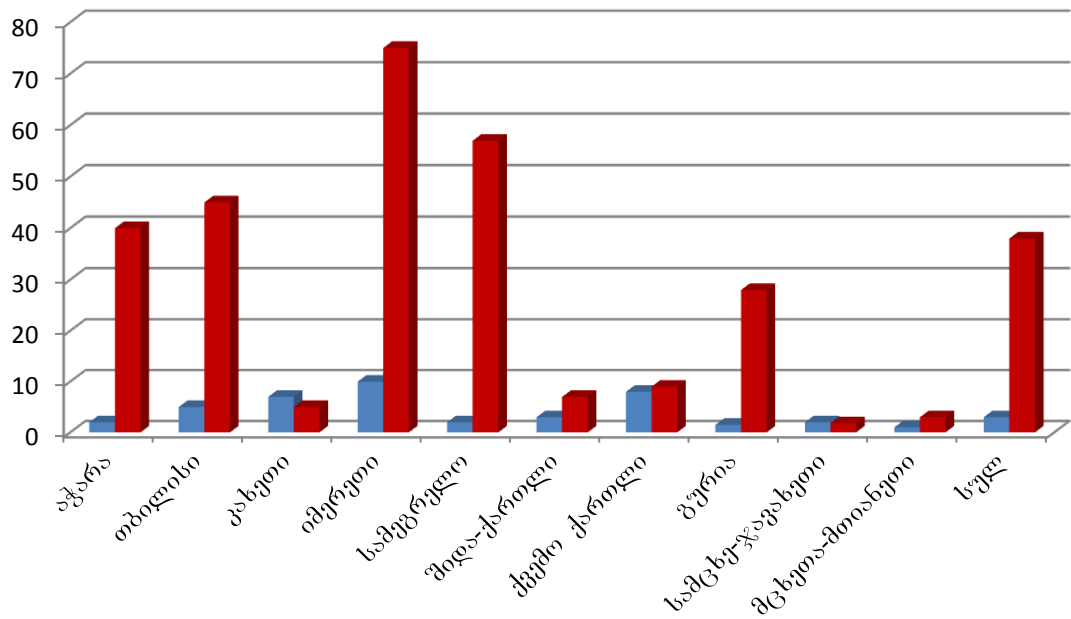
 - ზოგადი მოსახლეობა
 - HCV ინფექციით ავადმყოფები

წყარო: C ჰეპატიტის მართვა(გაიდლაინი) 2006 წ.

2014 წელს წინა წელთან შედარებით, საქართველოში C ჰეპატიტის ინციდენტობა 56%-ით გაიზარდა. C ჰეპატიტის ახალი შემთხვევებიდან 6.8% მწვავე შემთხვევებზე, ხოლო 93.4% - ახლად გამოვლენილ ქრონიკულ შემთხვევებზე მოდიოდა.

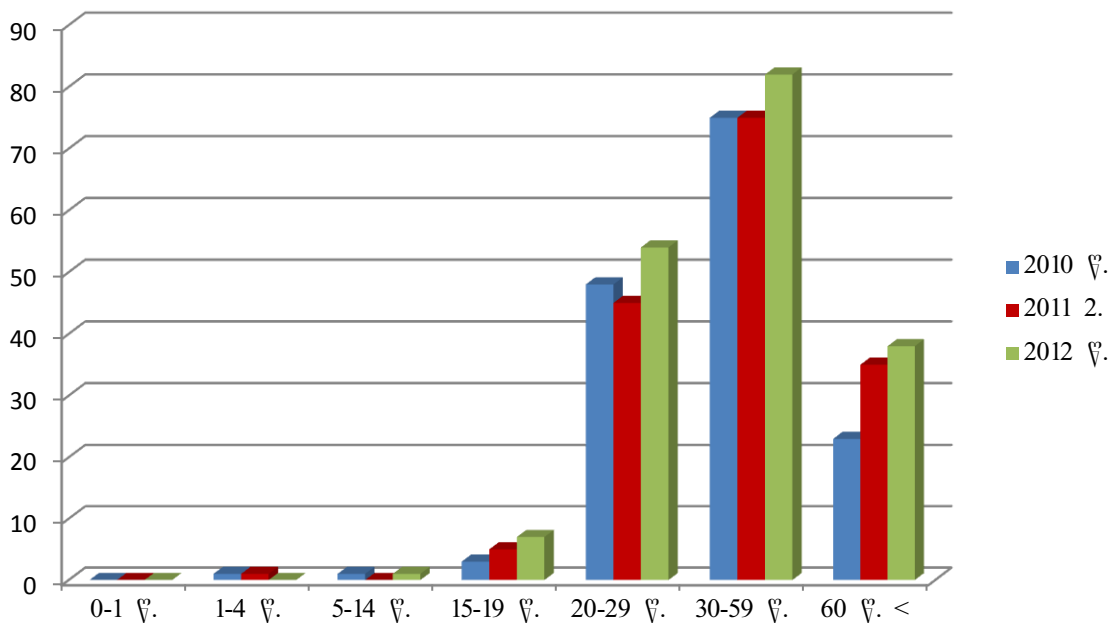
ასაკობრივი ჯგუფების მიხედვით C ჰეპატიტის ავადობის მაქსიმალური მაჩვენებელი 30-59 წლის მოსახლეობაში აღინიშნებოდა.

(დიაგრამა №3) მწვავე და ქრონიკული C ჰეპატიტის ინციდენტობა რეგიონების მიხედვით.



წყარო: (NCDC “Epidemiology Bulletin”2013/Vol.17).

(დიაგრამა №4) ქრონიკული C ჰეპატიტის ინციდენტობის ასაკობრივი გადანაწილება.

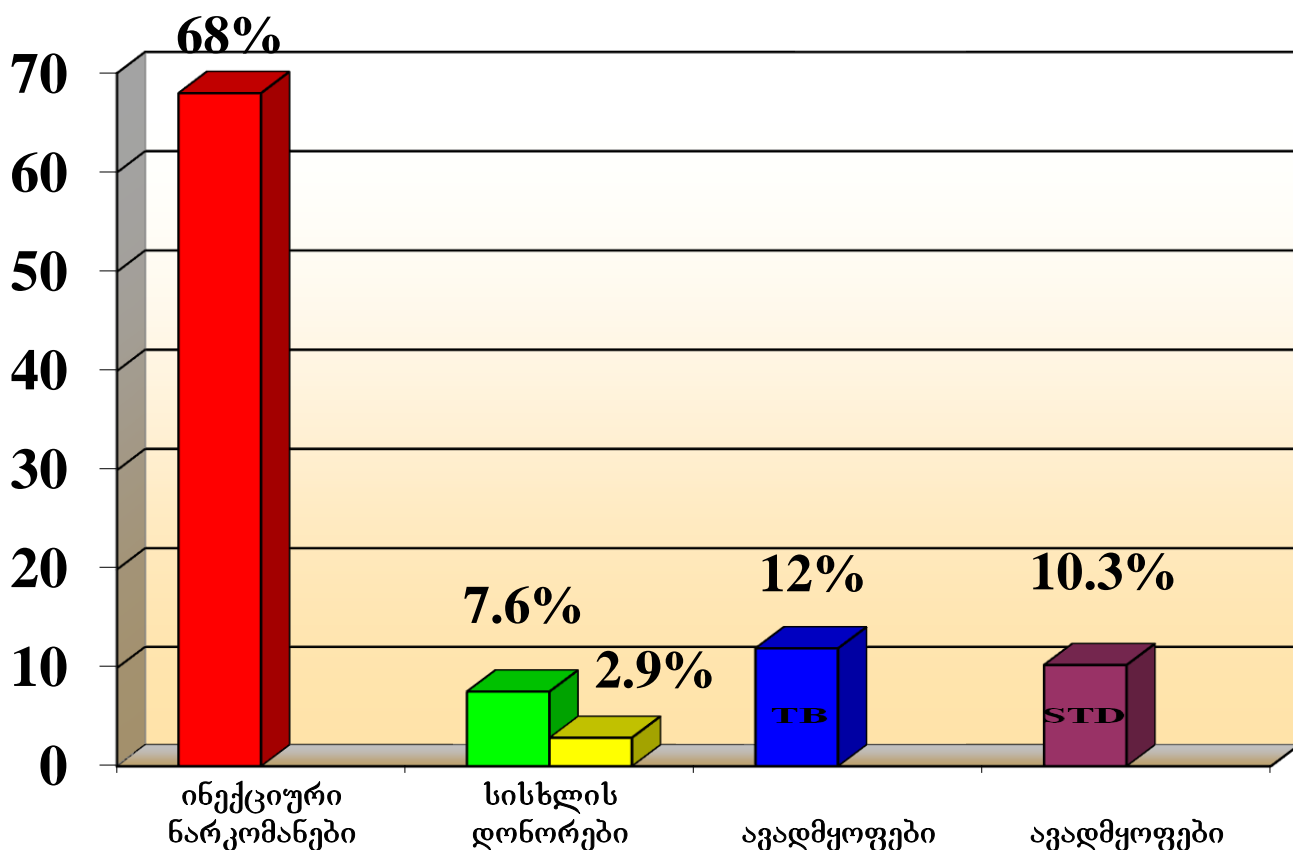


წყარო: (NCDC “Epidemiology Bulletin”2013/Vol.17).

CDC/აშშ-ს მხარდაჭერით, 2015 წელს საზოგადოებრივი ჯანდაცვის ეროვნული კონტროლის ცენტრის (NCDC)-ის მიერ განხორციელდა ახალი, მაშტაბური პოპულაციური კვლევა – „B და C ჰეპატიტის სეროპრევალენტობის კვლევა საქართველოში“. ამ კვლევის წინასწარი მონაცემების თანახმად, C ჰეპატიტის პრევალენტობა ზოგად მოსახლეობაში 7,1 %-ია.

რისკ ჯგუფებში C ჰეპატიტის გავრცელება ბევრად მაღალია: სისხლის დონორებში – 2,5%, სქესობრივი გზით გადამდები დაავადებით ავადმყოფებში – 10,3%, ტუბერკულოზით ავადმყოფებში – 12%, ხოლო ნარკოტიკების ინექციის გზით მომხმარებლებში 68%-ია (Badridze, Chkhartishvili, Abutidze, Gatsrelia, & Sharvadze, 2008; Richards et al., 2006; Stvilia K, 2005; Stvilia, et al., 2006).

(დიაგრამა №5) HCV პრევალენტობა რისკჯგუფებში.



წყარო: C ჰეპატიტის მართვა (გაიდლაინი) 2006 წ.

C ჰეპატიტის ეტიოლოგია

HCV მიეკუთვნება Hepacivirus-ების გვარს და Flaviviridae-ს ოჯახს. ვირუსი არის მცირე ზომის, მისი დიამეტრია 30-50 ნმ. ვირუსი შეიცავს დაახლოებით 9 600 ნუკლეოტიდისაგან შემდგარ დადებითი პოლარობის რნმ-ის ერთმაგ ჯაჭვს და გარსს, რომლის შემადგენლობაში შედის გლიკოპროტეინები (Houghton M, 1996; Lemon SM, 1995; Purcell RH, 1994).

რნმ დაფარულია ლიპიდური სუპერკაფსიდით. HCV-ს გენომში კოდირებულია სტრუქტურული და არასტრუქტურული ცილები. სტრუქტურულ ცილებს მიეკუთვნება C (core) პროტეინი და ორი გარსის გლიკოპროტეინი E1 და E2 (envelope protein). ეს ცილები მონაწილეობენ ვირუსის სტრუქტურის შენებაში. ვირუსის არასტრუქტურული ცილები: NS1, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A და NS5B ძირითადად წარმოდგენილია სხვადასხვა ფერმენტებით, რომლებიც მონაწილეობენ ვირუსის რეპლიკაციაში. ეს ფერმენტებია: მეტალოპროტეაზა, სერინპროტეაზა, რნმ ჰელიკაზა, რნმ დამოკიდებული რნმ პოლიმერაზა და სხვ (სურ. № 4).

ვირუსის შემადგენელი ცილები, მისი გენომის გასწვრივ შემდგენიარადაა განაწილებული:

C (core) პროტეინი – შედგება 191 ამინომჟავისაგან და იყოფა სამ დომენად. დომენი 1 (1-117) შედგება ორი ძირითადი ჰიდროფობული რეგიონისაგან. დომენი 2 (118-174) უფრო ჰიდროფობულია და მისი დაბოლოება მდებარეობს p21-ზე. დომენი 3 (175-191) ყველაზე მეტად ჰიდროფობულია და მონაწილეობს როგორც სიგნალი გარსის E1 პროტეინის ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობის სინთეზში (De Francesco, 1999).

გარსის ცილები (E1;E2) – მეტად გლიკოზილატირებულია და უმნიშვნელოვანეს როლს თამაშობს უჯრედში შეღწევადობაში. E1 შეღწევადობაზე პასუხისმგებელი სუბერთეულია, ხოლო E2 მოქმედებს, როგორც რეცეპტორ დამაკავშირებელი (Fraser, Boo, Pountourios, & Drummer, 2011).

P7 პროტეინი – მართალია არ მონაწილეობს ვირუსის გენომის რეპლიკაციაში, მაგრამ გადამწყვეტ როლს თამაშობს ვირუსის მორფოგენეზში. P7 არის 63 ამინომჟავისაგან შემდგარი მემბრანადამაკავშირებელი პროტეინი, რომელიც მდებარეობს ენდოპლაზმურ ბადეში. P7 პროტეინის გაფართოების პროვოცირებას ახდენენ ენდოპლაზმურ ბადის სასიგნალო ენზიმები. P7-ის ორი ტრანსმემბრანული

დომეინი, ენდოპლაზმური რეტიკულუმის სანათურის მიმართულებით, ციტოპლაზმური რკალით არიან ერთმანეთთან დაკავშირებული (Steinmann et al., 2007).

NS2 პროტეინი – 21-23 კილოდალტონია (kDa). ის ტრანსმემბრანული ცილაა და ხასიათდება პროტეაზული აქტივობით (Popescu et al., 2011).

NS3 პროტეინი – 67 kDa ზომის მულტიფუნქციური ენზიმია, მისი N-ტერმინალი ხასიათდება სერინ-პროტეაზა აქტივობით, ხოლო C-ტერმინალი კი, ნტპ-აზა/ჰელიკაზა აქტივობით. ის მდებარეობს ენდოპლაზმურ რეტიკულუმში და ქმნის ჰეტეროდიმეტრიულ კომპლექსს NS4A-სთან.

NS4A პროტეინი – 54 ამინომჟავისაგან შემდგარი მემბრანული პროტეინია, რომელიც არის პროტეინაზას კო-ფაქტორი (Locatelli, Gosselin, Spadari, & Maga, 2001).

NS4B პროტეინი – მცირე, 7 kDa ზომის ჰიდროფობული, ინტეგრალურ მემბრანული ცილა, ოთხი ტრანსმემბრანული დომეინით. მდებარეობს ენდოპლაზმურ რეტიკულუმში და მნიშვნელოვან როლს თამაშობს სხვა ვირუსული ცილების შერჩევაში. ენდოპლაზმურ რეტიკულუმში ის აინდუცირებს მორფოლოგიურ ცვლილებებს და წარმოიქმნის მემბრანულ ქსოვილს (De Francesco, 1999).

NS5A პროტეინი – ჰიდროფილური ფოსფოპროტეინია, რომელიც ახდენს უჯრედული ფიზიოლოგიის მოდულაციას HCV ინფიცირებულ უჯრედებში. უმნიშვნელოვანეს როლს თამაშობს ვირუსული რნმ-ის რეპლიკაციაში და ინტერფერონისმიმართ პასუხში (Gupta, Qin, & Song, 2012).

NS5B პროტეინი – 65 kDa ზომის, ვირუსული რნმ დამოკიდებული რნმ პოლიმერაზაა. NS5-ს ძირითადი ფუნქციაა HCV რნმ-ის რეპლიკაცია, რაშიც იყენებს ვირუსის დადებით რნმ ჯაჭვს, როგორც ყალიბს და რნმ-ის რეპლიკაციისას ახდენს რიბონუკლეოზიდ ტრიპოსფატის (rNTP) პოლიმერიზაციის კატალიზებას (Jin, Leveque, Ma, Johnson, & Klumpp, 2012; D. Moradpour, Penin, & Rice, 2007; Rigat et al., 2010).

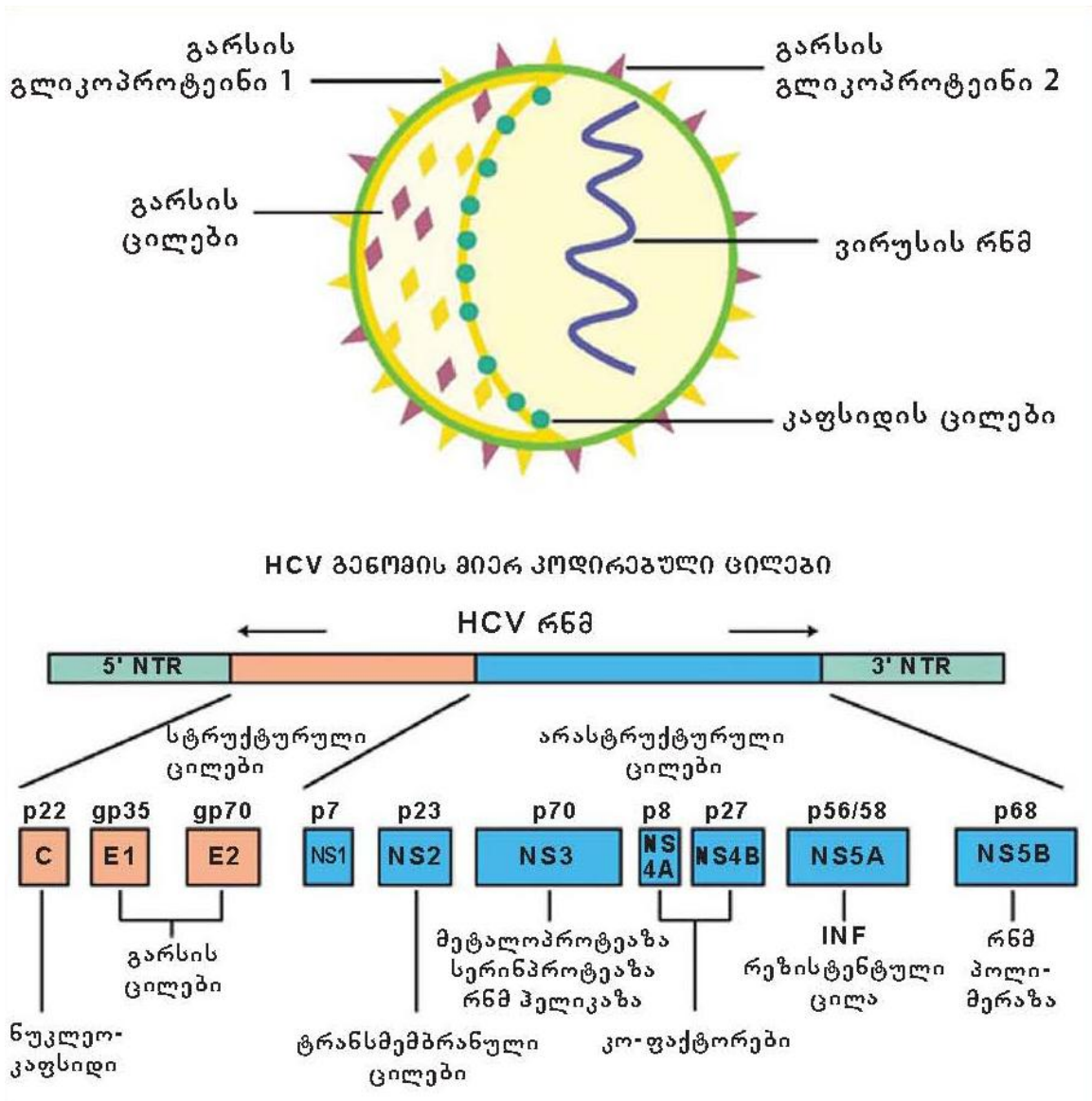
ანტიგენური ცვალებადობის თვალსაზრისით სტრუქტურული ცილებიდან განსაკუთრებით კონსერვატიულია C-core პროტეინი, ხოლო არასტრუქტურულ რეგიონში NS5-პროტეინი (რნმ დამოკიდებული რნმ პოლიმერაზა). გარსის ცილები E1, E2 კი განსაკუთრებით ვარიაბელურია (HIN, 2002b; Lemon SM, 1995; Purcell RH, 1994; Selby et al., 1999; Sherlok S, 1997).

ვირუსის როგორც სრუქტურული ასევე არასტრუქტურული ცილების მიმართ გამომუშავდება ანტისხეულები, რომლებიც სისხლში ცირკულირებენ (სერო-

კონვერსია). Anti-HCV ანტისხეულები ვირუსმანიტრალელებელი თვისებით არ ხასიათდება.

სურათზე წარმოდგენილია C ჰეპატიტის ვირუსის მოდელი, HCV გენომში კოდირებული სტრუქტურული და არასტრუქტურული ცილები შესაბამისი ფუნქციების მინიშნებით.

(სურ.№1) C ჰეპატიტის ვირუსი.

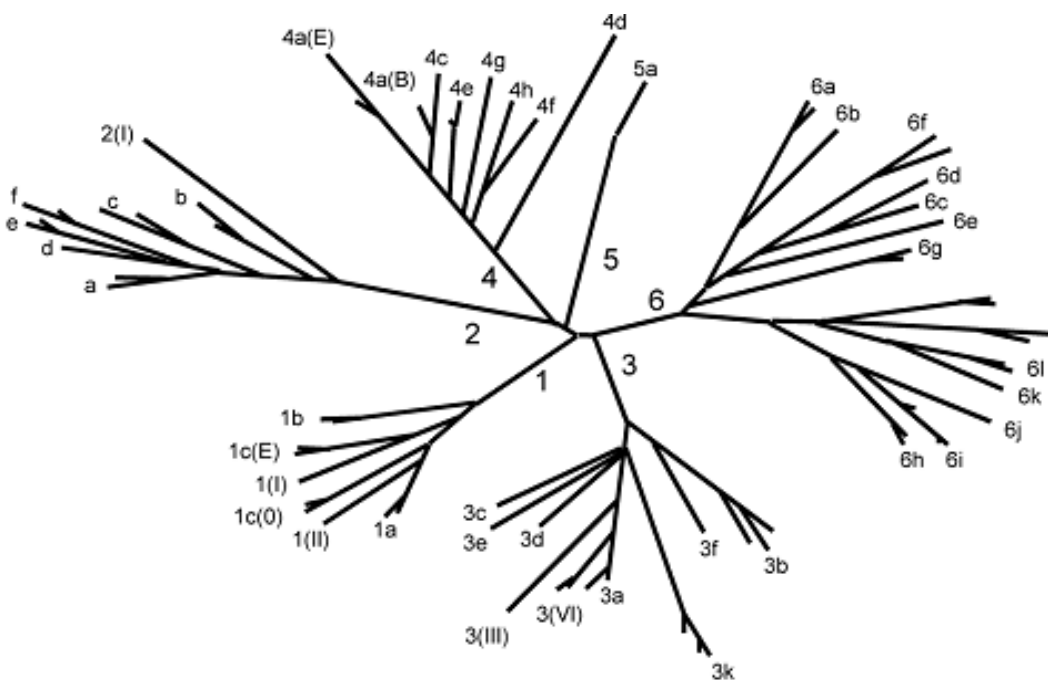


წყარო: C ჰეპატიტის მართვა(გაიდლაინი) 2006 წ.

HCV გენოტიპები

C ჰეპატიტის ვირუსის მნიშვნელოვანი თავისებურებაა მისი გენეტიკური არაერთგვაროვნება. ვირუსის გენომი, სექვენირების ფილოგენეტიკური ანალიზის მიხედვით კლასიფიცირდება გენოტიპის 6 ძირითად ჯგუფად ანუ კლასტერად.

(სურ.№2) HCV გენოტიპები.



წყარო: Versant HCV (Lipa) Simens.

მსოფლიოს მასშტაბით 6 გენოტიპი და 50-ზე მეტი სუბტიპი, 100-ზე მეტი იზოლატი და განუსაზღვრელი რაოდენობით კვაზისახეობებია გამოვლენილი (Nolte et al., 2003; Ross et al., 2000; Simmonds, 1999).

HCV ვირუსის სხვადასხვა გენოტიპის ნუკლეოტიდურ თანმიმდევრობებს შორის განსხვავება დაახლოებით 30-50%-ია, სუბტიპებში ეს განსხვავება შეადგენს 15-30%-ს, იზოლატებში 5-15%-ს, ხოლო კვაზისახეობებში 1-5%-ს (Bukh, Miller, & Purcell, 1995; Simmonds et al., 1993).

ცხრილი №1.

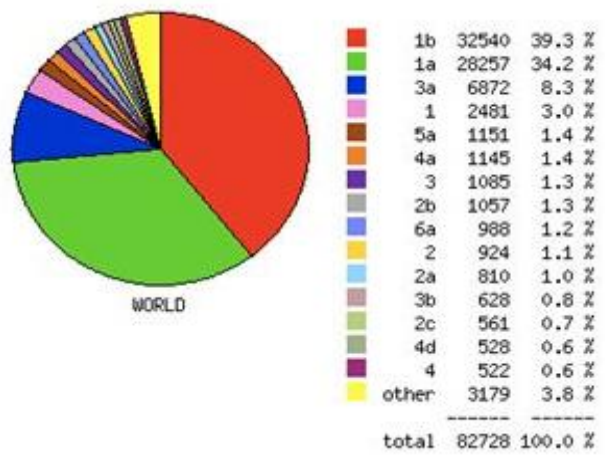
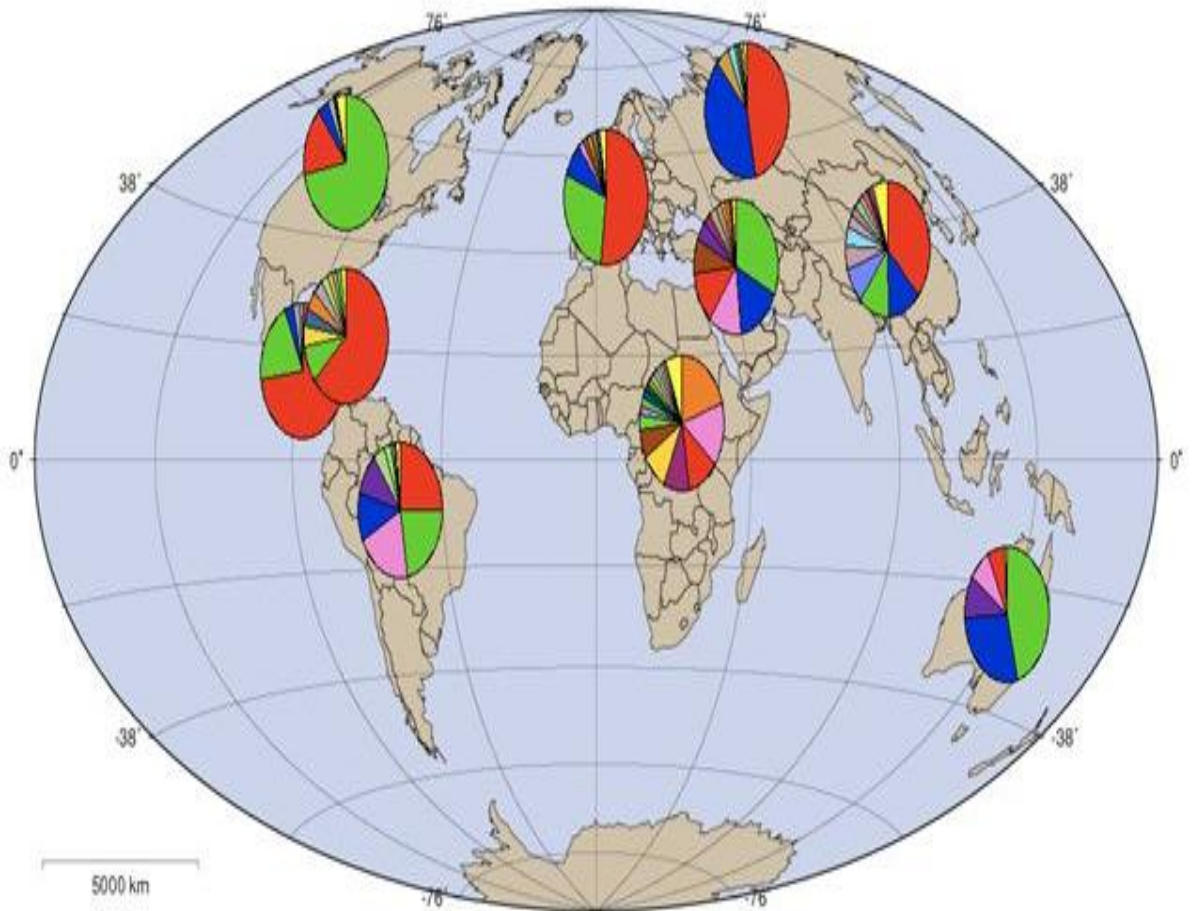
HCV გენოტიპები და კვაზისახეობები

Term	Definition	Nucleotide Similarity
Genotype	Heterogeneity among different viruses	50% – 70%
Subtype	Closely related viruses within each genotype	70% – 85%
Quasispecies	Complex of genetic variants within individual viruses	95% – 99%

წყარო: C ჰეპატიტის მართვა(გაიდლაინი) 2006წ.

მსოფლიოს სხვადასხვა გეოგრაფიულ არეალსა თუ ქვეყანაში, სხვადასხვა HCV გენეტიკური ტიპებია გავრცელებული.

(დიაგრამა №6) HCV გენოტიპის გავრცელება მსოფლიოში.



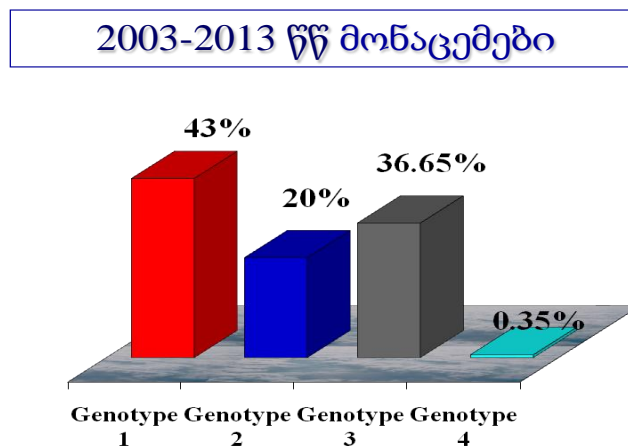
წყარო: US Library of Medicine, National Institute of Health, Los Alamos National laboratory.

1; 2 და 3 გენოტიპები თითქმის მთელ მსოფლიოშია გავრცელებული. 1a და 1b ტიპები ყველაზე ხშირად გვხვდება, მათზე მოდის გლობალური HCV ინფექციის 60%. 1 გენოტიპი დომინირებს ჩრდილოეთ ამერიკაში, ჩრდილოეთ ევროპაში, – სამხრეთ და აღმოსავლეთ ევროპაში, იაპონიაში. გენოტიპი 2 ნაკლებად გავრცელებულია ვიდრე ტიპი 1. ტიპი 3 ენდემურია სამხრეთ აღმოსავლეთ აზიისათვის, თუმცა ის მთელს მსოფლიოში გვხვდება. გენოტიპი 4 გვხვდება ცენტრალურ აზიაში, ეგვიპტესა და ცენტრალურ აფრიკაში. გენოტიპი 5 ექსკლუზიურად, მხოლოდ სამხრეთ აფრიკაშია. გენოტიპები 6 ნანახია აზიაში(CDC, 1998; Houghton M, 1996; Mondelli & Silini, 1999; WHO, 1999).

საქართველოში ჩატარებული ეპიდემიოლოგიური კვლევების(Sharvadze, Nelson, Imnadze, Karchava, & Tsertsvadze, 2008; Stvilia, et al., 2006) მონაცემებით HCV გენოტიპების გავრცელება შემდეგია:

(დიაგრამა №7)

HCV გენოტიპების განაწილება საქართველოში



გამოკვლევულ პირთა რაოდენობა ~ 2000

- გენოტიპი 1 – 43%;
- გენოტიპი 2 – 20%;
- გენოტიპი 3 – 36,65%;
- გენოტიპი 4 – 0.35%;

HCV გენეტიკურ ტიპებს რაიმე მნიშვნელოვანი კლინიკური ღირებულება არ გააჩნიათ, მაგრამ ძალიან მნიშვნელოვანია HCV ინფექციის მკურნალობის ხანგრძლივობის და მკურნალობის პროგნოზის განსაზღვრისთვის.

არსებული მონაცემებით, HCV გენოტიპსა და დაავადების ბუნებრივ მიმდინარეობას, მაგ. დაავადების სიმძიმეს შორის კავშირი არ არსებობს. სამაგიეროდ, მჭიდრო კავშირია HCV გენოტიპსა და მკურნალობის ეფექტურობას შორის. მაგ, HCV 1 გენოტიპით ავადმყოფები ცუდად პასუხობენ ინტერფერონთერაპიას (40-50%) და ესაჭიროებათ მკურნალობის ხანგრძლივი კურსი, მაშინ როდესაც HCV 2 და 3 გენოტიპით ავადმყოფებში მკურნალობის ეფექტურობა მნიშვნელოვნად უფრო მაღალია (70-80%) და ეს ავადმყოფები

მკურნალობის გაცილებით ნაკლები ხანგრძლივობის კურსს საჭიროებენ (Hadziyannis et al., 2004; Jaeckel et al., 2001; Shiffman et al., 2004; Zeuzem et al., 2004) ხოლო სტეატოზი, ლიპიდების პათოლოგიური დაგროვება ღვიძლში, რომელიც ასოცირდება ფიბროზთან უფრო ხშირად გვხვდება 3 გენოტიპით ინფიცირებულ პირებში (Rubbia-Brandt et al., 2004; Rubbia-Brandt et al., 2000).

მსოფლიოს მასშტაბით გამოვლენილი HCV-ის 6 ძირითადი გენოტიპის გარდა, არსებობს მონაცემები ორი სხვადასხვა გენოტიპის გენეტიკური მასალის რეკომბინაციის შედეგად წარმოქმნილი ჰიბრიდული ფორმების (RF) შესახებ (Kalinina, Norder, Mukomolov, & Magnius, 2002; Legrand-Abravanel et al., 2007).

არსებობს ლაბორატორიულად დამტკიცებული (გენომის სექვენირება) მონაცემები, რომ საქართველოში არც თუ ისე იშვიათად გვხვდება 2k/1b რეკომბინანტული ფორმები. აღნიშნულს ამყარებს საქართველოში მეორე გენოტიპით ინფიცირებულ პაციენტებში ანტივირუსული მკურნალობის შედეგად მიღებული განკურნების დაბალი მაჩვენებელი (Karchava et al., 2015; Tsertsvadze, Karchava, Sharvadze, Gatsrelia, & Dolmazashvili, 2014), ასევე უცხოეთში, არაგანკურნებულ პაციენტებში ეთნიკურად ქართველების და ზოგადად პოსტ საბჭოთა ქვეყნებიდან მიგრირებული პირების არსებობა (Demetriou, Kyriakou, & Kostrikis, 2011; Raghvani et al., 2012).

HCV გადაცემის გზები

HCV გადაეცემა ვირუსით ინფიცირებული სისხლის ან მისი კომპონენტების გადასხმით, HCV შემცველი დონორების ორგანოთა და ქსოვილთა ტრანსპლანტაციით, ინფიცირებული სისხლით დაბინძურებული შპრიცის და სხვა სამედიცინო ინსტრუმენტების გამოყენებით. ვირუსი ასევე გადაეცემა სქესობრივი კონტაქტით და დაავადებული დედიდან ნაყოფზე ორსულობის და მშობიარობის დროს (Alter, 1997b; McCarron, Main, & Thomas, 1998; Stvilia, et al., 2006; Villano, Vlahov, Nelson, Cohn, & Thomas, 1999).

HCV-ს სქესობრივი გზით გადაცემის რისკი დაბალია. ხანგრძლივ, მონოგამურ პარტნიორებს შორის გადაცემის რისკი 2%-ზე ნაკლებია, ხოლო მრავალობითი სქესობრივი პარტნიორის შემთხვევაში, მაღალი რისკის ჰომო ან ჰეტეროსექსუალური კავშირების დროს ვირუსის გადაცემის რისკი 6%-მდე მატულობს (HIN, 2002b; Terrault, 2002).

HCV-ს პერინატალური (ვერტიკალური) გადაცემის რისკი საშუალოდ 5-7%-ია. თუ დედის ორგანიზმში HCV რნმ-ის მაღალი კონცენტრაციაა, მაშინ ნაყოფზე ვირუსის გადაცემის რისკი იზრდება (Mast et al., 2005).

HCV-ს გადაცემის პოტენციური წყაროა პირსინგი და ტატუირება, ინფიცირებული ხელსაწყოების გამოყენებისას (Antoszewski, Sitek, Jedrzejczak, Kasielska, & Kruk-Jeromin, 2006). ასევე, HCV-ს გადაცემის დამატებითი რისკ ფაქტორი შესაძლოა იყოს ინფიცირებული სისხლით დაბინძურებული საყოფაცხოვრებო ნივთები, მაგ.: სამართებელი, კბილის ჯაგრისი და სხვ (Liang, Rehmann, Seeff, & Hoofnagle, 2000).

დაავადება არ გადაეცემა ჰაერ-წვეთოვანი გზით და მწერების და ცხოველების საშუალებით.

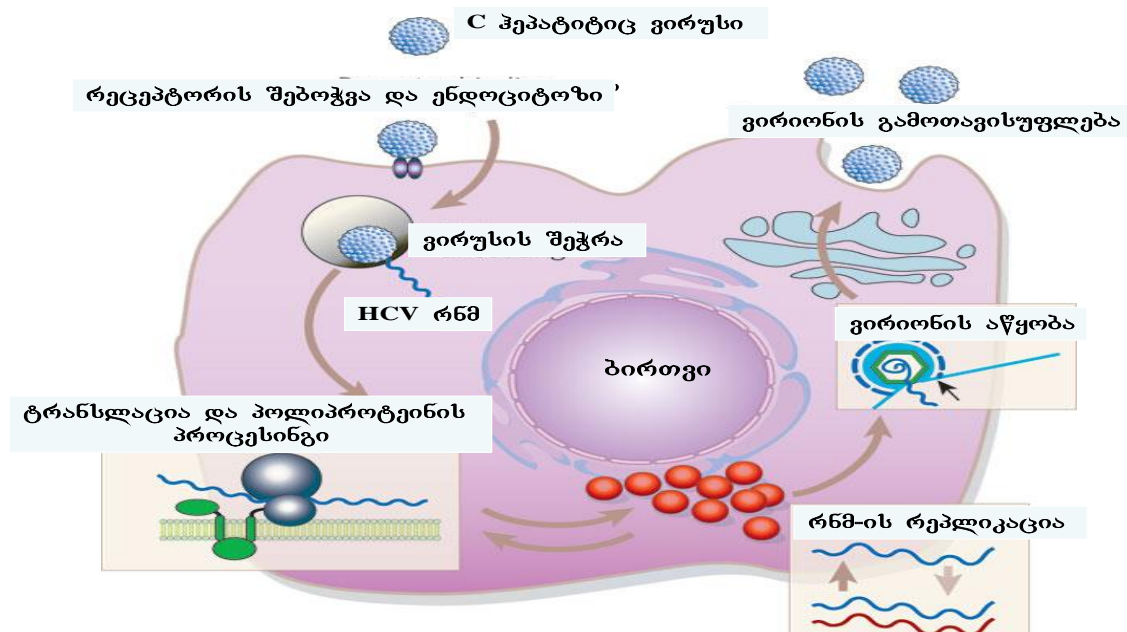
HCV ინფექციის პათოგენეზი

C ჰეპატიტის ვირუსით ინფიცირებისას, ხდება ვირუსის შეჭრა ჰეპატოციტში და მისი რეპლიკაცია (გამრავლება). HCV მიეკუთვნება ჰეპატოტროპულ ვირუსებს, თუმცა ცნობილია ასევე C ჰეპატიტის ვირუსის ლიმფოტროპული ბუნებაც. ჰეპატოციტის გარდა, ვირუსის სამიზნე შეიძლება გახდეს T და B უჯრედები, დენდრიტული უჯრედები, პერიფერიული სისხლის მონონუკლეარული უჯრედები-

მონოციტები (PBMC) (Bain et al., 2001; Laskus, Radkowski, Wang, Nowicki, & Rakela, 2000; Lerat et al., 1998; Navas, Martin, Quiroga, Castillo, & Carreno, 1998; Stamataki et al., 2009).

HCV-ს ჰეპატიციტებში შეჭრის ზუსტი მექანიზმი არ არის შესწავლილი, თუმცა ცნობილია, რომ ვირუსის გარსის ცილები (E1 და E2) ახდენს მასპინძლის უჯრედის (ჰეპატოციტის) ზედაპირზე არსებული სპეციალური რეცეპტორის შებოჭვას. მასპინძლის ჰეპატოციტების და ლიმფოციტების ზედაპირზე ექსპრესირებული რეცეპტორის სტრუქტურები: CD81, დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინი (LDL), C-ტიპის ლექტინი (DC – SIGN და L-SIGN), SR-BI, და სხვ. ურთიერთქმედებენ C ჰეპატიტის ვირუსის გარსის ცილებთან (Mandell, 2005; Zeisel, Barth, Schuster, & Baumert, 2009).

(სურ. №3) ვირუსის შეჭრა ჰეპატოციტში.



წყარო: C ჰეპატიტის მართვა(გაიდლაინი) 2006წ.

HCV ვირუსის გარსის ცილების მიერ მასპინძლის უჯრედის სპეციფიური რეცეპტორის სტრუქტურის შებოჭვის შედეგად ხდება ვირუსისა და უჯრედის შერწყმა და შესაბამისად ვირუსის შეჭრა მასპინძლის უჯრედში. ვირუსის გენეტიკური მასალა (რნმ) გამოთავისუფლდება მასპინძლის უჯრედის ციტოპლაზმაში და ასრულებს საინფორმაციო რნმ-ის როლს. ვირუსის რეპლიკაციაში მონაწილე

ფერმენტებია: პროტეაზა, ჰელიკაზა, რნმ პოლიმერაზა და სხვ. (Acton et al., 1996; Bartosch et al., 2003).

როგორც ცნობილია, HBV ინფექციის დროს ხდება ვირუსის ინტეგრირება მასპინძლის გენომში. რაც შეეხება HCV ინფექციას, ვირუსის სასიცოცხლო ციკლში არ ერთვება შუალედური დნმ და შესაბამისად პათოგენი არ ინტეგრირდება მასპინძლის გენომში (Lauer et al., 2005).

B ჰეპატიტის გამომწვევი ვირუსისაგან განსხვავებით, HCV ხასიათდება პირდაპირი ციტოპათიური მოქმედებით, რაც იწვევს ციტოლიზს და შესაბამისად ინფიცირებული ჰეპატოციტების კლირენსს, მაგრამ ვირუსის სუსტი იმუნოგენურობის გამო არ ხდება ჰეპატოციტების სწრაფი სანაცია გამომწვევისგან (Gerlach et al., 2003).

ისევე როგორც ადამიანის იმუნოდეფიციტის ვირუსი (აივ), HCV-ც ხასიათდება ვირუსის ანტიგენური სტრუქტურის ჰეტეროგენულობით. C ვირუსი უპირისპირდება იმუნიტეტის ზემოქმედებას, წუთის განმავლობაში მისი ანტიგენური სტრუქტურის სწრაფი, მრავალჯერადი ცვლებით. C ვირუსის ასეთი მულტივარიანტულობის გამო, T და B ლიმფოციტები ვეღარ ახერხებენ ამოიცნონ პერმანენტულად განახლებული ანტიგენები. HCV-ს ამ უნარის გამო(დაუსხლტეს იმუნურ ზედამხედველობას) “immune escape virus” ეწოდება. ერთსა და იმავე ავადმყოფში, HCV-ს მუდმივად ცვალებად ანტიგენურ ვარიანტებს კვაზისახეობები (quasispecies) ეწოდება. ერთ დღე-ღამეში პროდუცირებული კვაზისახეობების რიცხვი აღემატება $10^{10} - 10^{11}$ -ს. ახალი ანტიგენური შტამების წარმოქმნის სისწრაფე, უმეტეს შემთხვევაში აღემატება მანეიტრალბელი ანტისხეულების გამომუშავების სისწრაფეს, შედეგად ფორმირდება პერსისტენტული ინფექცია(Mandell, 2005; Sherlok S, 1997; Walters et al., 2009).

HCV-ს გარსის ანტიგენები – E1, E2/NS1 სეგმენტები ყველაზე მეტად ცვალებადია და ე.წ. ”ჰიპერვარიაბელურ რეგიონებს” წარმოადგენენ. ეს უბნები წარმოადგენენ იმუნური სისტემის ძირითად სამიზნეს(Kato et al., 1993). კვლევები ადასტურებს, რომ HCV-ს პირველი გენოტიპი გამოირჩევა ჰიპერვარიაბელურ რეგიონებზე მუტაციის განვითარების ყველაზე მაღალი სიჩქარით. ზემოაღნიშნული განაპირობებს პირველი გენოტიპის ქრონიზაციის ყველაზე მაღალ სიხშირეს და ინტერფერონოთერაპიისას განკურნების ყველაზე დაბალ პროცენტს.

HCV ინფექციის ქრონიზაციას ხშირ შემთხვევაში განაპირობებს ისეთი პეპტიდების ინდუცირების უნარი, რომლებიც T ლიმფოციტური რეცეპტორების ფუნქციური ანტაგონისტებია და აფერხებენ ჰელპერულ და ციტოტოქსიურ აქტივობას. ასევე შესწავლილია, რომ არაციტოპატიური ვირუსული ჰეპატიტებით (HBV, HCV) ღვიძლის დაზიანებას T უჯრედული პასუხი განაპირობებს. ვირუსული ეტიოლოგიის ღვიძლის დაზიანების დროს, კერძოდ HCV ინფექციის დროს, უჯრედული იმუნიტეტის დათრგუნვაში გარკვეული წვლილი მიუძღვის ვირუსსპეციფიური T-უჯრედების აპოპტოზს, შედეგად შეიძლება განვითარდეს ქრონიკული ინფექცია, ავტოიმუნური და ავთვისებიანი დაავადებები (Gremion et al., 2004; Kountouras, Zavos, & Chatzopoulos, 2003; Lechner et al., 2000; Solary, Dubrez, & Eymin, 1996).

HCV-ს პერსისტენციის კიდევ ერთი მექანიზმია ის, რომ ვირუსი რეპლიცირებს არა მხოლოდ ღვიძლის ქსოვილში, არამედ სხვა ქსოვილებშიც მაგ. მოცირკულირე მაკროფაგებში – მონოციტებში. ასეთ შემთხვევაში ხდება ვირუსის ე.წ. “შენახვა” მაკროფაგებში და იგი იმუნური სისტემისთვის მიუწვდომელი ხდება. ღვიძლის ტრანსპლანტაციისას რეინფექციის ძირითადი მიზეზი სწორედ ამ თავისებურებით აიხსნება (Ploss & Evans, 2012; Sherlock S, 1997).

C ჰეპატიტის დროს ჰუმორული იმუნური პასუხი გამოხატულია სუსტად, ამიტომ გვხვდება C ჰეპატიტის რეინფიცირების შემთხვევები. Anti-HCV განსაზღვრადი ხდება ინფიცირებიდან 6-8 კვირაზე(სეროკონვერსია) და მოკლებულია ვირუსმანიტრალეზელ თვისებებს, ამიტომ ჰუმორული იმუნიტეტი პრაქტიკულად არ მონაწილეობს HCV ინფექციისგან გამოჯანმრთელების პროცესში (Pawlotsky, 1999).

HCV-საგან ერადიკაცია (გათავისუფლება) მოითხოვს თანდაყოლილი და შეძენილი იმუნიტეტის კოორდინირებულ მოქმედებას. HCV-ით ინფიცირების შემდეგ აქტივირდებიან ნატურალური კილერები (NK), ასევე აქტივირდებიან CD4+ და NK T უჯრედები. CD4+ აპროდუცირებს ციტოკინებს, როგორცაა IFN- γ , რომელიც აინდუცირებს ციტოტოქსიურ T ლიმფოციტებს (CTLs). CTLs-ს აქვს უნარი აკონტროლოს ვირუსის რეპლიკაცია, ინფიცირებული უჯრედების პირდაპირი ლიზისის საშუალებით და ასევე ციტოკინების პროდუცირებით, რომლებიც აინჰიბირებენ ვირუსის რეპლიკაციას. შესაბამის მომენტში თუ ვერ მოხერხდება იმუნური პასუხის ინიცირება, იქმნება NK, დენდრიტული და CD4+ უჯრედების დეფიციტი. რაც თავის მხრივ იწვევს ციტოკინების არაადეკვატურ, არაეფექტურ პროდუცირებას რომლებიც ვეღარ აკონტროლებენ HCV ინფექციას და შედეგად ხდება

მისი ქრონიზაცია. ასეთ დროს ციტოკინები იწვევენ არასპეციფიური, ანთებადი უჯრედების დაგროვებას. ვირუსის რეპლიკაცია იწვევს ინფიცირებული უჯრედების დაღუპვას, ცხიმის დაგროვებას და ანთებით პროცესებს, რომლებიც ახდენენ ფიბროზის სტიმულირებას (Gremion & Cerny, 2005; Gruner et al., 2000; Koziel, 2005; Lechner, et al., 2000; MacDonald et al., 2002).

ასევე დადგენილია, რომ მესხიერების CD4+ და CD8+ ლიმფოციტები თამაშობენ გადამწყვეტ როლს HCV რეინფექციისგან დაცვაში (Chang et al., 2001; MacDonald, et al., 2002).

HCV-ს ინფექციის დიაგნოსტიკა

კლინიკური ნიშნების პრაქტიკულად არ არსებობის გამო, HCV-ს დიაგნოსტიკა ლაბორატორიულად ხდება.

C ჰეპატიტის ლაბორატორიული დიაგნოსტიკის ძირითად მეთოდებს წარმოადგენს, სისხლში C ჰეპატიტის ვირუსის საწინააღმდეგო ანტისხეულების და ვირუსის გენეტიკური მასალის იდენტიფიცირება (Blatt et al., 2000; WHO, 2014a).

C ჰეპატიტის ვირუსის საწინააღმდეგო ანტისხეულების განსაზღვრის მეთოდებიდან გამოიყოფა: პირველადი ანუ სკრინინგული და დამადასტურებელი ანუ კონფირმაციული მეთოდები.

სკრინინგულ მეთოდებს მიეკუთვნება anti HCV-ს განსაზღვრა სწრაფი/მარტივი (ქრომატოგრაფია) მეთოდით და იმუნოფერმენტული ანალიზი (იფა).

კონფირმაციული მეთოდი ე.წ. იმუნობლოტინგის (RIBA-Recombinant Immuno Blot Assay) მეთოდი, სკრინინგული მეთოდებისაგან განსხვავებით მაღალსპეციფიურია და საშუალებას იძლევა განისაზღვროს ინდივიდუალური ანტისხეულები ვირუსის ცალკეული ანტიგენის – Core, NS2, NS3, NS4, NS5-ის მიმართ. სადღეისოდ ეს მეთოდი თითქმის აღარ გამოიყენება მაღალი ფასისა და შედარებით დაბალი მგრძობელობის გამო, ის ინფორმაციულია მწვავე C ჰეპატიტის დიაგნოზის დასმისას (Yeh et al., 1994). კონფირმაციული, იმუნობლოტინგის მეთოდი ჩანაცვლებულია HCV რნმ-ის თვისობრივი და რაოდენობრივი განსაზღვრის ტესტებით.

სკრინინგული და იმუნობლოტინგის მეთოდით დიაგნოსტიკის დროს გათვალისწინებული უნდა იყოს ის გარემოება, რომ HCV-ს მიმართ ანტისხეულები გამომჟღავნდება (სეროკონვერსია) ნელა. რასაც შეიძლება დაჭირდეს 8-10 კვირა და

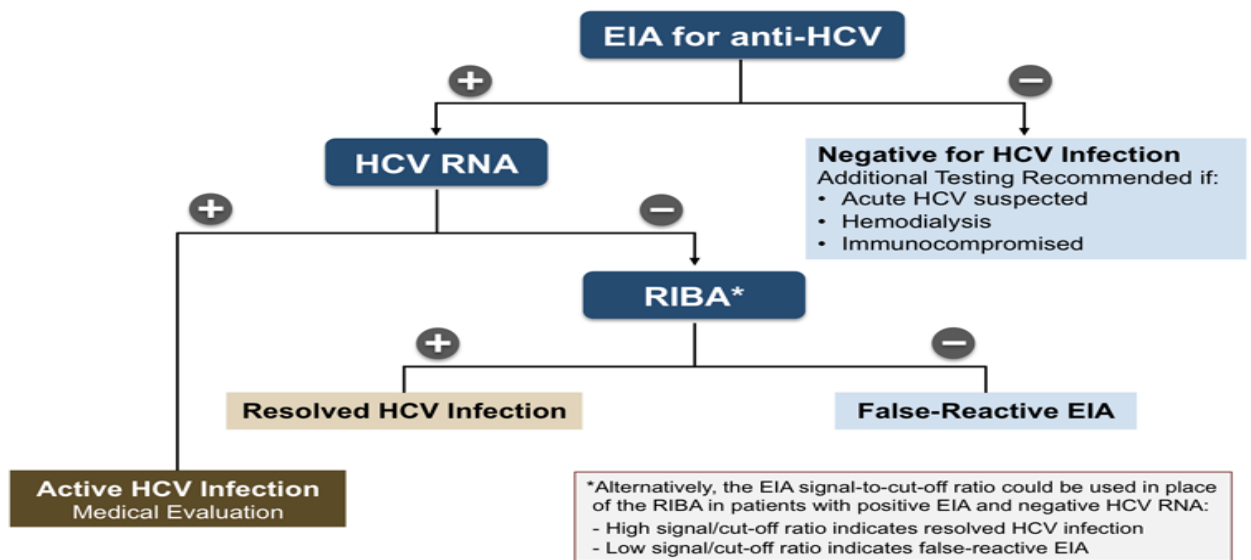
ზოგიერთ შემთხვევაში 8-12 თვეც კი (ე.წ. „სერონეგატიური ფანჯარა“ პერიოდი) (Peterson et al., 2000).

ზემოთ ჩამოთვლილი ტესტირების მეთოდები მოწოდებულია არა უშუალოდ C ჰეპატიტის ვირუსის, არამედ ვირუსის მიმართ გამომუშავებული ანტისხეულების აღმოსაჩენად. ამ ტესტებით მიღებული დადებითი შედეგი შეიძლება ნიშნავდეს:

1. ავადმყოფს აქვს აქტიური HCV ინფექცია;
2. ავადმყოფს ჰქონდა C ჰეპატიტი და გამოჯანმრთელდა;
3. გამოსაკვლევი პირი არის ბავშვი (18 თვემდე), რომელმაც დაავადებული დედისგან ტრანსპლაცენტურად ან მშობიარობის დროს მიიღო ანტისხეულები.

anti HCV დადებითი შედეგის მიღების შემდეგ, კვლევა უნდა გაგრძელდეს უშუალოდ HCV რნმ-ის გამოსაკვლენი ტესტირებით. რნმ-ის არსებობა უტყუარად მიუთითებს C ჰეპატიტის აქტიურ ინფექციაზე (Firdaus, Saha, Biswas, & Sadhukhan, 2015).

(სურ. №4). აქტიური HCV ინფექციის ლაბორატორიული დიაგნოსტიკის ალგორითმი.



წყარო: University of Washington.

ბოლო წლებში ბაზარზე გამოჩნდა HCV Ag/ab ერთობლივი განსაზღვრის და HCV Core Ag-ის სადიაგნოსტიკო სკრინინგული ტესტები. აღნიშნული ტესტები ამცირებს ე.წ. „სერონეგატიურ ფანჯარა“ პერიოდს. HCV Core Ag-ის სადიაგნოსტიკო ტესტმა კი შეიძლება გვიჩვენოს აქტიურია თუ არა HCV ინფექცია და გარკვეულწილად ჩაანაცვლოს რნმ-ის თვისობრივი განსაზღვრის ტესტი. აღნიშნულზე მიმდინარეობს კვლევები (Seme, Poljak, Babic, Mocilnik, & Vince, 2005; Tillmann, 2014).

აქტიური HCV ინფექციის დადგენის შემდეგ, ღვიძლის დაზიანების ხარისხის შესაფასებლად, დაავადების მიმდინარეობის პროგნოზირებისა და მკურნალობის ეფექტურობის შესაფასებლად, პაციენტს უტარდება დამატებით გამოკვლევები: ვირუსის გენოტიპირება, ბიოქიმიური მაჩვენებლების განსაზღვრა, ღვიძლის ელასტოგრაფია და სხვ.

დაავადების სიმძიმის შეფასება

ქრონიკული HCV ინფექციის პროგრესირების და დაავადების სიმძიმის შეფასების მნიშვნელოვანი მაჩვენებელია ღვიძლის ფიბროზი.

არსებობს ღვიძლის ფიბროზის ხარისხის შესაფასებელი ინვაზიური და არაინვაზიური მეთოდები. არაინვაზიური მეთოდები თავის მხრივ იყოფა ინსტრუმენტულ და არაინსტრუმენტულ მეთოდებად (სეროლოგიური მარკერების განსაზღვრა).

ღვიძლის ფიბროზის ხარისხის შესაფასებელი ინვაზიური მეთოდია ბიოფსია. ღვიძლის ბიოფსიით ღვიძლის ჰისტოლოგიის გამოკვლევა საშუალებას გვაძლევს ზუსტად განისაზღვროს ანთების აქტივობა, ფიბროზის ხარისხი და ციროზის სიმძიმე. ჰისტოლოგიურად ანთების აქტივობა და ფიბროზის ხარისხი მაღალი სიზუსტით კორელირებს ციროზის განვითარების რისკთან. გამოყოფენ ფიბროზისა და ანთების აქტივობის 4 სტადიას (მინიმალური; უმნიშვნელო; ზომიერი; გამოსატული) (Bravo, Sheth, & Chopra, 2001; Garcia & Keefe, 2001). ღვიძლის ბიოფსიით მიღებული შედეგების ინტერპრეტაციისთვის არსებობს რამოდენიმე კლასიფიკაცია, პრაქტიკაში ყველაზე გამოყენებადია Ishak და Metavir კლასიფიკაცია.

ბოლო დროს კლინიკურ პრაქტიკაში ბიოფსია, წარმატებით ჩაანაცვლა ღვიძლის ფიბროზის შეფასების არაინვაზიურმა მეთოდებმა. ისინი არ არის ტრავმული და არ ახასიეთებს მანიპულაციის შემდგომი გართულების რისკი.

არაინვაზიური მეთოდები:

1. ფიბროზის სეროლოგიური მარკერების განსაზღვრა და მიღებული მაჩვენებლების პროგრამული დამუშავება. სეროლოგიური მარკერები თავის მხრივ იყოფა 2 ჯგუფად:
 - ა) პირდაპირი სეროლოგიური მარკერები (ექსტრაცელულური მატრიცული ცილები(ECM), ჰიალურონის მუავა, ალფა-2 მაკროგლობულინი).
 - ბ) რაპირდაპირი სეროლოგიური მარკერები (ალანინამინოტრანსფერაზა (ALT), ასპარტატამინოტრანსფერაზა (AST), ALT/AST ინდექსი, თრომბოციტების რიცხვი, პროთრომბინის ინდექსი და სხვა).
2. ინსტრუმენტული კვლევები: ულტრა-ბგერა, კომპიუტერული ტომოგრაფია, მაგნიტური რეზონანსი და ბოლო დროს ყველაზე პოპულარული და ინფორმატიული – ელასტოგრაფია, რომლის დროსაც ხდება ღვიძლის სიხისტის შეფასება, რომელიც კორელირებს ღვიძლის ფიბროზის ხარისხთან (de Ledinghen et al., 2006).

C ჰეპატიტის მკურნალობა

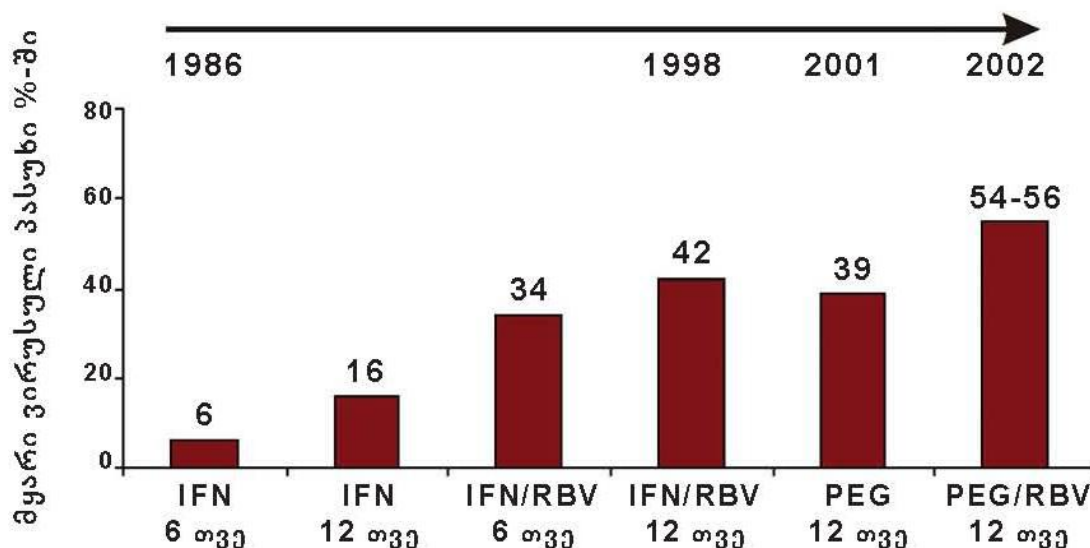
“ქრონიკული HCV ინფექცია არის პირველი და ჯერ-ჯერობით ერთადერთი ყველა სხვა ქრონიკულ ინფექციათა შორის, რომელიც გახდა განკურნებადი” (2009, The 19th international Conference of the APASL). ზემოაღნიშნული შესაძლებელი გახდა C ჰეპატიტის მკურნალობაში რევოლუციური, ე.წ. “პირდაპირი მოქმედების პრეპარატების” გამოჩენამ (Soriano et al., 2015).

HCV მკურნალობის მიზანია, მოახდინოს მასპინძლის ორგანიზმიდან ვირუსის ერადიკაცია, დაავადების გართულებების (ღვიძლის ციროზი, ღვიძლის უკმარისობა, ჰეპატოცელულარული კარცინომა), დაავადების ექსტრაჰეპატური გამოვლინებების და ვირუსის გადაცემის პრევენცია. აღნიშნულის მიღწევა შესაძლებელია, თუ მკურნალობის შედეგად მიღებულია ე.წ. მყარი ვირუსული პასუხი (SVR-არაგანსაზღვრადი HCV რნმ-ი მკურნალობის დამთავრებიდან 12 ან 24 კვირის შემდეგ) (S & Colombo, 2016).

C ჰეპატიტის მკურნალობამ მრავალი ეტაპი განვლო: სტანდარტული (არამოდიფიცირებული) ინტერფერონით მონოთერაპია, სტანდარტული ინტერფერონით და რიბავირინით კომბინირებული მკურნალობა, პეგილირებული (მოდიფიცირე-

ბული) ინტერფერონით მონოთერაპია, პეგილირებული ინტერფერონით და რიბავირინით კომბინირებული მკურნალობა (ორმაგი თერაპია), I გენერაციის პირდაპირი ანტივირუსული მოქმედების პრეპარატებით (DAA) მკურნალობა, პეგილირებული ინტერფერონით და რიბავირინით კომბინირებული მკურნალობა (სამმაგი თერაპია), II გენერაციის პირდაპირი ანტივირუსული მოქმედების პრეპარატებით მკურნალობა (უინტერფერონო რეჟიმები) და სხვ(Afdhal et al., 2014; Marinho, Vitor, & Velosa, 2014; McHutchison et al., 1998; McHutchison et al., 2000; Shiffman, et al., 2004; Soriano, et al., 2015).

(დიაგრამა №8) HCV ინფექციის მკურნალობის ეტაპები (1986-2002).



წყარო: AASLD Practice Guideline: Diagnosis, management and treatment of hepatitis C. 2004

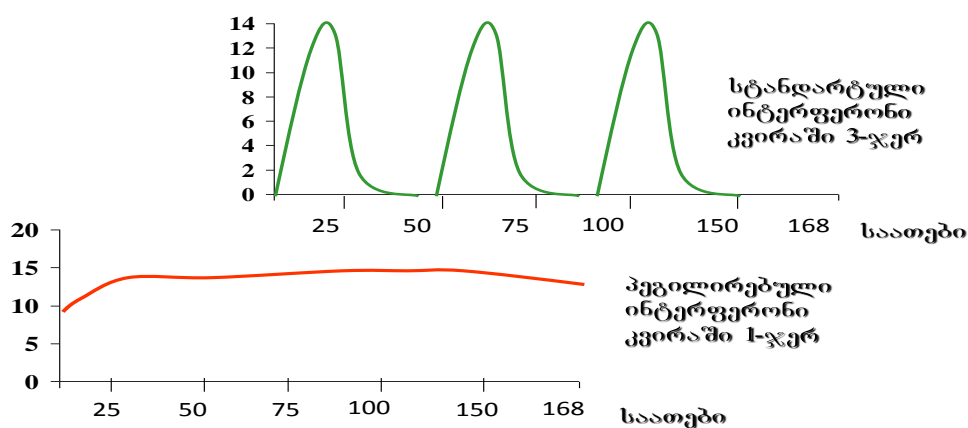
თავდაპირველად C ჰეპატიტის სამკურნალოდ გამოიყენებოდა სტანდარტული, არამოდულირებული ინტერფერონი, რომელსაც მკურნალობის შეზღუდული ეფექტურობა ქონდა, აღნიშნული განპირობებული იყო მისი ფარმაკოკინეტიკური თვისებებით: სწრაფი აბსორბციით, სწრაფი მეტაბოლიზმით და სწრაფი კლირენსით. (ნახევრადდაშლის პერიოდი 4-6 საათი). მკურნალობისას საჭირო იყო მისი ხშირი გამოყენება (კვირაში სამჯერ) (Poynard et al., 1996).

სტანდარტული ინტერფერონის გამოყენებისას აღინიშნებოდა შრატში მისი კონცენტრაციის მერყეობა, რაც ვირუსს საშუალებას აძლევდა ხელახლა გამრავ-

ლებულიყო. ამასთან, ინტერფერონის კონცენტრაციის პიკის დროს არის მისი გვერდითი ეფექტების გამოვლენა (გრიპისმაგვარი სიმპტომები), რაც ძალზე შემაწუხებელია ავადმყოფისთვის.

მკურნალობის ოპტიმალური შედეგის მისაღწევად ვირუსის რეპლიკაციის მუდმივი დათრგუნვაა საჭირო, რასაც უზრუნველყოფს პეგილირებული (მოდულირებული) ინტერფერონები, რომლებიც 2001 წელს გამოჩნდა (PegIntron – Peg-IFN α -2b და Pegasys–Peg-IFN α -2a)(Napoli et al., 2005).

(დიაგრამა №9-10) სტანდარტული (კონვენციური) და პეგილირებული ინტერფერონების ფარმაკოკინეტიკა.



წყარო: C პეპატიტის მკურნალობა (დ. შარვაძე) 2015 წ.

პეგილაცია გულისხმობს პოლიეთილენგლიკოლის (პეგ) ჯაჭვის დაკავშირებას სხვა მოლეკულასთან მისი აქტივობის მოდიფიკაციის, ფარმაკოკინეტიკური და ფარმაკოდინამიკური თვისებების გაუმჯობესების მიზნით. პეგილირებული (მოდულირებული) ინტერფერონის კლირენსი ორგანიზმიდან 100-ჯერ უფრო ნელია, სტანდარტულ ინტერფერონთან შედარებით. პლაზმაში ინტერფერონის მყარი კონცენტრაცია ინიექციიდან 168 საათის (1 კვირის) განმავლობაშია შენარჩუნებული. ყოველივე ეს საშუალებას იძლევა, პეგილირებული ინტერფერონის კვირაში ერთხელ გამოყენებისას მოხდეს ვირუსის რეპლიკაციის მუდმივი და მყარი დათრგუნვა ინიექციიდან მომდევნო ინიექციამდე (ერთი კვირის განმავლობაში).

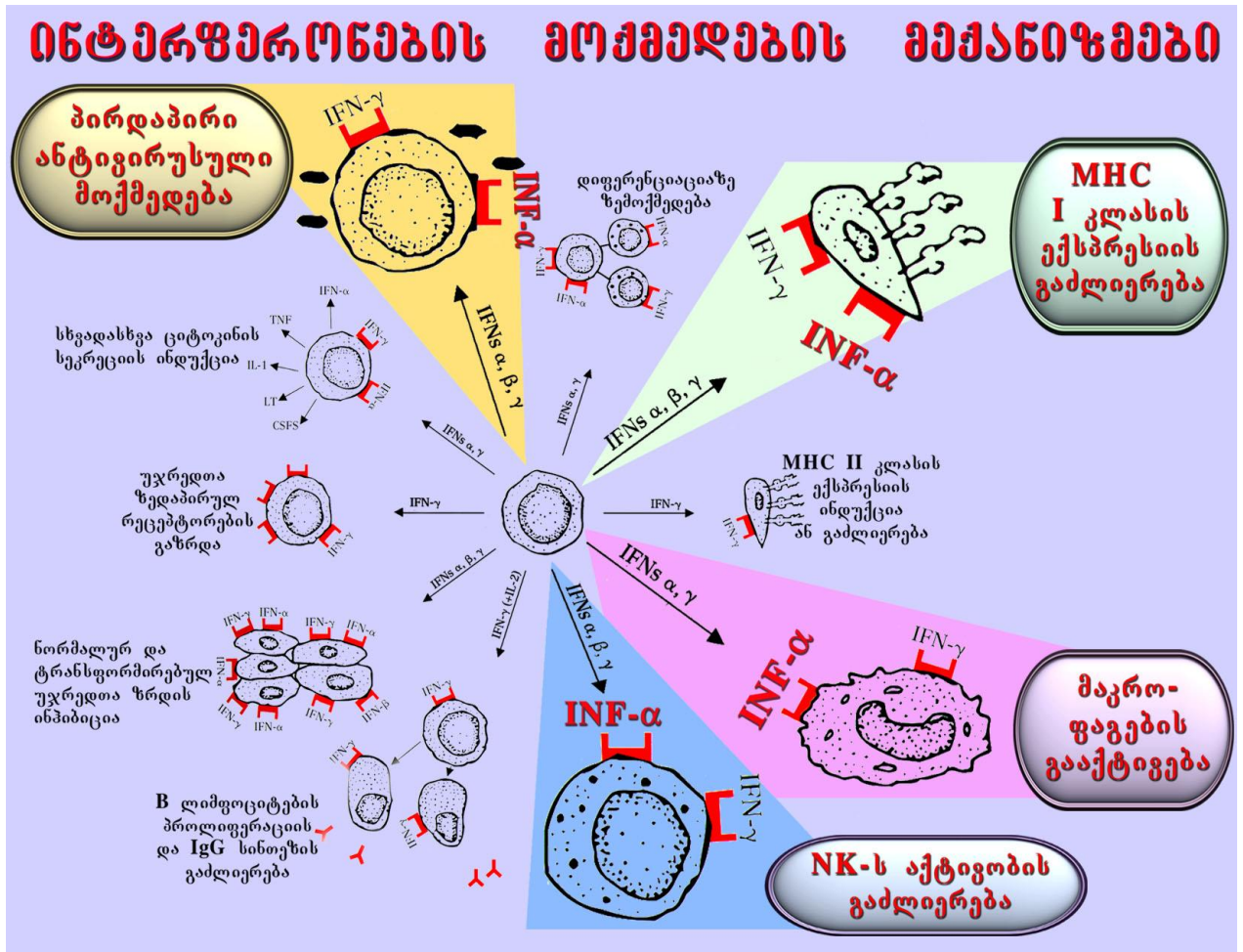
პეგილირებული ინტერფერონით მკურნალობისას გვერდითი ეფექტების სიხშირე სტანდარტულ ინტერფერონთან შედარებით ნაკლებია, შრატში მისი კონცენტრაციის მერყეობის შემცირების გამო. თუმცა მისი უკუზღვენებები (დეკომპენსირებული ციროზი, ავტოიმუნური დაავადებები და სხვ.) და გვერდითი ეფექტების მართვა მნიშვნელოვან პრობლემად რჩება.

2002 წლიდან ბოლო პერიოდამდე, კერძოდ DAA პრეპარატების გამოჩენამდე, HCV ინფექციის ყველაზე ეფექტურ მკურნალობად პეგილირებული ინტერფერონის და რიბავირინის კომბინაცია ითვლებოდა (სურ. №12) (Chemello et al., 1995; Manns et al., 2001).

ინტერფერონი არის ანტივირუსული, იმუნომოდულაციური, ანთების საწინააღმდეგო მოქმედების აქტიური ნივთიერება. ის ბოჭავს ჰეპატოციტის მემბრანაზე არსებულ სპეციფიკურ რეცეპტორს, რასაც მოყვება უჯრედშიგა პროცესების მთელი კასკადი: ფერმენტების გააქტიურება, უჯრედის პროლიფერაციის სუპრესია, მაკროფიბის ფაგოციტური აქტივობის გაზრდა, ციტოტოქსიური უჯრედების გააქტიურება, ვირუსით ინფიცირებულ უჯრედში ვირუსის რეპლიკაციის დათრგუნვა, ნატურალური კილერების აქტივაცია, MHC I და MHC II კლასის ანტიგენების ექსპრესიის გაზრდა და სხვ.(სურათი №14).

რიბავირინი ნუკლეოზიდის, გუანოზინის ანალოგია. HCV ინფექციის სამკურნალოდ გამოიყენება ინტერფერონთან კომბინაციაში და აძლიერებს მის ანტივირუსულ ეფექტს, მოქმედებს სინერგიულად. მისი მოქმედების მექანიზმი ბოლომდე არ არის გარკვეული, თუმცა ცნობილია, რომ იგი ახდენს: გუანოზინის სინთეზის ბლოკირებას, ვირუსის ნუკლეინის მუცავების ინჰიბირებას, ტრანსკრიპციის პროცესის დარღვევას და ვირუსის პოლიმერაზას პირდაპირ ინჰიბირებას (Neumann et al., 1998).

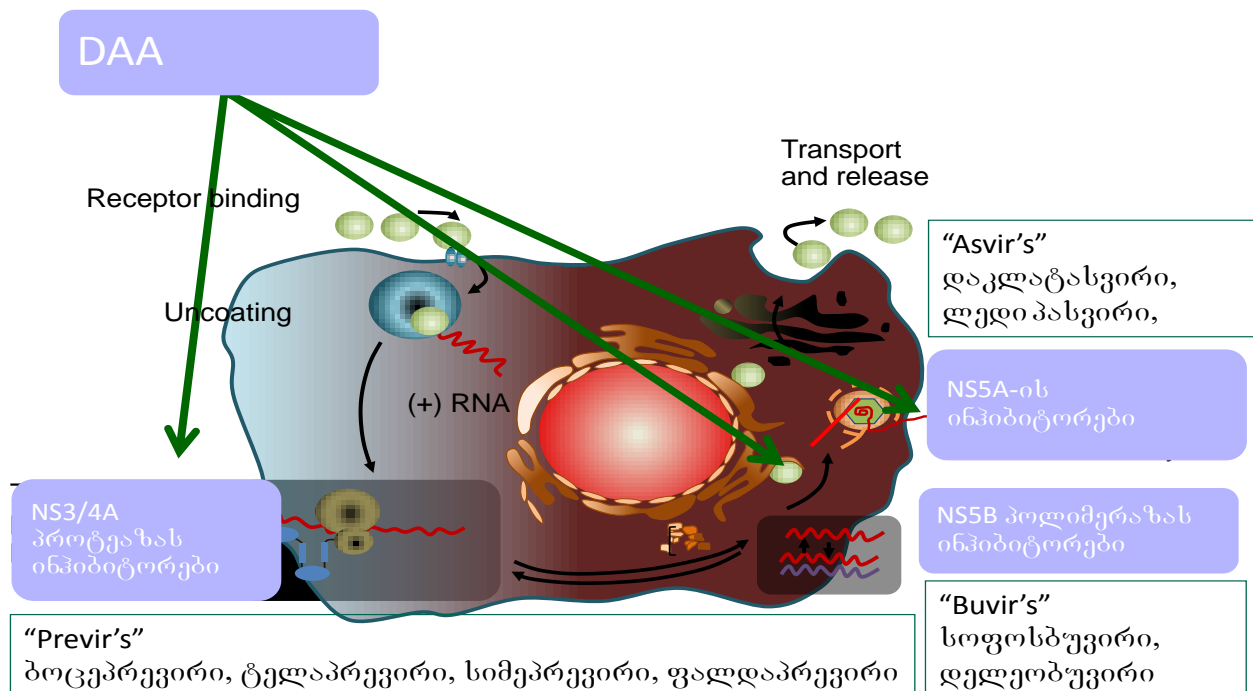
(სურ. №5)



წყარო: C ჰეპატიტის მართვა(გაილდანი) 2006წ.

2011 წლიდან გამოჩნდა I გენერაციის პირდაპირი ანტივირუსული მოქმედების პრეპარატები(ბოცეპრევირი, ტელაპრევირი). ეს არის ახალი ტიპის ანტივირუსული მოქმედების მედიკამენტები, რომლებიც C ჰეპატიტის ვირუსზე მოქმედებენ პირდაპირ, იწვევენ რა ვირუსის რეპლიკაციის ციკლში მონაწილე ამათუ იმ ფერმენტისა თუ მნიშვნელოვანი ცილების ბლოკირებას (ინჰიბირებას). აღნიშნული პრეპარატები მოწოდებულია პირველი გენოტიპით ინფიცირებული პაციენტების სამკურნალოდ და ინიშნება პეგილირებულ ინტერფერონთან და რიბავირინთან ერთად(სამმაგი თერაპია) (Welsch, Jesudian, Zeuzem, & Jacobson, 2012).

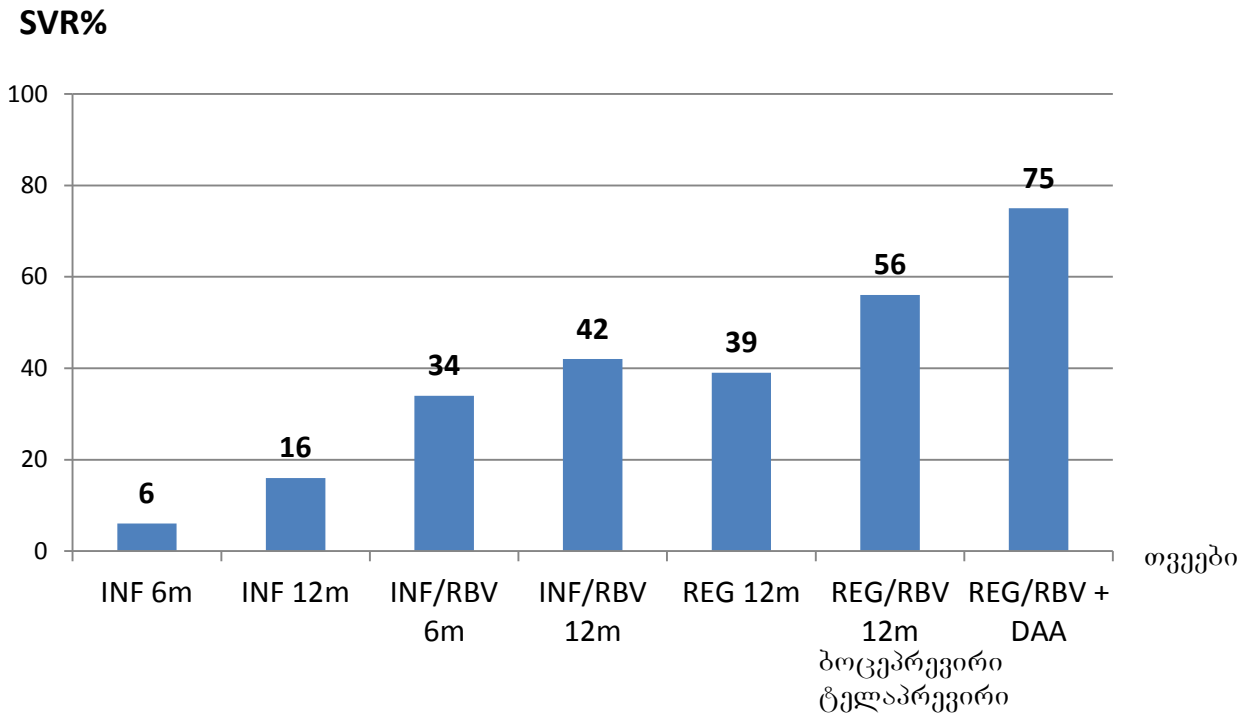
(სურ. №6) HCV სასიცოცხლო ციკლი და DAA-ს სამიზნე.



წყარო: Manns MP, et al. 2007.

სამშაგმა თერაპიამ მნიშვნელოვნად, 75%-მდე გაზარდა პირველი გენოტიპით ავადმყოფებში SVR-ის პროცენტი, თუმცა აქვს მთელი რიგი ნაკლოვანებები: გვერდითი ეფექტების სიმრავლე, მკურნალობის ხანგრძლივობა, მაღალი ფასი და სხვ.

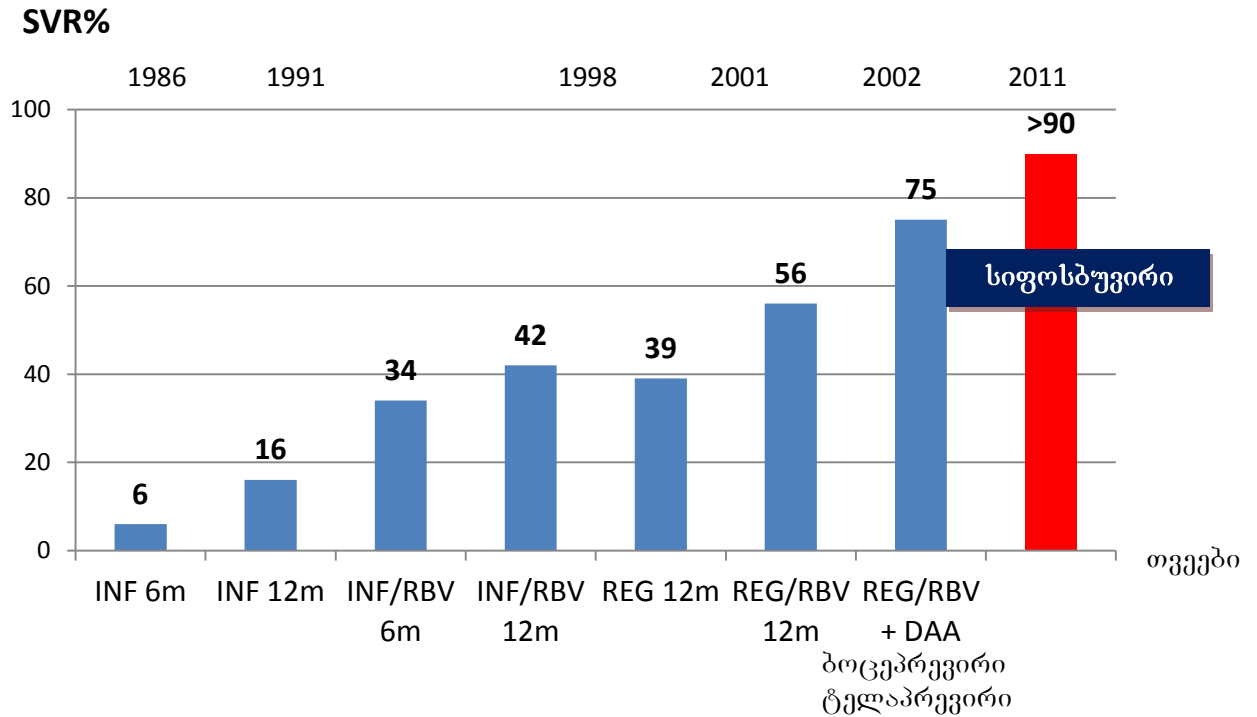
(დიაგრამა №11) HCV ინფექციის მკურნალობის ეტაპები (1986-2011).



წყარო: C ჰეპატიტის მკურნალობა (ლ. შარვაძე) 2015წ.

2013 წელს კლინიკურ პრაქტიკაში გამოსაყენებლად დამტკიცდა II გენერაციის პირდაპირი ანტივირუსული მოქმედების მედიკამენტები (სიმეპრევირი, სოფოსბუვირი). სიმეპრევირი/Olysis NS3/4A პროტეაზას ინჰიბიტორია. განკურნების ეფექტურობით ის ჩამორჩება სოფოსბუვირს. სოფოსბუვირი/Sovaldi არის NS5B პოლიმერაზას ინჰიბიტორი. ის ინტეგრირდება HCV-ს რნმ-ში და ახდენს მისი რეპლიკაციის ბლოკირებას. სოფოსბუვირმა მოახდინა ერთგვარი რევოლუცია C ჰეპატიტის მკურნალობაში, მას ე.წ. “თამაშის წესების შემცვლელი” უწოდეს, რადგან ამ პრეპარატმა ჩაუყარა საფუძველი ინტერფერონისაგან თავისუფალ (interferon-free) თერაპიას და “დრამატულად” გაზარდა მკურნალობის ეფექტურობა (>90%) (Lam, Jeffers, Younoszai, Fazel, & Younossi, 2015; Zeuzem et al., 2014).

(დიაგრამა №12) HCV ინფექციის მკურნალობის ეტაპები (1986-2013).

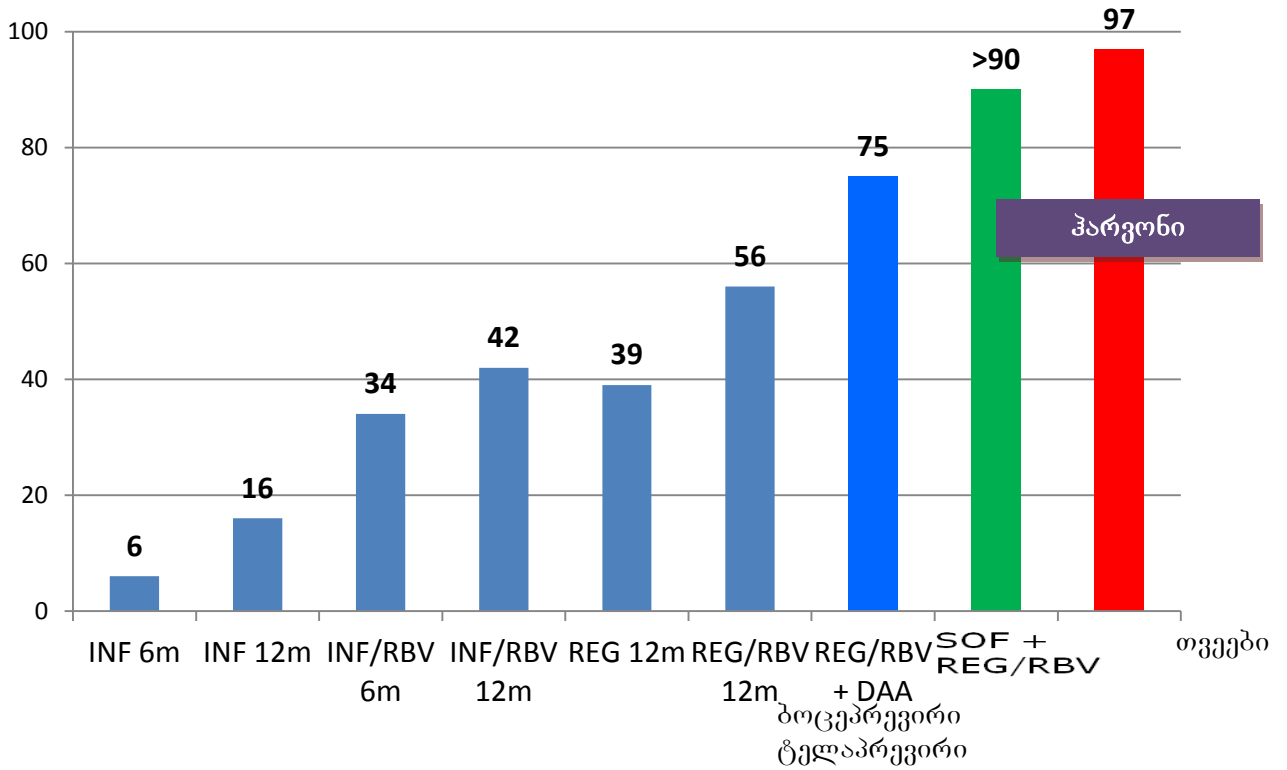


წყარო: C ჰეპატიტის მკურნალობა (დ. შარვაძე) 2015წ.

2014 წელს დამტკიცდა II გენერაციის DAA პრეპარატი დაკლატასვირი/Daclinza, რომელიც NS5A-ს ინჰიბიტორია. ამავე წელს დამტკიცდა ურიბავირინო რეჟიმი ლედიპასვირი+სოფოსბუვირი/Harvoni. ლედიპასვირი წარმოადგენს NS5A-ს ინჰიბიტორს. სოფოსბუვირთან ერთად, რომელსაც გააჩნია პან-გენეტიკური აქტივობა (მოქმედებს ყველა გენოტიპზე) 100%-მდე იზრდება ჰარვონის განკურნების ეფექტი. ასევე მნიშვნელოვანია აღინიშნოს, რომ ჰარვონი ეფექტური და უსაფრთხოა შორსწასული ჰეპატიტის დროს და გამოიყენება სოფოსბუვირით წარუმატებლად ნამკურნალებ პაციენტებშიც (Relapsis) (Wyles et al., 2015; Younossi et al., 2015).

(დიაგრამა №13) HCV ინფექციის მკურნალობის ეტაპები (1986-2014).

SVR%



წყარო: C ჰეპატიტის მკურნალობა (დ. შარვაძე) 2015წ.

DAA-ს ჯგუფები:

1. NS3/4A – პროტეაზას (სერინ) ინჰიბიტორები ე.წ. "Previrს" (ბოცეპრევირი, ტელაპრევირი, სიმეპრევირი, პარიტაპრევირი, ასუნაპრევირი, გრაზოპრევირი).
2. NS5A-ს ინჰიბიტორები ე.წ. "Asvirს" (დაკლათასვირი, ლედიპასვირი, ომბიტასვირი, ველპატასვირი, ელბასვირი).
3. NS5B – პოლიმერაზას ინჰიბიტორები (2 ჯგუფი):
 - ნუკლეოზიდის ანალოგები ე.წ. "Buvirs" (სოფოსბუვირი, მერიციტაბინი).
 - არანუკლეოზიდის ანალოგები ე.წ. "Buvirs" (დასაბუვირი, ბეკლაბუვირი, ABT-072).
4. ციკლოფილინის ინჰიბიტორები (ალისპორივირი, SCY-465).

კლინიკურ პრაქტიკაში HCV ინფექციის სამკურნალოდ დამტკიცებული მედიკამენტებია:

- პეგილირებული ინტერფერონი 2 ა (Pegasys).
- პეგილირებული ინტერფერონი 2 ბ (PegIntron).
- რიბავირინი (Copegus, Rebetol).
- ბოცეპრევირი (VICTRELIS).
- ტელაპრევირი (Incivek, Incivo).
- სიმეპრევირი (Olysio).
- სოფოსბუვირი (Sovaldi).
- დაკლატასვირი (Daklinza).
- დასაბუვირი (Exviera).
- სოფოსბუვირი/ლედიპასვირი (Harvoni).
- ომბიტასვირი/პარიტაპრევირი/რიტონავირი+დასაბუვირი (Viekira PaK).
- ომბიტასვირი/პარიტაპრევირი/რიტონავირი (Viekirax).

HCV ინფექციის ანტივირუსული მკურნალობის რეჟიმები (AASLD, EASL, 2015):

1. ინტერფერონის შემცველი რეჟიმები.
 - PEG/RBV+SOF
 - PEG/RBV+SMV
2. ინტერფერონისაგან თავისუფალი რეჟიმები.
 - SOF/LDP (Harvoni)
 - SOF/LDP + RBV
 - SOF+RBV
 - SOF+SMV
 - SOF+SMV+RBV
 - SOF+DCV
 - SOF+DCV + RBV
 - VIEKIRA PAK
 - VIEKIRA PAK +RBV

ყოველივე ზემოთ თქმულიდან ჩანს, რომ ბოლო პერიოდში HCV ინფექციის მკურნალობაში მიღწეულმა შედეგებმა თითქმის 100%-ით განკურნებადი გახადა დაავადება. აღნიშნული პრეპარატები მაღალეფექტური და უსაფრთხოა. სამკურნალოდ დამტკიცებული რეჟიმების მრავალფეროვნება კი იძლევა იმის საშუალებას, რომ ანტივირუსულ მკურნალობაში ჩაერთონ პაციენტები გართულებული და შორსწასული ჰეპატიტებით (Charlton et al., 2015; Wyles, et al., 2015). ძირითად პრობლემად რჩება მედიკამენტების უკიდურესი სიძვირე. მსოფლიოს მასშტაბით მხოლოდ ერთეული, მაღალგანვითარებული ქვეყნები ახერხებენ უმკურნალონ თავიანთ მოსახლეობას.

C ჰეპატიტის მკურნალობა საქართველოში

2015 წელის აპრილში, საქართველოს მთავრობის, ჯანმრთელობის სამინისტროს და ამერიკის დაავადებათა კონტროლის ეროვნული ცენტრის(CDC) ხელშეწყობით კომპანია “გილეად“-თან ხელი მოეწერა მემორანდუმს. საქართველოში დაიწყო C ჰეპატიტის ელიმინაციის(HCV ინფექციის ინციდენტობის ნულამდე შემცირება) უპრეცედენტო სახელმწიფო პროგრამა (CTOP C). ამ პროგრამის ფარგლებში, მოხდება დაავადების ფართომასშტაბიანი გამოვლენა, ჩატარდება მისი გავრცელების პრევენციული ღონისძიებები და საქართველოს ყველა მოქალაქე, რომელსაც ესაჭიროება C ჰეპატიტზე მკურნალობა, მიიღებს უმაღლესი სტანდარტის უფასო ანტივირუსულ მკურნალობას. შედეგად, საქართველო შეიძლება გახდეს პირველი სამოდერნო ქვეყანა, სადაც 2020 წლისათვის მოხდება C ჰეპატიტის ელიმინაცია (Mitruka et al., 2015).

კვლევის ობიექტი და მეთოდები

შრომაში აღწერილი კვლევები ჩატარდა ს.ს. ინფექციური პათოლოგიის შიდსის და კლინიკური იმუნოლოგიის სამეცნიერო პრაქტიკული ცენტრისა და ქართულ-ფრანგული ჰეპატოლოგიური კლინიკა “ჰეპა“-ს ბაზაზე.

კვლევა 1:

ახალი/მწვავე HCV ინფექციის გამოვლენა და ავადმყოფთა კლინიკური, იმუნოლოგიური, ვირუსოლოგიური და მოლეკულურ-გენეტიკური მახვენებლების შესწავლა C ჰეპატიტის ვირუსით ინფიცირების პირველივე დღეებიდან, ჯერ კიდევ სეროკონვერსიამდე.

კვლევის დიზაინი და კვლევაში ჩართულ პირთა მახასიათებლები:

აღნიშნული პროსპექტული კვლევა მიმდინარეობდა 3 წელი (2007-2010) და მონაწილეობდა 20-დან 57 წლამდე ასაკის 11200 პირი (7600 სერონეგატიური სისხლის დონორი და 3600 სერონეგატიური IDUs-ნარკოტიკების ინექციური გზით მომხმარებელი), რომელთა საშუალო ასაკი შეადგენდა 31 წელს. უმეტესობა იყო მამაკაცი 7952 (71%), ქალი მონაწილეობდა 3248 (29%).

კვლევაში ჩართვის მთავარი კრიტერიუმი იყო, C ჰეპატიტის მიმართ ანტისხეულების არ არსებობა. კვლევის მიზანს წარმოადგენდა დონორებში და ნარკოტიკების ინტრავენურად მომხმარებლებში HCV რნმ-ის გამოვლენა ჯერ კიდევ სეროკონვერსიამდე, რაც იძლეოდა სერონეგატიურ, ფანჯარა პერიოდში ახალი/მწვავე ინფექციის გამოვლენის და მასზე დაკვირვების უნიკალურ შანსს.

ახალ/მწვავე ინფექციად მიჩნეულია ინფიცირების პერიოდი, როდესაც შრატში/პლაზმაში ანტისხეულები ჯერ არ ისახდვრება, ხოლო ვირუსის რნმ-ი უკვე განსაზღვრადია.

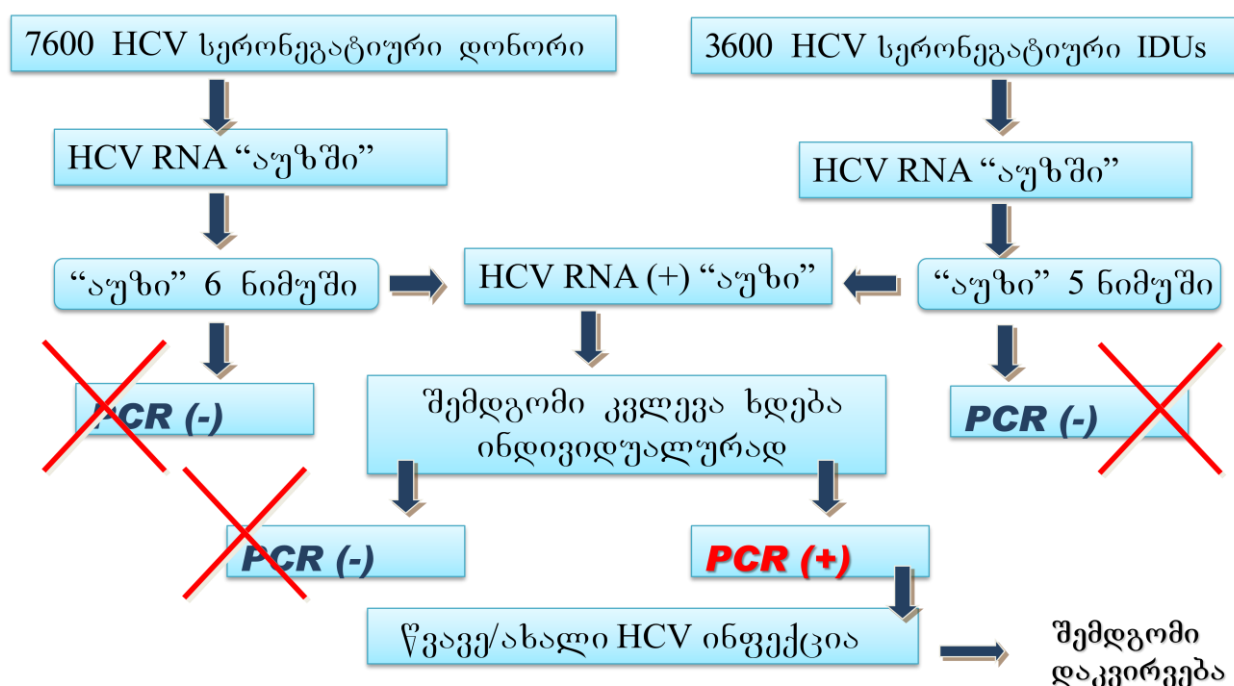
სისხლის დონორებს C ცეპატიტის ანტისხეულებზე კვლევა ჩატარდათ სისხლის ბანკებში, ხოლო IDUs-ებს შესაბამის საკონსულტაციო ცენტრებში.

ჩვენს მიერ გამოყენებული იქნა აღნიშნული სერონეგატიული პირების HCV რნმ-ზე 5 და 6 კაციანი მინი “ავხით”(pool) კვლევა. ყოველი HCV რნმ-ზე უარყოფითი “ავხი” ამოვიღეთ კვლევიდან. დადებით შედეგიან “ავხს” გაუგრძელდა შემდგომი კვლევა და “ავხის” თითოეულ წევრს ინდივიდუალურად გაუკეთდა HCV

რნმ-ზე გამოკვლევა. ყველა HCV რნმ უარყოფითი ამოვიღეთ კვლევიდან, ხოლო HCV რნმ დადებითი პირები, რომლებიც გამოვლინდნენ ამ გზით არიან მწვავე/ახალი ინფექციის მატარებლები და სწორედ მათზე შემდგომი დაკვირვებით მოხდა ინფიცირების ბუნებრივი მიმდინარეობის შესწავლა.

(სურ. №7).

კვლევის დიზაინი



ზემოაღნიშნული სქემის შედეგად გამოვლენილი HCV რნმ დადებით პირების გაისინჯვა მოხდა ექიმ-ინფექციონისტის მიერ, დამატებით ჩაუტარდათ პლაზმაში HCV რნმ-ის რაოდენობრივი კვლევა, HCV გენოტიპირება და სუბტიპირება და შრატის ბიოქიმიური გამოკვლევა.

კერძოდ, გამოვლენილ პაციენტებზე 6 თვის განმავლობაში მოხდა დაკვირვება. რაც თავის მხრივ მოიცავდა: მე-2, მე-4, მე-8, მე-12 და 24-ე კვირებზე C ჰეპატიტის ანტისხეულებზე გამოკვლევას, HCV ვირუსული დატვირთვის განსაზღვრას, ბიოქიმიური მაჩვენებლების მონიტორინგს და ექიმთან ვიზიტს.

რადგან ყველა HCV ინფიცირებული პირი ასევე არის HIV და HBV ინფექციებზე ინფიცირების მაღალი რისკის ჯგუფში, ჩვენს მიერ გამოვლენილ

მწვავე/ახალი C ჰეპატიტით ინფიცირებულ პირებსაც დამატებით ჩაუტარდათ HBV და HIV ინფექციებზე გამოკვლევა. აგრეთვე, ყოველ მათგანს, დემოგრაფიული და ეპიდემიოლოგიური ინფორმაციის მიღების მიზნით ჩაუტარდათ ინტერვიუ.

Anti HCV-ზე სკრინინგისათვის ვიყენებდით მე-3 გენერაციის Ortho HCV version 3.0 ELISA (Gohnson-Gohnson, USA) ტესტ-ნაკრებს.

HbsAg-ზე სკრინინგისათვის ვიყენებდით HBsAg Ultra ELISA (Dia.Pro, Italy) ტესტ-ნაკრებს.

Anti HIV1/2-ზე სკრინინგისათვის ვიყენებდით Vironostika HIV1/2 ab ELISA (Biomerieux, France) ტესტ-ნაკრებს.

HCV რნმ-ის თვისობრივი განსაზღვრისათვის ვიყენებდით COBAS® Amplicor® HCV Test v2.0 (Roche Diagnostics, Germany).

HCV რნმ-ის რაოდენობრივი განსაზღვრისათვის ვიყენებდით COBAS® TaqMan® HCV Test v2.0, With The High Pure System (Roche Diagnostics, Germany).

HCV გენოტიპირებისა და სუბტიპირებისათვის ვიყენებდით Versant HCV Genotype 2.0 (LIPA) (Innogenetics, Belgium).

კვლევა 2:

მწვავე, სიმპტომური HCV ინფექციის გამოვლენა და მისი მიმდინარეობის შესწავლა C ჰეპატიტის მაღალი სარისკო ქცევის აივ ინფიცირებულებში. IL28B-ს, როგორც მასპინძლის ფაქტორის როლის შესწავლა HCV ვირუსისაგან სპონტანურ გამოჯამრთელებაში HIV/HCV კო-ინფექციით პაციენტებში და მიღებული შედეგების შედარება HCV მონონიფიცირებულ პაციენტებთან.

კვლევის დიზაინი და კვლევაში ჩართულ პირთა მახასიათებლები:

აღნიშნული პროსპექტული კვლევა მიმდინარეობდა 3 წელი (2011-2013). ამ კვლევაში მონაწილეობა მიიღეს იმ აივ ინფიცირებულმა პირებმა, რომლებსაც ქონდათ უარყოფითი ჰეპატიტის სეროლოგიური მარკერები და იყვნენ HCV ინფექციის მაღალი რისკის ქვეშ: 322 IDUs და 129 MSM (მამაკაცი ვისაც ჰქონდა სექსი მამაკაცთან).

კვლევაში ჩართვის მთავარი კრიტერიუმი იყო, აივ-ით ინფიცირების დადასტურებული დიაგნოზი, HCV ინფექციის მაღალი სარისკო ქცევა, C ჰეპატიტის მიმართ ანტისხეულების არ არსებობა და ჰეპატიტის ნიშნების რაიმე სახით

კლინიკური გამოვლინება(სიყვითლე, მომატებული ტრანსამინაზები, ჰეპატომეგალია და სხვ). ასეთ პირებს ჩაუტარდათ HCV რნმ-ზე რეალური დროის თვისობრივი პჯრ დიაგნოსტიკა. იმ პირებს, რომელთაც აღმოაჩნდათ დადებითი HCV რნმ-ი, დაუდგინდათ მწვავე HCV ინფექცია.

კვლევის დიზაინის თანახმად, გამოვლენილ მწვავე HCV ინფექციით პირებს, ჩაუტარდათ HCV გენოტიპირება და სუბტიპირება რევერს-ჰიბრიდიზაციის მეთოდით, აგრეთვე IL28b გენოტიპირება rs12979860 უბანში ერთეული ნუკლეოტიდების პოლიმორფიზმის დასადგენად.

კვლევის მთელი მიმდინარეობის პერიოდში, გამოვლენილ მწვავე C ჰეპატიტიან პირებს HCV ვირუსის მონიტორინგისათვის ყოველთვიურად უტარდებოდათ HCV რნმ-ზე რეალური დროის რაოდენობრივი პჯრ კვლევა. პაციენტებზე დაკვირვებისათვის და ვირუსის მონიტორინგისათვის განისაზღვრა ცხრა თვიანი პერიოდი.

რადგან ყველა HCV/HIV ინფიცირებული პირი ასევე არის HBV ინფექციებზე ინფიცირების მაღალი რისკის ჯგუფში, ჩვენს მიერ გამოვლენილ მწვავე C ჰეპატიტით ინფიცირებულ პირებსაც დამატებით ჩაუტარდათ HBV ინფექციებზე გამოკვლევა. აგრეთვე, ყოველ მათგანს, დემოგრაფიული და ეპიდემიოლოგიური ინფორმაციის მიღების მიზნით ჩაუტარდათ ინტერვიუ.

Anti HCV-ზე სკრინინგისათვის ვიყენებდით მე-3 გენერაციის Ortho HCV version 3.0 ELISA (Gohnson-Gohnson, USA) ტესტ-ნაკრებს.

HbsAg-ზე სკრინინგისათვის ვიყენებდით HBsAg Ultra ELISA (Dia.Pro, Italy) ტესტ-ნაკრებს.

HCV რნმ-ის თვისობრივი განსაზღვრისათვის ვიყენებდით HCV Real-TM Qual Test (Sacace Biotechnologies, Italy).

HCV რნმ-ის რაოდენობრივი განსაზღვრისათვის ვიყენებდით COBAS® TaqMan® HCV Test v2.0, With The High Pure System (Roche Diagnostics, Germany).

HCV გენოტიპირებისა და სუბტიპირებისათვის ვიყენებდით Versant HCV Genotype2.0 (LIPA) (Innogenetics, Belgium).

IL28b-ს განსაზღვრისათვის ვიყენებდით IL28b rs12979860 Real-TM Test (Sacace Biotechnologies, Italy).

კვლევა 3:

ოკულტური C ჰეპატიტის შემთხვევების გამოვლენა აივ ინფიცირებულ პირებში, როგორც HCV ინფექციის მაღალი რისკის ჯგუფში და ასეთების არსებობის შემთხვევაში, მათი მოლეკულურ-გენეტიკური მახვენებლებისა და ფიბროზის ხარისხის შესწავლა.

კვლევის დიზაინი და კვლევაში ჩართულ პირთა მახასიათებლები:

აღნიშნული კვლევა მიმდინარეობდა 2011-2013 წლებში. კვლევაში ჩართვის მთავარი კრიტერიუმი იყო, აივ-ით ინფიცირების დადასტურებული დიაგნოზი, C ჰეპატიტის მიმართ ანტისხეულების არ არსებობა და შრატსა და პლაზმაში უარყოფითი HCV რნმ-ი.

ლიტერატურაში აღწერილია ოკულტური C ჰეპატიტის შემთხვევების გამოვლენა მოსახლეობის სხვადასხვა ჯგუფებში. როგორც მაღალი რისკის ჯგუფებში, როგორებიცაა გაურკვეველი ეტიოლოგიის ქრონიკული ჰეპატიტით პაციენტები, ჰემოდიალიზზე მყოფი პირები და სხვა, ასევე ჯანმრთელ პოპულაციაში, რომელთაც არ აღენიშნებათ ჰეპატიტის არანაირი ნიშნები (Barril et al., 2008; Carreno, Bartolome, Castillo, & Quiroga, 2012). აივ ინფიცირებულ პირებში ოკულტური HCV ინფექციის შესახებ ინფორმაცია ფაქტიურად არ მოიპოვება. ამიტომ ჩვენი კვლევის მიზანს წარმოადგენდა, საქართველოში, აივ ინფიცირებულებში, როგორც C ჰეპატიტის მიმართ მაღალი რისკის ჯგუფში ოკულტური C ჰეპატიტის გამოვლენა და შესწავლა.

ოკულტურ C ჰეპატიტად (OCI) მიხნეულია შედარებით ახლახანს გამოვლენილი პათოლოგია, რომელიც ხასიათდება შრატში ან პლაზმაში HCV რნმ-ის არ არსებობით, მაშინ როდესაც ის განსაზღვრადია პერიფერიული სისხლის მონონუკლეარებში (PBMS) ან ღვიძლის ქსოვილში (Castillo et al., 2004; Welker & Zeuzem, 2009). ჩვენს კვლევაში ანალიზისათვის შევარჩიეთ პაციენტების სამი ჯგუფი, ჯამში 51 ± 12 ასაკის 161 აივ ინფიცირებული პირი:

ჯგუფი 1 – აივ-ით ინფიცირებული პაციენტები ღვიძლის დაავადებების გარეშე ($n = 98$),

ჯგუფი 2 – უცნობი ეტიოლოგიის ღვიძლის დაავადებების მქონე აივ ინფიცირებული პირები ($n = 34$),

ჯგუფი 3 – HIV/HBV კო-ინფიცირებული პაციენტები ($n = 29$).

ცხრილი №2. კვლევაში ჩართული აივ ინფიცირებული პაციენტების ბაზისური მონაცემები (n = 161).

კატეგორია	მონაცემი
პაც. რაოდენობა (ჯამი)	161
ღვიძლის დაავადების გარეშე (ჯგუფი 1)	98
კრიპტოგენული ღვიძლის დაავადებით (ჯგუფი 2)	34
HIV/IBV კო-ინფიცირებულები (ჯგუფი 3)	29
სქესი, მამაკაცი/ქალი	103/58
ასაკი, საშუალო, წელი	51 ± 12
BMI, საშუალო	26.6 ± 4
ღვიძლის დაზიანების ხარისხი, საშუალო (kPa)	(8.8 ± 0.7)

OCI-ის გამოსავლენად საუკეთესო მასალაა ღვიძლის ქსოვილი. ღვიძლის ბიოფსიის ხელმიუწვდომლობის გათვალისწინებით, კვლევაში ჩართულ ყველა სუბიექტს OCI-ის გამოსავლენად, HCV რმნ-ზე კვლევა პერიფერიული სისხლის მონონუკლეარებში რეალური დროის პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციის მეთოდით ჩაუტარდთ. აღნიშნული კვლევა წარმოადგენს ალტერნატიულ მეთოდს, ინფორმატიულია და უფრო ხელმისაწვდომია.

ლაბორატორიული კვლევების ხარისხის კონტროლის მიზნით, გარდა ტესტში არსებული დადებითი და უარყოფითი კონტროლებისა, პაციენტების ნიმუშებთან ერთად კვლევაში მუდმივად გამოიყენებოდა დადასტურებული HCV რმნ უარყოფითი ნიმუშები.

გამოვლენილ OCI პირებს, HCV გენეტიკური ტიპის გადანაწილების შესასწავლად, დამატებით ჩაუტარდათ HCV გენოტიპირება. ღვიძლის დაზიანების ხარისხის გამოსავლენად ჩაუტარდათ ღვიძლის ელასტოგრაფია, რომელსაც ბიოფსიასთან შედარებით აქვს შემდეგი უპირატესობები: არაინვაზიურია, ხელმისაწვდომია, სწრაფია და მისი სანდოობის ხარისხი აღიარებულია ევროპასა და ამერიკაში.

კვლევაში გამოყენებული მეთოდები:

Anti HCV–ზე სკრინინგისათვის ვიყენებდით მე-3 გენერაციის Ortho HCV version 3.0 ELISA(Gohnson-Gohnson, USA) ტესტ-ნაკრებს.

HBsAg–ზე სკრინინგისათვის ვიყენებდით HBsAg Ultra ELISA (Dia.Pro, Italy) ტესტ-ნაკრებს.

შრატსა და პლაზმაში HCV რნმ-ის რაოდენობრივი განსაზღვრისათვის ვიყენებდით COBAS® TaqMan® HCV Test v2.0, With The High Pure System (Roche Diagnostics, Germany).

PBMs-ში HCV რნმ-ის რაოდენობრივი განსაზღვრისათვის ვიყენებდით: ჰეპარინის სიმკვრივის გრადიენტულ ცენტრიფუგირებას. რნმ-ის გამოსაყოფად და პურიფიკაციისათვის – Rneasy Mini Kit(Qiagen, USA). გამოყოფილი რნმ-ის ამპლიფიკაციისა და დეტექციისათვის გამოიყენებოდა COBAS® TaqMan® HCV Test v2.0 (Roche Diagnostics, Germany) მწარმოებლის მცირედ შეცვლილი პროტოკოლით.

HCV გენოტიპირებისა და სუბტიპირებისათვის ვიყენებდით Versant HCV Genotype 2.0 (LIPA) (Innogenetics, Belgium).

ღვიზლის ფიბროზის ხარისხის განსაზღვრისათვის გამოიყენებოდა ფიბროსკანი (Echosens, France). თვითოეული პაციენტისათვის მედიანური მნიშვნელობა ისაზღვრებოდა კილოპასკალებში(kPa) და ფასდებოდა METAVIRE სისტემით.

კვლევა 4:

IP-10-ის, როგორც პროგნოზული მარკერის შესწავლა მწვავე და ქრონიკული HCV ინფექციით მონო და HIV/HCV კოინფექციით პირებში და შედეგების შედარება IL28B პროგნოზულ მარკერთან.

კვლევის დიზაინი და კვლევაში ჩართულ პირთა მახასიათებლები:

აღნიშნული კოჰორტული კვლევა ჩატარდა ს.ს. ინფექციური პათოლოგიის შიდსის და კლინიკური იმუნოლოგიის სამეცნიერო პრაქტიკული ცენტრისა და ქართულ-ფრანგული ჰეპატოლოგიური კლინიკა “ჰეპა“-ს ბაზაზე. კვლევაში გამოვიყენეთ აღნიშნულ კლინიკებში –70°C-ზე შენახული სისხლის ნიმუშები, რომლებზეც წინასწარ იყო მიღებული წერილობითი თანხმობა, მათი სამეცნიერო კვლევებისათვის გამოყენების შესახებ. დამატებით, კვლევისათვის გამოვიყენეთ იმ პაციენტების სისხლის ნიმუშები, რომელთაც მოაკითხეს ჩვენს კლინიკებს და

დაიწყეს ქრონიკული C ჰეპატიის მკურნალობა. ასევე, იმ პირთა ნიმუშები, ვისაც აღნიშნული პერიოდში დაუდგინდათ მწვავე HCV ინფექცია.

აივ ინფიცირებულებში, თანამედროვე ანტირეტროვირუსულმა მკურნალობამ (HAART) მკვეთრად შეამცირა ავადობა და სიკვდილიანობა (Panos et al., 2008; Quinn, 2008). თუმცა, HCV ინფექცია ჯერ კიდევ რჩება ამ პოპულაციაში სიკვდილობის მთავარ მიზეზად (Martin-Carbonero et al., 2001; Monga et al., 2001). როგორც ცნობილია, HCV მონონფიცირებულებთან შედარებით, HIV/HCV კო-ინფიცირებულებში C ჰეპატიის ანტივირუსული მკურნალობის გვერდითი ეფექტი მეტადაა გამოხატული, ხოლო განკურნების პროცენტი მნიშვნელოვნად შემცირებულია და შეადგენს 27-40%-ს (5,6,7), პირველ გენოტიპიანებში(G1) კი ის საერთოდ 14-29%-ია (Carrat et al., 2004; Chung et al., 2004; Torriani et al., 2004).

მკურნალობის მაღალი ღირებულების და ყოველივე ზემოაღნიშნულის გათვალისწინებით, მეტად მნიშვნელოვანია C ჰეპატიის მკურნალობის დაწყებამდე ან მკურნალობის საწყის ეტაპზე იმ სეროლოგიური მარკერების გამოვლენა რომლებიც კავშირშია განკურნების დაბალ გამოსავალთან. ამ გზით შეიძლება დავზოგოთ პაციენტი მკურნალობის არასასურველი გვერდითი ეფექტებისაგან და ფუჭად გაწეული ხარჯებისაგან.

ლიტერატურაში ცოტაა ცნობილი მასპინძლის ფაქტორებზე, რომლებიც ზრდის C ჰეპატიის ანტივირუსული მკურნალობის გამოსავალს. არსებობს გარკვეული მონაცემები HCV მონონფიცირებულებზე, სადაც შრატის IP-10 დონე არამოპასუხეებში (NR) უფრო მაღალია ვიდრე მოპასუხეებში სადაც მოხდა ვირუსისაგან ერადიკაცია (Diago et al., 2006; Lagging et al., 2006). აღნიშნული თითქმის არ არის შესწავლილი კო-ინფიცირებულებში და ახალი, მწვავე HCV ინფექციით პაციენტებში.

ზემოაღნიშნულის გათვალისწინებით, ჩვენს კვლევაში დაკვირვებისათვის გამოვიყენეთ ოთხი სამიზნე და ერთი საკონტროლო ჯგუფი:

1. ქრონიკული HCV-ით მონონფიცირებული პირები, რომლებიც იწყებენ ანტივირუსულ მკურნალობას(n=85).
2. მწვავე HCV -ით მონონფიცირებული პირები(n=11).
3. HIV/HCV კო-ინფიცირებულები, აივ დადასტურებული დიაგნოზით და ქრონიკული, აქტიური HCV ინფექციით რომლებიც იწყებენ C ჰეპატიტის საწინააღმდეგო ანტივირუსულ მკურნალობას (n=57).

4. HIV/HCV კო-ინფიცირებულები, აივ დადასტურებული დიაგნოზით და მწვავე HCV ინფექციით (n=7).

5. აივ-ით და ვირუსული ჰეპატიტებით არაინფიცირებული, ჯანმრთელი მოხალისეები (n=18).

აღნიშნული კვლევა მიმდინარეობდა 2 წელი (2014-2015). ამ კვლევაში მონაწილე ყველა პირს ჰქონდა კომპენსირებული ღვიძლის დაავადება და უარყოფითი HBsAg-ის ტესტის შედეგი.

კვლევის ყოველ მონაწილეზე მოხდა დემოგრაფიული და ეპიდემიოლოგიური ინფორმაციის მოძიება.

კვლევაში ჩართულ ყველა პირს ჩაუტარდა HCV გენოტიპირება და სუბტიპირება რევერს-ჰიბრიდიზაციის მეთოდით, აგრეთვე IL28b გენოტიპირება rs12979860 უბანში ერთეული ნუკლეოტიდების პოლიმორფიზმის დასადგენად. ღვიძლის ფიბროზის ხარისხის დასადგენად ჩაუტარდათ ფიბროსკანით კვლევა. HCV ვირუსული დატვირთვის, ტრანსამინაზების და შრატის IP-10-ის განსაზღვრა ხდებოდა მკურნალობის საწყის ეტაპზე, შემდგომ ყოველ ერთ თვეში და მკურნალობის დასრულებისას.

კვლევის დიზაინის თანახმად, 18 მოხალისე ჯანმრთელ პირს განესაზღვრა Ip-10-ის დონე, საკონტროლო ჯგუფის შედეგების დანარჩენებთან შესადარებლად.

კვლევაში გამოყენებული ინსტრუმენტული და ლაბორატორიული მეთოდები:

Anti HCV-ზე სკრინინგისათვის ვიყენებდით მე-3 გენერაციის Ortho HCV version 3.0 ELISA(Gohnson-Gohnson, USA) ტესტ-ნაკრებს.

HBsAg-ზე სკრინინგისათვის ვიყენებდით HBsAg Ultra ELISA (Dia.Pro, Italy) ტესტ-ნაკრებს.

HCV რნმ-ის რაოდენობრივი განსაზღვრისათვის ვიყენებდით COBAS® TaqMan® HCV Test v2.0, With The High Pure System (Roche Diagnostics, Germany).

HCV გენოტიპირებისა და სუბტიპირებისათვის ვიყენებდით Versant HCV Genotype2.0 (LIPA) (Innogenetics, Belgium).

IL28b-ს განსაზღვრისათვის ვიყენებდით IL28b rs12979860 Real-TM Test (Sacace Biotechnologies, Italy).

შრატში IP-10-ის დონის განსაზღვრისათვის ვიყენებდით Human IP-10 ELISA (Invitrogen, Camarilo CA) ტესტ-ნაკრები, REF-KAC2361.

ღვიძლის ფიბროზის ხარისხის განსაზღვრისათვის ვიყენებდით ფიბროსკანს (Echosens, France). თვითოეული პაციენტისათვის მედიანური მნიშვნელობა ისაზღვრებოდა კილოპასკალებში (kPa) და ფასდებოდა METAVIRE სისტემით.

ცხრილი №3. კვლევაში ჩართული პაციენტების ბაზისური მონაცემები (n = 178).

კატეგორია	მონაცემი
პაც. რაოდენობა (ჯამი)	178
ქრონიკული HCV მონონფიცირებულები (ჯგუფი 1)	85
მწვავე HCV მონონფიცირებულები (ჯგუფი 2)	11
HIV/HCV(ქრონიკ.) კო-ინფიცირებულები (ჯგუფი 3)	57
HIV/HCV(მწვავე) კო-ინფიცირებულები (ჯგუფი 4)	7
საკონტროლო-ჯანმრთელი (ჯგუფი 5)	18
სქესი, მამაკაცი/ქალი	129/49
ასაკი, საშუალო, წელი	38 ± 8
BMI, საშუალო	25.6 ± 4
ღვიძლის დაზიანების ხარისხი, საშუალო (kPa)	(8.8 ± 0.7)

კვლევებში გამოყენებული ლაბორატორიული მეთოდები

იმუნოფერმენტული ანალიზი (anti HCV, anti HIV1/2, HBsAg-იდენტიფიცირებისათვის)

საკვლევი მასალა:

შრატის, პლაზმა.

მასალის შეგროვება, დამუშავება:

კვლევის მონაწილისაგან ხდება 5 მლ ვენური სისხლის აღება 6 მლ-იან ვაკუუმ სინჯარაში(დანამატების გარეშე). სისხლის აღებიდან 4 საათის შუალედში,

ხდება შრატის გამოყოფა ოთახის ტემპერატურაზე, 1,500xგ-ზე 20წთ-ის განმავლობაში ცენტრიფუგირებით. გამოყოფილი შტარი გამოიყენება სეროლოგიური ტესტირებისათვის, ან ხდება მისი ალიკოტირება კრიოსინჯარებში და -80°C -ზე შენახვა.

იმუნოფერმენტული ანალიზის პრინციპი:

იმუნოფერმენტული ანალიზი დაფუძნებულია ე.წ. “სენდვიჩ” პრინციპზე. ანტისხეულის კვლევის შემთხვევაში (anti HCV, anti HIV1/2), სარეაქციო პლანშეტზე აბსორბირებულია სპეციფიური რეკომბინანტული ანტიგენები. იმ შემთხვევაში, თუ საკვლევი ნიმუში შეიცავს ვირუსის საწინააღმდეგო სპეციფიურ ანტისხეულებს, ხდება ანტიგენ-ანტისხეულის კომპლექსის(მყარი ფაზა) წარმოქმნა. თუ ვიკვლევთ ანტიგენს(HBsAg) პირიქით, პლანშეტზე აბსორბირებულია ვირუს სპეციფიური მონოკლონური ანტისხეულები და საკვლევი ანტიგენის შრატში არსებობის შემთხვევაში წარმოიქმნება ზემოთ ხსენებული მყარი ფაზა. იმუნოფერმენტული მეთოდი კოლორიმეტრულია, შესაბამისად ანალიზის დასრულებისას ფერის წარმოქმნა, მიუთითებს საკვლევი ნიმუშის დადებით შედეგზე ამა თუ იმ გამომწვევის მიმართ.

გამოკვლევის სარეაქციო ეტაპები:

- კონტროლებისა და ნიმუშების გადატანა პლანშეტზე.
- ინკუბაცია-დრო და ტემპერატურა ინსტრუქციის მიხედვით.
- გარეცხვა 3 ჯერ, ყოველ მომდევნო ეტაპზე გადასვლის წინ.
- სპეციფიური კონიუგატის დამატება.
- შეუბოჭავი კონიუგატის მოშორების შემდეგ სუბსტრატის დამატებით ანტიგენ/ანტისხეულის კომპლექსის გამოვლენა.
- რეაქციის გაჩერება გოგირდმუავას დამატებით.
- ოპტიკური სიმკვრივის გაზომვა სპექტროფოტომეტრის შესაბამის ტალღის სიგრძეზე და შედეგების ინტერპრეტაცია.

საკვლევი ანტიგენის და/ან ანტისხეულის არსებობის განსაზღვრის შესაძლებლობას აბსორბციის გაზომვა იძლევა. შეფერილობის ინტენსივობა მყარ ფაზაზე შებოჭილი ანტიგენის და/ან ანტისხეულის რაოდენობის პროპორციულია.

ლაბორატორიული კვლევის მოლეკულური მეთოდები

ჩვენს კვლევაში გამოყენებული ყველა მოლეკულური მეთოდისათვის (HCV თვისობრივი და რაოდენობრივი განსაზღვრა, HCV გენოტიპირება, IL28B გენოტიპირება) საჭიროა ვირუსული რნმ-ის გამოყოფა(ექსტრაქცია).

ვირუსული რნმ-ის ექსტრაქცია:

საკვლევი მასალა: შრატ/პლაზმა.

მასალის შეგროვება, დამუშავება:

კვლევის მონაწილისაგან ხდება 5 მლ ვენური სისხლის აღება 6 მლ-იან EDTA-ს შემცველ ვაკუუმ სინჯარაში. სისხლის აღებიდან 4 საათის შუალედში, ხდება პლაზმის გამოყოფა ოთახის ტემპერატურაზე, 1500xg-ზე 20 წთ-ის განმავლობაში ცენტრიფუგირებით. გამოყოფილი პლაზმა გამოიყენება ვირუსული რნმ-ის გამოსაყოფად, პლაზმა ინახება 2-8⁰C-ზე 3 დღის განმავლობაში, ხანგრძლივი შენახვის მიზნით ხდება მისი ალიკოტირება კრიოსინჯარებში და -80⁰C-ზე შენახვა.

ჩვენს კვლევებში გამოვიყენეთ HCV რნმ-ის გამოყოფის ორი მეთოდი: მანუალური და ავტომატური.

1) ვირუსული რნმ-ის ექსტრაქცია მანუალურად *High Pure Viral Nucleic Acid Kit(Roche Diagnostics, Germany)*–ის გამოყენებით.

პროცესი მიმდინარეობდა მწარმოებლის ინსტრუქციის მიხედვით და მოკლედ ასე გამოიყურებოდა: ვანზავებთ ლიოფილიზირებულ CAR-რნმს და პროტეინაზა K-ს, 500მკლ და 5მლ ელუშენის ბუფერის დამატებით. შემდეგ მზადდება სამუშაო ლიზის რეაგენტი:

რეაგენტი	ნიმუშის რაოდენობა	
	12	24
ლიზისის ხსნარი	7 მლ	14 მლ
მზა CAR-რნმ	140 მკლ	280 მკლ
მზა პროტეინაზა K	1 400 მკლ	2800 მკლ
შიდა კონტროლი (QS)	112 მკლ	224 მკლ

ტესტ-ნაკრებში შემავალ გამჭვირვალე (№1) რეზერვუარის თითოეულ ფოსოში გადაგვაქვს 625 მკლ ზემოთ აღწერილი წესით დამზადებული სამუშაო ლიზის რეაგენტი და 500 მკლ პლაზმა თითოეული პაციენტისათვის. ყოველი ექსტრაქციისას ვიყენებთ მინიმუმ სამ კონტროლს(ნეგატივი კონტროლი, სუსტი დადებითი კონტროლი და ძლიერ დადებითი კონტროლი), რომლებიც სინჯების პარალელურად გადის ექსტრაქციის ყველა ეტაპს. შერევის შემდგომ, რეზერვუარებს 10 წთ-ის განმავლობაში ვათავსებთ თერმოსტატში 50°C-ზე.

ინკუბაციის გასვლის შემდეგ, თითოეულ სინჯს ემატება 250 მკლ იზოპროპილის სპირტი.

გამჭვირვალე რეზერვუარებში მოთავსებული სითხის მასა ორ ეტაპად გადაგვაქვს ტესტ-ნაკრების ყვითელ რეზერვუარებში (№2), რომელიც შეიცავს სპეციალურ ფილტრებს თითოეული სინჯისათვის. შედეგებში ყვითელ პლანშეტებს ვაცენტრიფუგებთ პლანშეტურ ცენტრიფუგაში ორ-ორი წუთით 4600 xg-ზე.

თითოეულ სინჯს ემატება 400 მკლ ინჰიბიტორის მოსაცილებელი ხსნარი და კვლავ ხდება ცენტრიფუგირება 2 წთ-ით.

გარეცხვის ეტაპზე, თითოეულ სინჯს ორჯერ ემატება 700 მკლ 100% ეთანოლის შემცველი გამრეცხი ხსნარი. გარეცხვებს შორის ხდება ცენტრიფუგირება 2-2 წთ-ით.

შემდეგ ეტაპზე №2 ყვითელ რეზერვუარს უმაგრდება ცისფერი(№3) რნმ/დნმ შესაგროვებელი რეზერვუარი.

თითოეულ სინჯს ემატება 75 მკლ თერმობლოკში 70°C-ზე წინასწარ გამთბარი ელუშენ ბუფერი. 5 წუთი დაყოვნების და 3 წუთი ცენტრიფუგირების შედეგად ვიღებთ 75 მკლ HCV რნმ-ს.

2) ვირუსული რნმ-ის ექსტრაქცია ავტომატურად, ექსტრაქტორ EasyMag bioMerieux გამოყენებით.



პროცესი მიმდინარეობდა მწარმოებლის ერთ-ერთი პროტოკოლის მიხედვით და მოკლედ ასე გამოიყურებოდა: საექსტრაქციო პლათფორმაზე, ერთჯერად რეზერვუარში გადაგვაქვს 500 მკლ საკვლევი ნიმუში ან კონტროლი და 10 მკლ შიდა კონტროლი – IC/QS, რომელიც განკუთვნილია ექსტრაქციის ვალიდურად წარმართვის მონიტორინგისათვის.

აპარატი ახდენს ავტომატურად 2 მლ ლიზისის ხსნარის დამატებას თითოეულ სინჯზე და 10 წუთი ინკუბაციას.

შემდეგ ეტაპზე, თითოეულ სინჯს მანუალურად ემატება კარგად არეული მაგნიტური სილიკა. ექსტრაქციის პროცესი გრძელდება ავტომატურ რეჟიმში, 45 წთ-ის განმავლობაში და მიიღება 75 მკლ HCV რნმ-ი.

HCV რნმ-ის რაოდენობრივი განსაზღვრა რეალური დროის პჯრ მეთოდით

სისხლში C ჰეპატიტის ვირუსის რაოდენობის განსაზღვრისათვის გამოვიყენეთ The COBAS® TaqMan® HCV Test, v2.0 ნაკრები, ექსტრაქციისათვის – High Pure Viral Nucleic Acid Kit ნაკრები. აღნიშნული ტესტი გამოირჩევა მაღალი მგრძობელობით (დეტექციის ქვედა ზღვარი-8 Iu/ml; დეტექციის დათვლადი ქვედა ზღვარი 25 Iu/ml) და გააჩნია CE-IVD მარკირება.

ჩვენს კვლევაში, ვირუსის ამპლიფიკაციის და დეტექციის პროცესი მიმდინარეობდა მწარმოებლის ინსტრუქციის მიხედვით და მოკლედ ასე გამოიყურებოდა:

ამპლიფიკაციის რეაგენტის (სამუშაო MMX-ის) მომზადება – ყოველ ჯერზე პაციენტებთან ერთად იდგმება სამი კონტროლი (უარყოფითი კონტროლი, სუსტი დადებითი და ძლიერ დადებითი კონტროლები). თითოეული სინჯისათვის საჭიროა 50 მკლ მზა სამუშაო MMX, რომელიც შემდეგი თანაფარდობით მზადდება – 44,6

მკლ MMX-ს ემატება 5,4 მკლ CTM Mn² ხსნარი და ვორტექსდება. შემდეგ ეტაპზე ხდება 50მკლ მზა სამუშაო MMX-ზე პაციენტის სისხლიდან უკვე გამოყოფილი 50 მკლ რნმ-ის და კონტროლების დამატება და აპარატ TaqMan 48 RT PCR სისტემში (სურათი №9) გადატანა ამპლიფიკაციისა და ავტომატურ რეჟიმში დეტექციისათვის.

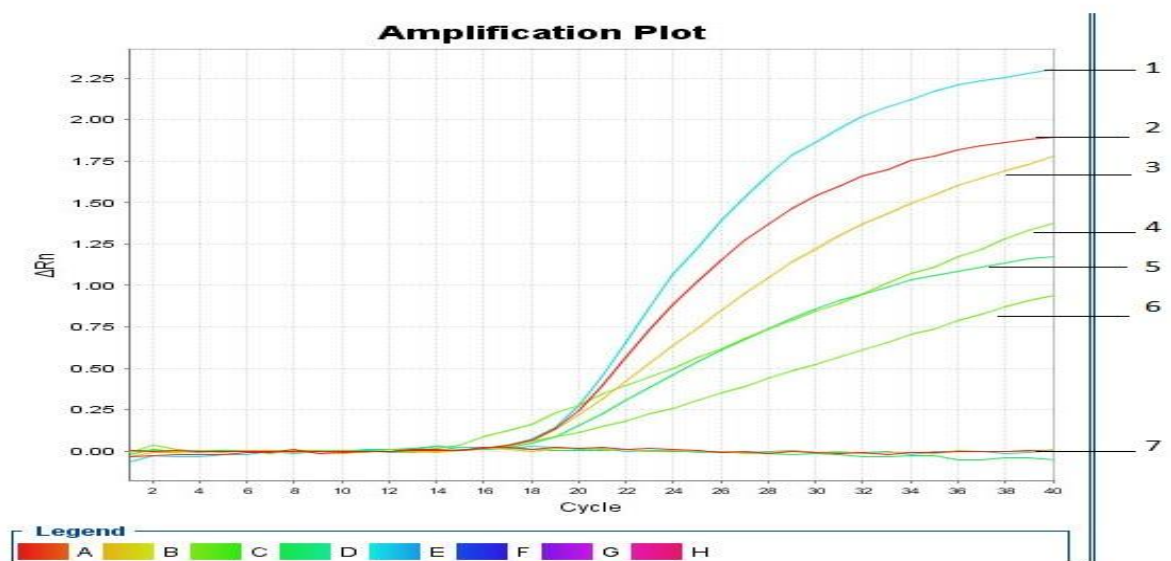
(სურ. №9) COBAS TaqMan 48 RT PCR System(Roche)



შედეგების ინტერპრეტაცია:

სინჯებისა და კონტროლების შედეგების ინტერპრეტაციას ახდენს აპარატი Cobas TaqMan 48. სინჯში ამპლიფიცირებული ვირუსის გენეტიკური მასალის აღქმა ასოცირდება ფლურესცენტულ სიგნალთან, რომელიც გამოისახება სიგმოიდურ გრაფიკში (სურათი №10).

(სურ. №10).



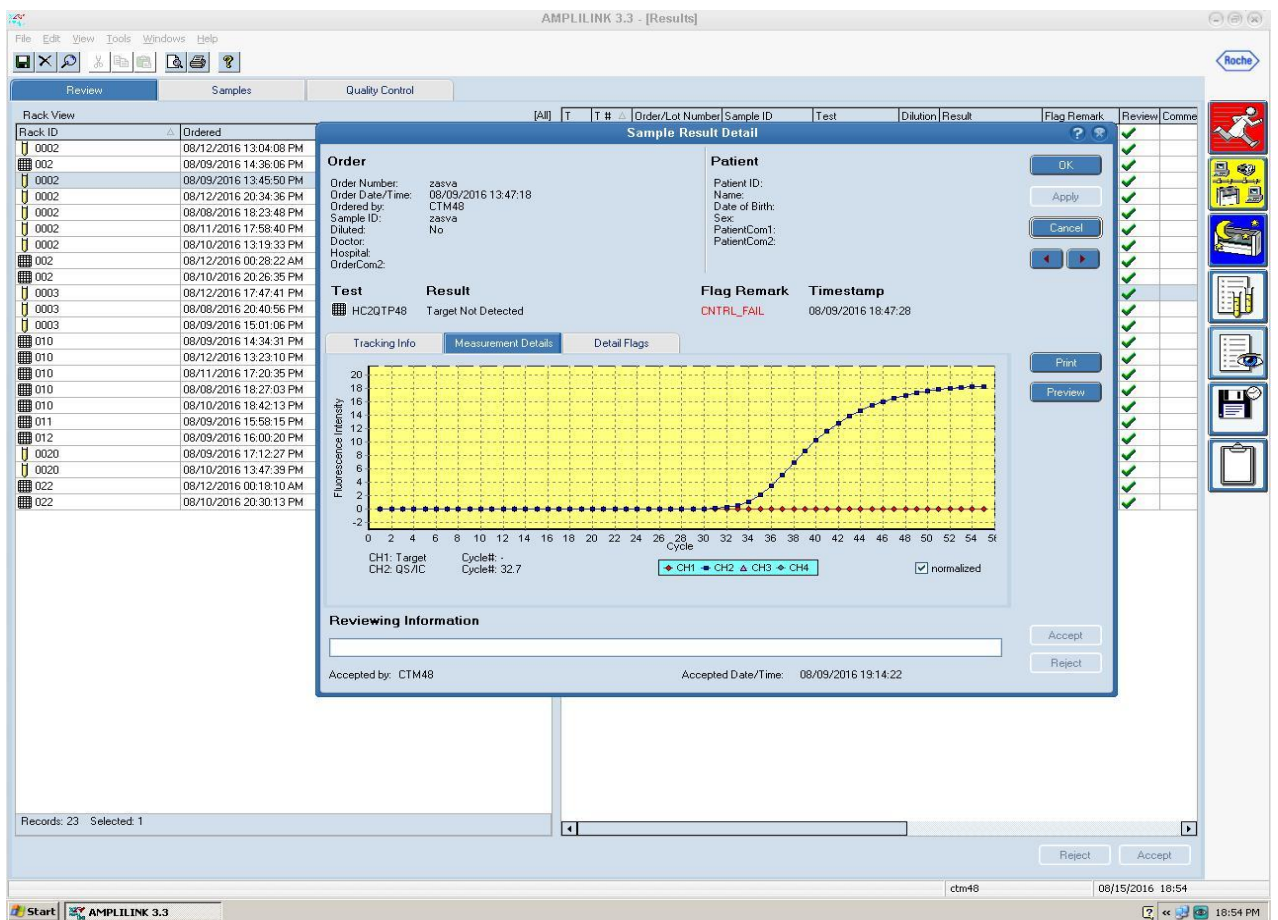
HCV-QS, იგივე შიდა კონტროლი, რომელიც ჯერ კიდევ ექსტრაქციის საწყის ეტაპზე ემატება, იძლევა საშუალებას მოვახდინოთ ტესტირების მიმდინარეობის სრული ციკლის მონიტორინგი ნუკლეინის მუკავების ექსტრაქციიდან პჯრ ამპლიფიკაციამდე. განისაზღვროს შესაძლო ინჰიბირება, შემოწმდეს რნმ-ის დანაკარგი ზუსტი შედეგების მისაღებად.

ცდის ზღვრული ციკლის ვალიდური პარამეტრები გამოითვლება ავტომატურად, ყოველი კონკრეტული რეაქციისათვის.

ყოველი რეაქციისათვის აუცილებელია სამივე კონტროლი (უარყოფითი, სუსტი დადებითი და ძლიერ დადებითი), ჩაჯდეს მწარმოებლის მიერ, კონკრეტული ლოტისათვის განსაზღვრულ რაოდენობრივ ჩარჩოში. წინააღმდეგ შემთხვევაში, ამ რეაქციაში შემაჯავალი ყველა საკვლევი ნიმუშის შედეგი არავალიდურია და საჭიროებს რეტესტირებას.

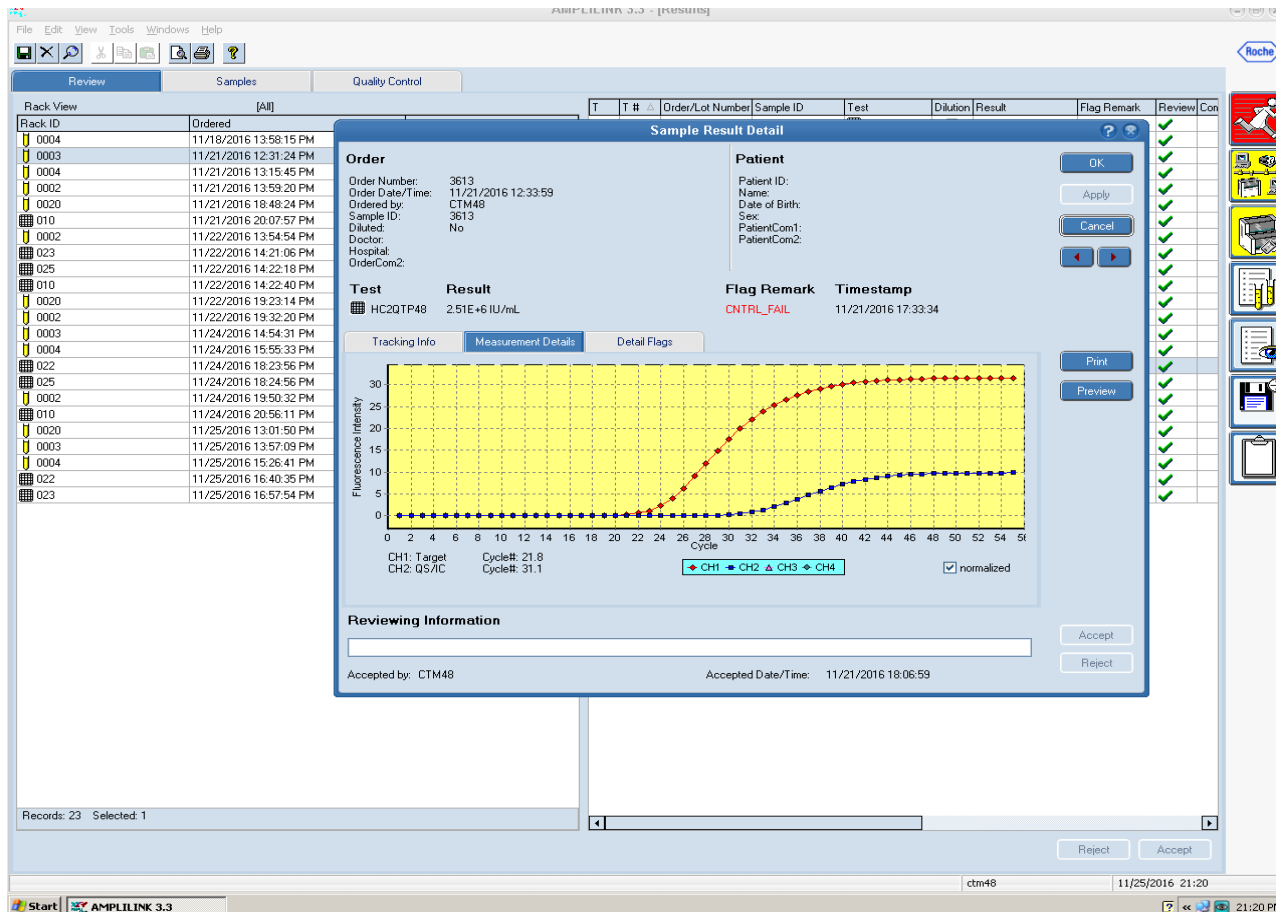
თუ სინჯი უარყოფითია (არ არის HCV რნმ-ი), უნდა დაფიქსირდეს მხოლოდ QS-ის ფლურესცენტული სიგნალი ამპლიფიკაციის კონკრეტულ ციკლზე (სურათი №11).

(სურ. №11).



თუ სინჯი დადებითია, ფიქსირდება როგორც სამიზნის (HCV რნმ-ი), ასევე შიდა კონტროლის (QS) ამპლიფიკაცია და ხდება რნმ-ის რაოდენობრივი დათვლა ავტომატურ რეჟიმში (სურათი №12). შედეგები გამოისახება IU/ml-ში.

(სურათი №12).



თუ სინჯში ვირუსული ერენები დაბალი კონცენტრაციითაა, კონკრეტულად < 25 IU/ml-ზე, მისი რიცხობრივი დათვლა ვერ ხერხდება, თუმცა სინჯი ითვლება დადებითად.

თუ სინჯში საერთოდ არ არის შიდა კონტროლის ამპლიფიკაცია, ან მისი ფლურესცენტული სიგნალი განსაზღვრულ ციკლზე ადრე ან გვიან მოდის, ასეთი სინჯი არ კალკულირდება აპარატის მიერ და საჭიროებს გამეორებას ექსტრაქციის ეტაპიდან.

HCV გენოტიპირება და სუბტიპირება

HCV გენოტიპირებისა და სუბტიპირებისათვის გამოვიყენეთ VERSANT HCV Genotype 2.0 Lipa (Innogenetics, ბელგია). ტესტი განკუთვნილია იმ ვიტრო დიაგნოსტიკისათვის, ითვლება ოქროს სტანდარტად და გააჩნია CE-IVD მარკირება. აღნიშნული ტესტი ადამიანის შრატის ან პლაზმის ეთილენდიამინტეტრაჰიდროქლორიდის გამოყენებით ახდენს C ჰეპატიტის ვირუსის 1-დან 6-მდე გენოტიპისა და მათი სუბტიპების იდენტიფიცირებას, რისთვისაც გამოყენებულია პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციისა და ჰიბრიდიზაციის მეთოდები. გენეტიკური ტიპების გამოსავლენად ტესტი იყენებს C ჰეპატიტის ვირუსის სტრუქტურული გენის 5' არატრანსლირებად (5' UTR) უბანს და ბირთვის (Core) უბანს.

ჩვენს კვლევაში გენოტიპირების პროცესი მიმდინარეობდა მწარმოებლის ინსტრუქციის მიხედვით, რომელიც სამი ძირითადი ეტაპისაგან შედგება: ექსტრაქცია, ამპლიფიკაცია და დეტექცია.

ექსტრაქცია

ნუკლეინის მუავის პლაზმის მატრიციდან გამოსაცალკევებლად გამოვიყენეთ 52-54 გვ აღწერილი ვირუსული რნმ-ის ექსტრაქციის პროტოკოლები.

ამპლიფიკაცია

ექსტრაქციის შედეგად მიღებული HCV რნმ-ის რევერს ტრანსკრიპციისა და ამპლიფიკაციისათვის, ტესტ-ნაკრებში შემაჯავლი ENZ MIX და AMP MIX-საგან ვამზადებთ სამუშაო მასტერ-მიქსს, რომელიც შეიცავს სპეციფიურ პრაიმერებს რნმ-ის კომპლემენტარულ დნმ-ად(cDNA) გარდასაქმნელად:

10 სინჯისათვის	N რაოდენობის სინჯისათვის
ერთ ფლაკონ ENZ MIX-ს დაამატეთ 290 მკლ AMP MIX	N x 26 მკლ AMP MIX-ს დაამატეთ N x 4მკლ ENZ MIX

შემდეგ, თითოეული სინჯისათვის 30 მკლ მზა მასტერ-მიქსს ემატება 20 მკლ HCV რნმი. სინჯი იღება თერმოციკლერში GeneAmp® PCR System 9700 Applied Biosystems (სურათი №13), სპეციალურ პროგრამაზე.

თერმოციკლერის დასაპროგრამირებელი ტემპერატურული რეჟიმი:

საფეხური	ტემპერატურა	ხანგრძლივობა
რევერს ტრანსკრიფცია	50° ± 0,5°C	30 წთ
პჯრ აქტივაცია	95° ± 0,5°C	15 წთ
დენატურაცია	95° ± 0,5°C	30 წამ
ენნილინგი	50° ± 0,5°C	30 წამ
ექსტენცია	72° ± 0,5°C	15 წამ
საფეხურების 39-ჯერ გამეორება	40 ციკლი	
ფინალური ექსტენცია/ელონგაცია	72° ± 0,5°C	2 წთ
გაჩერება	4° ± 0,5°C	2 სთ ან შენახვა - 20°C

დადებითი და უარყოფითი კონტროლი გადის ყველა ეტაპს, ნუკლეინის მუავის პლაზმის მატრიციდან გამოცალკეებიდან გენოტიპის დეტექციამდე.

(სურ. №13) GeneAmp® PCR System 9700 Applied Biosystems



ამპლიფიკაციის შედეგად მიიღება ამპლიკონი, რომელიც საჭიროებს დეტექციის ეტაპს.

დეტექცია

დეტექციისათვის განკუთვნილი რეაქტივების მომზადება:

- თითოეული სინჯისათვის მზადდება 8 მლ 1 : 5 განზავების რინსის ხსნარი.
- კონიუგატის ხსნარი თითოეული სინჯისათვის მზადდება 2 მლ 1 : 100 განზავებით.
- სუბსტრატის ხსნარი მზადდება 2 მლ თითოეული სინჯისათვის 1 : 100 განზავებით.

ერთჯერადი კონტეინერის თითოეულ ფოსოში, თითოეული სინჯისათვის იდება ნიტროცელოლოზას სტრიპი. შემდეგ ემატება 10 მკლ DENAT SOLN და 10 მკლ ამპლიფიკაციის პროდუქტი. დეტექცია მიმდინარეობს ავტომატურ რეჟიმში, რისთვისაც გამოიყენება აპარატი Auto-LiPA48 INNOGETETICS (სურ. №14).

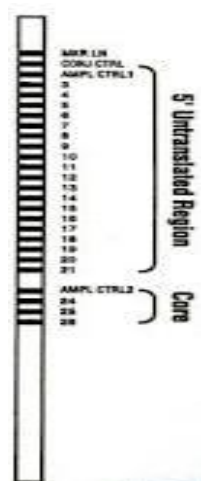
(სურ. №14). Auto-LiPA48 INNOGETETICS



შედეგების ინტერპრეტაცია:

დეტექციის ეტაპის დამთავრების შემდეგ, სტრიპზე გამოისახება რომელიმე გენეტიკური ტიპისათვის დამახასიათებელი სურათი. გენოტიპის იდენტიფიცირება ხდება მწარმოებლის მიერ მოწოდებული READING CARD-ისა და INTERPRETATION CHART-ის გამოყენებით.

(სურ. №15) READING CARD



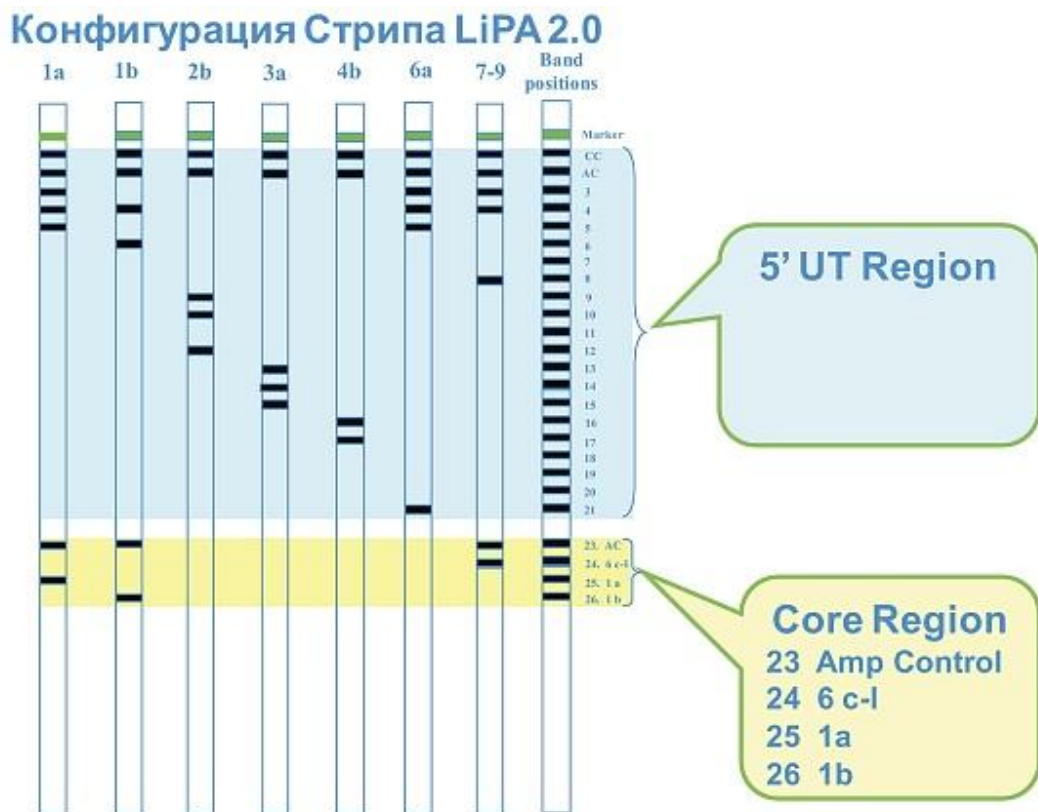
სტრიპზე გამოხატული პირველი ხაზი შეესაბამება კონიუგატის კონტროლს. თუ აღნიშნული ხაზი არ არის შედეგი ინვალიდია.

სტრიპზე არსებული მე-2 ხაზი შეესაბამება ამპლიფიკაციის კონტროლს. თუ ის არის გამოხატული ნიშნავს, რომ მოხდა 5' UTR რეგიონის ამპლიფიკაცია.

სტრიპზე არსებული 23-ე ხაზი შეესაბამება ამპლიფიკაციის მეორე კონტროლს. თუ ის გამოსახულია, ე.ი. მოხდა Core რეგიონის ამპლიფიკაცია.

INTERPRETATION CHART-ი შედგება “ა” და “ბ” ნაწილებისაგან. ”ა” ნაწილი გამოიყენება 1 და მე-6 გენოტიპების შესაფასებლად, სადაც Core რეგიონის ამპლიფიკაციის არსებობის შემთხვევაში ინტერპრეტაციისას უპირატესობა Core-ით შეეფასებას ენიჭება. “ბ” ნაწილი გამოიყენება 2-5 გენოტიპების იდენტიფიცირებისათვის, რისთვისაც მხოლოდ 5' UTR რეგიონი გამოიყენება.

(სურ. №16).



IL28B გენოტიპირება

IL28B გენოტიპირებისათვის გამოვიყენეთ ალელების დისკრიმინაციის მეთოდი. Rs12979860 უმბანში ერთეული ნუკლეოტიდების პოლიმორფიზმის დასადგენად საჭიროა გენომური დნმ-ის გამოყოფა, ამპლიფიკაცია და დეტექცია, ვალიდირებული პროტოკოლის მიხედვით.

დნმ-ის გამოსაყოფად გამოვიყენეთ ექსტრაქციის 52-54 გვ. აღწერილი პროტოკოლები.

ამპლიფიკაციისა და დეტექციისათვის გამოვიყენეთ რეალური დროის პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციის სისტემა Applied Biosystems 7500 RT PCR System.

(სურ. №17) RT PCR System 7500, Applied Biosystems



თითოეული სინჯისა და კონტროლისათვის(CC; CT; TT) 5მკლ დნმ-ს ემატება 20 მკლ სამუშაო მასტერ-მიქსი. ამპლიფიკაციისა და დეტექციის პროცესის ავტომატურ რეჟიმში წარსამართად ნარევი გადაგვაქვს აპარატში, შესაბამის პროგრამაზე.

სამუშაო მასტერ-მიქსის მომზადება:

გამოყენებული რეაგენტები:

- პრაიმერი 1 (PR-For) ნუკლეოტიდების შემდეგი თანმიმდევრობით 5'- GCCTGTCGTGTAAGTGAACCA-3'.
- პრაიმერი 2 (PR-Rev) ნუკლეოტიდების შემდეგი თანმიმდევრობით 5'-GCGCGGAGTGCAATTCAAC-3'.
- ალელსპეციფიური Taqman Minor Groove Binding პრობი 1 (VIC) C ალელისათვის თანმიმდევრობით – TGGTTCGCGCCTT.
- ალელსპეციფიური Taqman Minor Groove Binding პრობი 2 (FAM) C ალელისათვის თანმიმდევრობით – CTGGTTCACGCCTTC.
- AB გენოტიპირების მასტერმიქსი(GMM).

- ულტრასუფთა წყალი.

რეაგენტი	ნიმუშის რაოდენობა	
	1	4
PR-For	0,75 მკლ	3 მკლ
PR-Rev	0,75 მკლ	3 მკლ
VIC	0,125 მკლ	0,5 მკლ
FAM	0,125 მკლ	0,5 მკლ
GMM	12,5 მკლ	50 მკლ
ულტრასუფთა წყალი	5,75 მკლ	23 მკლ

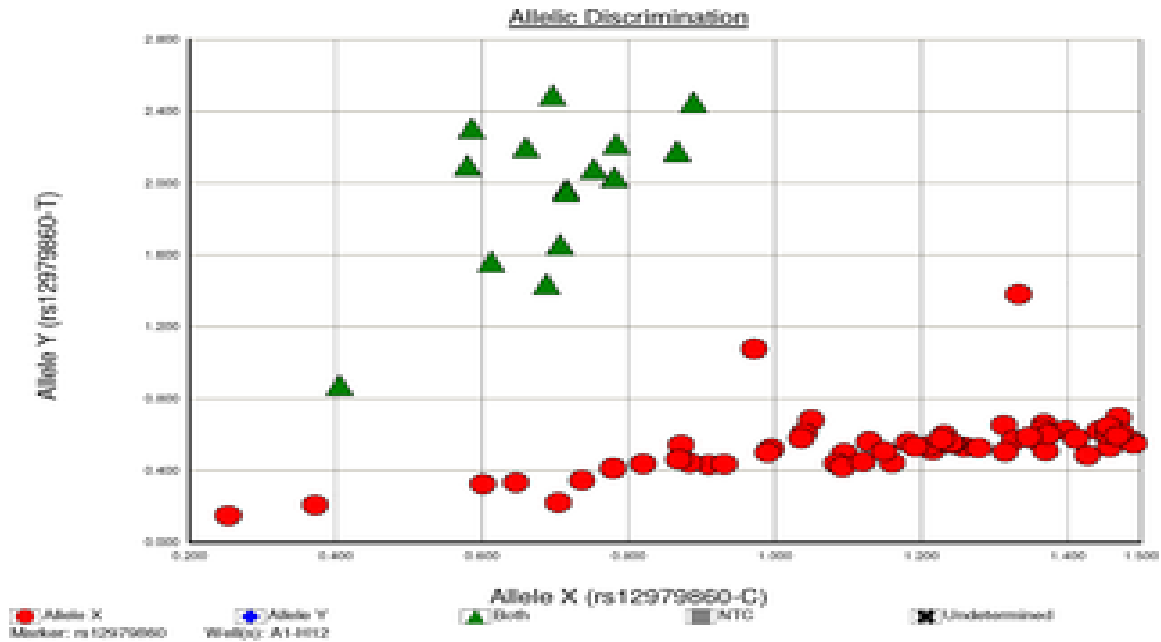
RT PCR System 7500-ის დასაპროგრამირებლად გამოყენებული ტემპერატურული რეჟიმი:

ტემპერატურა	ხანგრძლივობა
50° ± 0,5°C	2 წთ
95° ± 0,5°C	10 წთ
40 ციკლი	
95° ± 0,5°C	15 წამ
65° ± 0,5°C	60 წამ
ამპლიფიკაციის სიგნალის წაკითხვა	
65° ± 0,5°C	∞

შედეგების ინტერპრეტაცია:

AB 7500-ის პროგრამული ანალიზის შედეგად ხდება შედეგების გრაფიკული გამოსახვა (სურ. №18). C/C გენოტიპის მქონე პაციენტის ნიმუშები თავსდება C ღერძის გასწვრივ, T/T გენოტიპის მატარებელი პაციენტების ნიმუშები ლაგდება T ღერძის გასწვრივ, ხოლო C/T გენოტიპის მქონე სინჯები განლაგდება შუაში, დიაგონალის გასწვრივ.

(სურ. №18) IL28B-ს გარაფიკული გამოსახულება



IP-10 განსაზღვრა

კვლევაში მონაწილეთა სისხლში გამა ინტერფერონ მაპროდუცირებელი პროტეინი 10 kDa (IP-10) დონის განსაზღვრად გამოვიყენეთ Human IP-10 ELISA (Invitrogen, Camarilo CA) ტესტ-ნაკრები, REF-KAC2361.

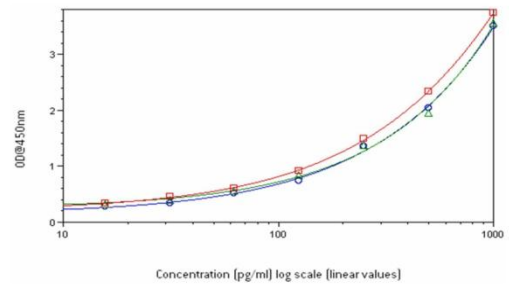
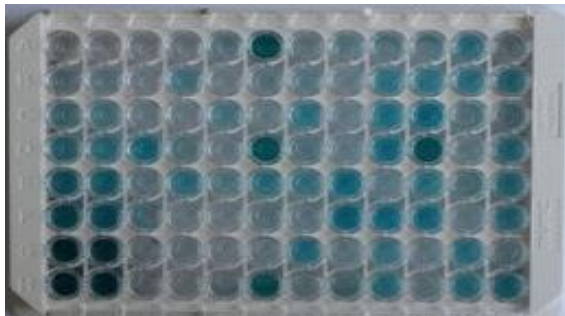
პროცესი მიმდინარეობდა მწარმოებლის ინსტრუქციის მიხედვით და მოკლედ ასე გამოიყურებოდა:

- 50 მკლ პაციენტის შრავტი ან პლაზმა, კონტროლები და სტანდარტები გადაგვაქვს შესაბამის ფოსოებში, რომლებიც ამოფენილია Hu IP-10-ის მიმართ სპეციფიური მონოკლონალური ანტისხეულებით, შემდეგ ემატება 50 მკლ ბიოტინილირებული კონიუგატი, ინკუბაცია 3 სთ ოთახის ტემპერატურაზე (RT). ამ ინკუბაციის დროს Hu IP-10 ანტიგენი უკავშირდება ფოსოში იმობილიზირებულ ანტისხეულის ერთ მხარეს, ანტისხეულის მეორე მხარეს, ბიოტინიზირებული ანტისხეულები უკავშირდება.
- გარეცხვების (4X) ეტაპის შემდეგ, რომლის შედეგად ხდება ზედმეტი, მეორადი ანტისხეულების მოცილება, თითოეული ფოსოს ემატება 100 მკლ ენზიმი(სტრეპტოვიდინ-პეროქსიდაზა). ინკუბაცია 30წთ RT-ზე. ამ დროს

ხდება ბიოტინილირებული ანტისხეულების მიმაგრება და ოთხკომპონენტიანი ე.წ. სენდვიჩის წარმოქმნა.

- მეორე გარეცხვების (4X) ეტაპის შემდეგ, რომლის დროსაც ხდება ზედმეტი ენზიმის ჩამორეცხვა, ემატება 50 მკლ სუბსტრატის ხსნარი და 30 წთ სიბნელეში, RT-ზე ხდება დაყოვნება. ამ დროს წარმოიქმნება ლურჯი შეფერილობა, რომლის ინტენსივობა პირდაპირპროპორციულია IP-10-ის კონცენტრაციის (სურ. №19).
- რეაქციის გასაჩერებლად ემატება 100 მკლ გოგირდმუავას ხსნარი. შედეგების დათვლა ხდება 450 ნმ-ზე. კონკრეტული სინჯისათვის IP-10-ის რაოდენობის გამოთვლა ხდება სინჯის ოპტიკური სიმკვრივის მაჩვენებლის მისადაგებით, სტანდარტებისაგან აგებულ მრუდთან, რომელიც მინიმუმ ოთხი სტანდარტისაგან უნდა იყოს აგებული. ტესტის მგრძობელობა $<2\text{ng/mL}$.

(სურ. №19-20)



ბიოქიმიური გამოკვლევები

ჩვენს კვლევებში, ღვიძლის ფუნქციური ტესტებისა და სხვა ბიოქიმიური მაჩვენებლების განსაზღვრისათვის ვიყენებდით სრულად ავტომატურ, მაღალი სიზუსტის აპარატ COBAS® INTEGRA 400 plus-ს (სურ. №21).

(სურ. №21) COBAS® INTEGRA 400 plus.



ნაშრომში გამოყენებული ყველა ლაბორატორიული გამოკვლევა ჩატარდა მწარმოებლის ინსტრუქციის მიხედვით.

ღვიძლის ელასტოგრაფია

ღვიძლის ფიბროზისა და ციროზის შესაფასებლად, ჩვენს კვლევებში გამოვიყენეთ უახლესი, ყველაზე ზუსტი და არაინვაზიური მეთოდი, ღვიძლის ელასტოგრაფია, აპარატ ფიბროსკანის გამოყენებით (სურ.№22). მისი საშუალებით ავტომატურად ანგარიშდება ღვიძლის სიმკვრივე (კილოპასკალებში) და ფიბროზის ხარისხის კოეფიციენტი (მეტავირის შკალით).

(სურ.№22)



ხარისხის კონტროლი

ხარისხის კონტროლის მიზნით HCV ვირუსული დატვირთვის ყველა ანალიზში გამოიყენებოდა ერთი უარყოფითი (NC) და ორი დადებითი კონტროლი (LPC და HPC). უარყოფითი კონტროლი წარმოადგენდა HCV ნეგატიურ ადამიანის პლაზმას, LPC კონტროლი დაბალი ვირუსული დატვირთვის სინთეზურ სინჯს დეტექციის ზღვარით (76 IU/mL – 1,140 IU/mL), ხოლო HPC მაღალი ვირუსული დატვირთვის სინთეზურ სინჯს დეტექციის ზღვარით (950,000 IU/mL – 11,400,000 I/ml).

სტატისტიკური ანალიზი

სტატისტიკური ანალიზი განხორციელდა პროგრამა SAS 9.2 მეშვეობით (SAS Institute Inc, Cary, NC, USA). საკვლევი მასალის დამუშავებისათვის გამოვიყენეთ უნივარიაციული ანალიზი. სტატისტიკური სარწმუნოება განისაზღვრა როგორც p სიდიდე <0.05 .

ეთიკური კომისიის ნებართვა

კვლევებზე ნებართვა (IRB) გასცა ს.ს. ინფექციური პათოლოგიის შიდსის და კლინიკური იმუნოლოგიის სამეცნიერო პრაქტიკული ცენტრისა და ჯონს ჰოპკინსის უნივერსიტეტის ეთიკურმა კომისიებმა. პაციენტებისაგან მიღებულია წერილობითი ინფორმირებული თანხმობა.

შედგები

კვლევა 1 შედეგები:

მწვავე/ახალი HCV ინფექციის გამოსავლენად სულ გამოვიკვლიეთ 7600 სისხლის დონორი და 3600 HCV სერონეგატიური IDUs. მათ შორის 7 (0,09%) სისხლის დონორს და 10 (0,28%) IDUs-ს განესაზღვრათ HCV რნმ, რაც თავის მხრივ ნიშნავს, რომ ამ პირებს აქვთ ახალი/მწვავე HCV ინფექცია.

ახალი/მწვავე HCV ინფექციით ინფიცირებული 17 პაციენტის ბაზისური მახასიათებლები მოყვანილია ცხრილი №4-ში.

(ცხრილი №4). ახალი/მწვავე HCV ინფიცირებული პაციენტების ბაზისური მონაცემები (n=17).

	საერთო რაოდენობა (n=17)	სპონტანურად განკურნებულები (n=4)	პაციენტები ქრონიკული ინფექციით (n=13)
ასაკი, საშუალო ასაკი (დიაპაზონი)	31 (22-39)	30 (22-31)	32 (24-39)
სქესი, n (%)			
კაცი	15	3 (20.0)	12 (80.0)
ქალი	2	1 (50.0)	1 (50.0)
HCV-ს გადაცემის საგარაუდო გზა, n (%)			
ნარკ. ინტრავენ. მომხ.	12	2 (16.7)	10 (83.3)
სქესობრივი კონტაქტი	1	1 (100.0)	0 (0.0)
გაურკვეველი	4	1 (25.0)	3 (75.0)
HCV გენოტიპი, n (%)			
გენოტიპი 1a	1		1 (100.0)
გენოტიპი 1b	9	2 (22.2)	7 (77.8)
გენოტიპი 2a/2c	3	1 (33.3)	2 (66.7)
გენოტიპი 3a	4	1 (25.0)	3 (75.0)

ახალი/მწვავე HCV ინფექციით ინფიცირებულთა უმრავლესობა მამაკაცია (88.2%), რომელთა საშუალო ასაკი 31 წელია. მათგან 12 პაციენტის ინფიცირების წყარო (2 სისხლის დონორის ჩათვლით) არის ნარკოტიკების ინექციურად მოხმარება (70,6%), ერთი პაციენტი დაინფიცირდა სქესობრივი გზით (5,9%). 4 პირის ინფიცირების გზა დაუდგენელია (23,5%). ახალი/მწვავე HCV ინფექციით ინფიცირებულთა 59%-ს აქვს HCV 1 გენეტიკური ტიპი. პაციენტთა 17,5%-ს აქვს მე-2 გენოტიპი და 23,5%-ს მე-3 გენოტიპი. 24 კვირიანი დაკვირვების საფუძველზე შეიძლება ითქვას, რომ თვითგანკურნება მოხდა ამ 17 პაციენტიდან 4-ში (23,5%), დარჩენილ 13 პაციენტს განუვითარდა ქრონიკული C ჰეპატიტი.

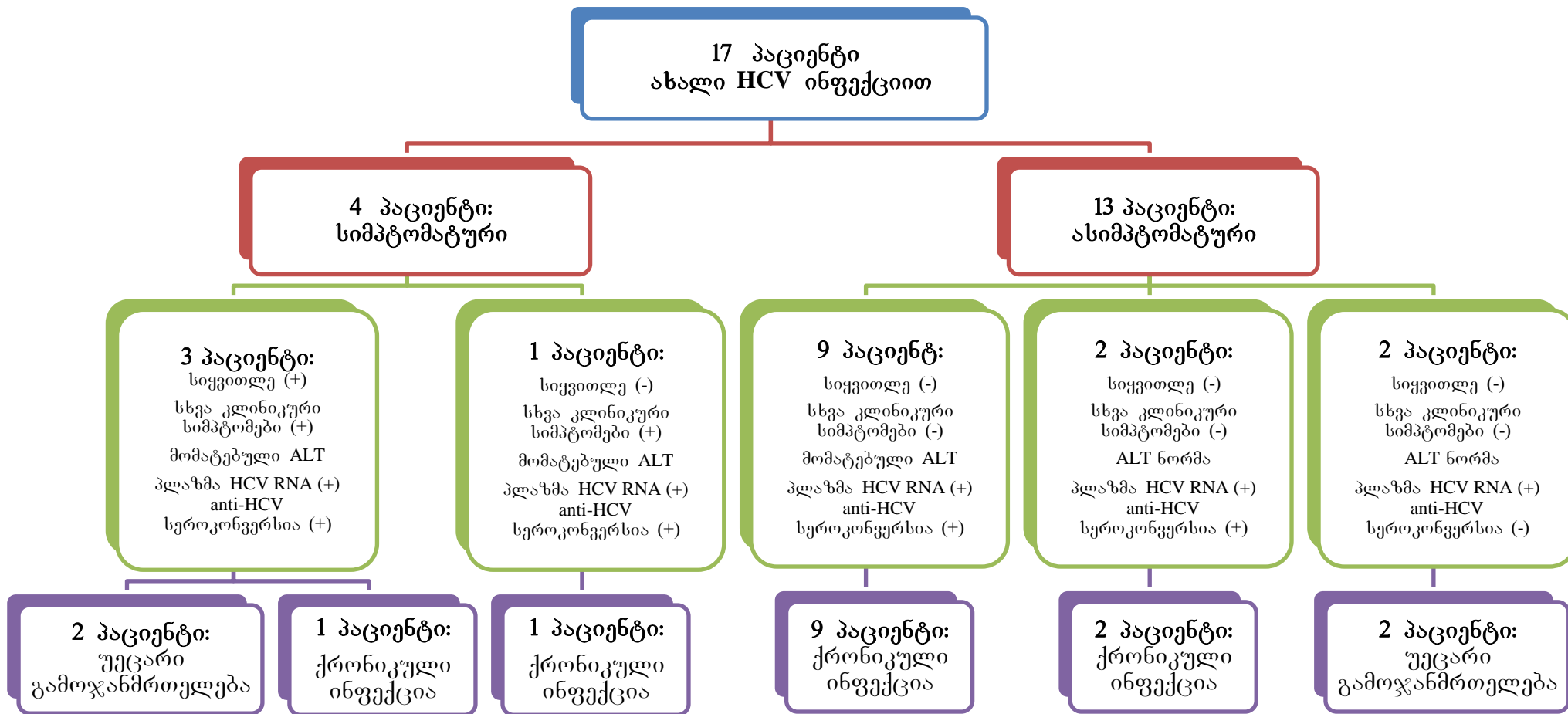
ზემოაღნიშნული კვლევებმა გამოავლინა ახალი/მწვავე ინფექციის ხუთი კლინიკური ფორმა (სურ. №23).

გამოვლენილი იქნა სიმპტომურად მიმდინარე დაავადების ორი ფორმა (სურ. №23). სამ პაციენტში დაავადება იყო მანიფესტირებული სხვადასხვა კლინიკური ნიშნებით (დაღლილობა, სისუსტე, გულისრევა, ცხელება, ართრალგია) და სიყვითლით; ერთ პაციენტს ქონდა დაავადების კლინიკური ნიშნები სიყვითლის გარეშე. პაციენტებზე დაკვირვებამ აჩვენა, რომ დაავადების კლინიკური ნიშნები გამოვლინდა დაკვირვების 4-8 კვირაზე. ოთხივე სიმპტომურ პაციენტში აღინიშნებოდა ALT-ს მომატებული დონე. პიკური მედიანური სიდიდით 1218 IU/l (დიაპაზონი: 410-2050). ასევე, ოთხივე პაციენტში მომატებული იყო ბილირუბინი (საშუალოდ 3.6 – 8.0 მგ/დლ). ბილირუბინის მაჩვენებლის პიკი დაფიქსირდა სიყვითლიან პაციენტში, უსიყვითლოდ მიმდინარე სიმპტომურ პაციენტებში ბილირუბინის ყველაზე მაღალმა მაჩვენებელმა შეადგინა 1.8 მგ/დლ.

ყველა იმ პირში, სადაც მოხდა C ჰეპატიტის ვირუსის მიმართ ანტისხეულების გამოჩენა, სეროკონვერსია საშუალოდ 6 კვირაზე განისაზღვრა (დიაპაზონი 3 – 10 კვირა). ზემოაღნიშნული ოთხი სიმპტომური პაციენტიდან, 2-ში სპონტანურად მოხდა თვითგამოჯანმრთელება. აქედან პაციენტი რომელსაც ქონდა 1b გენოტიპი, ქლირენსი(ვირუსისაგან განთავისუფლება) დაფიქსირდა მე-12 კვირაზე. მე-2 პაციენტში, რომელსაც ქონდა 2a/2c გენოტიპი, ვირუსის რნმ-ი განუსაზღვრელი 24-ე კვირაზე გახდა.

ცამეტ პირში, სადაც მწვავე/ახალი ინფექცია მიმდინარეობდა ასიმპტომურად გამოვლინდა დაავადების სამი განსხვავებული კლინიკური და ლაბორატორიული ვარიანტი (სურ. №23):

(სურ. №23). ახალი/მწვავე HCV ინფექციის კლინიკურ-ლაბორატორიული ვარიანტები (n=17)



პირველ ჯგუფში, რომელიც შედგებოდა 9 პირისაგან აღინიშნებოდა ALT დონის მომატება (პიკური მედიანური სიდიდით 957 IU/l [დიაპაზონი: 220 – 1685]). სამ პაციენტში ბილირუბინი იყო მცირედ მომატებული, არაუმეტეს 2 მგ/დლ. ცხრავე პაციენტში მოხდა anti HCV სეროკონვერსია და განვითარდა ქრონიკული ჰეპატიტი.

მეორე ჯგუფს შეადგენდა ორი უსიმპტომო პაციენტი, სადაც მოხდა სეროკონვერსია და განვითარდა ქრონიკული ჰეპატიტი, ადგილი არ ქონია ALT-ს ან ბილირუბინის მომატებას დაკვირვების მთელი პერიოდის განმავლობაში (სურ. №23). ამრიგად, ორ პაციენტში ისე განვითარდა ქრონიკული C ჰეპატიტი, რომ დაკვირვების მთელი პერიოდის განმავლობაში არ ყოფილა არც კლინიკური და არც ლაბორატორიული ჰეპატიტის სურათი.

თერთმეტივე უსიმპტომო პაციენტში სეროკონვერსიის მედიანურმა პერიოდმა შეადგინა 6 კვირა (დიაპაზონი: 3 -18).

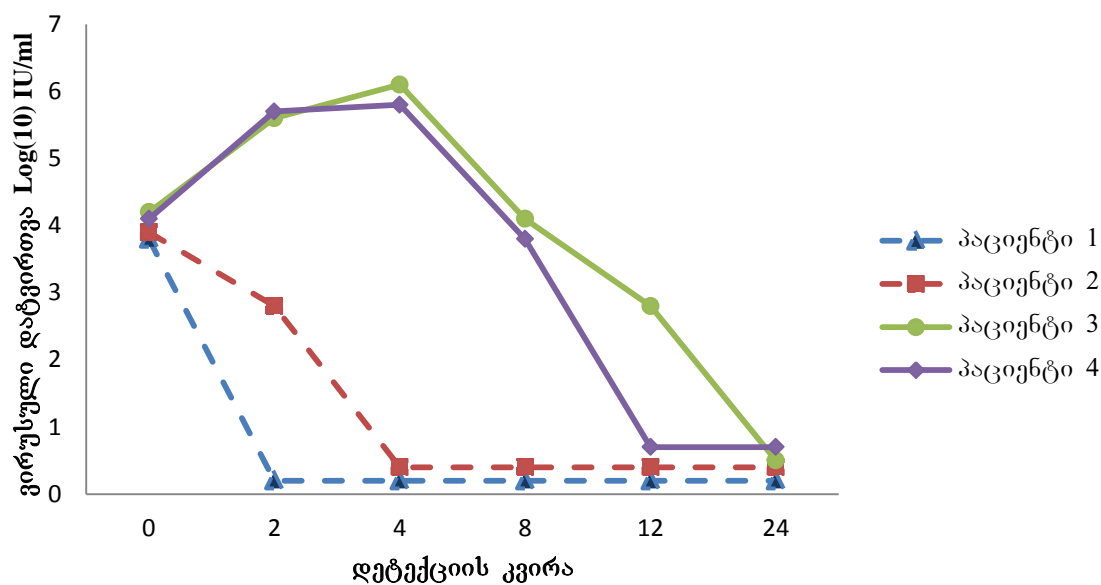
მესამე ჯგუფს შეადგენდა ორი უსიმპტომო პაციენტი, მათში ისე მოხდა ვირუსისაგან ელიმინაცია, რომ არ მოუმატია ALT-ს და არ მომხდარა სეროკონვერსია (სურ. №23). მათშორის პაციენტი, რომელიც ინფიცირებული იყო 1b გენოტიპით ვირუსული რნმ-ი მე-2 კვირაზე იყო არაგანსაზღვრადი. მე-2 პაციენტში კი, რომელიც 3a გენოტიპით იყო ინფიცირებული მე-4 კვირაზე მოხდა ელიმინაცია.

ორივე პაციენტის პლაზმაში 24-ე კვირაზე HCV ანტისხეულები და რნმ-ი იყო არადეტექტაბელური. შესაბამისად ეს ორი შემთხვევა შეფასდა როგორც ტრანზიტორული/გარდამავალი HCV ვირემიის შემთხვევა.

HCV ვირუსული დატვირთვის დინამიკის შესწავლამ აჩვენა, რომ ტრანზიტორული/გარდამავალი ვირემიით პაციენტებს ქონდათ ყველაზე დაბალი საწყისი ვირუსული დატვირთვის მაჩვენებელი. პირველ პაციენტს ჰქონდა – 3.68 log₁₀ IU/ml და ვირუსისაგან ელიმინაცია მოხდა 2 კვირაზე. ხოლო მე-2 პაციენტს 3.92 log₁₀ IU/ml და ვირუსისაგან კლირენსი 4 კვირაზე მოხდა. (დიაგრამა № 14). ასევე, დარჩენილ ორ პაციენტში, რომლებშიც ასევე მოხდა ვირუსის ელიმინაცია, ვირუსული დატვირთვის საწყისი მაჩვენებელი შეადგენდა 4.27 log₁₀ IU/ml (პაციენტი 3) და 4.14 log₁₀ IU/ml (პაციენტი 4) შესაბამისად. მე-3 და მე-4 პაციენტში ვირუსული დატვირთვის პიკი მე-4 კვირაზე იქნა მიღწეული, 6.14 log₁₀ IU/ml და 5.87 log₁₀ IU/ml (დიაგრამა №14). ქრონიკული ინფექციით პაციენტებში აღინიშნა ვირუსული დატვირთვის შედარებით ნელი ზრადა, მატების პიკური მედიანური მაჩვენებლით 6.10 log₁₀ IU/ml, რომელიც მე-8 კვირაზე დაფიქსირდა (დიაგრამა №15). ქრონიკული

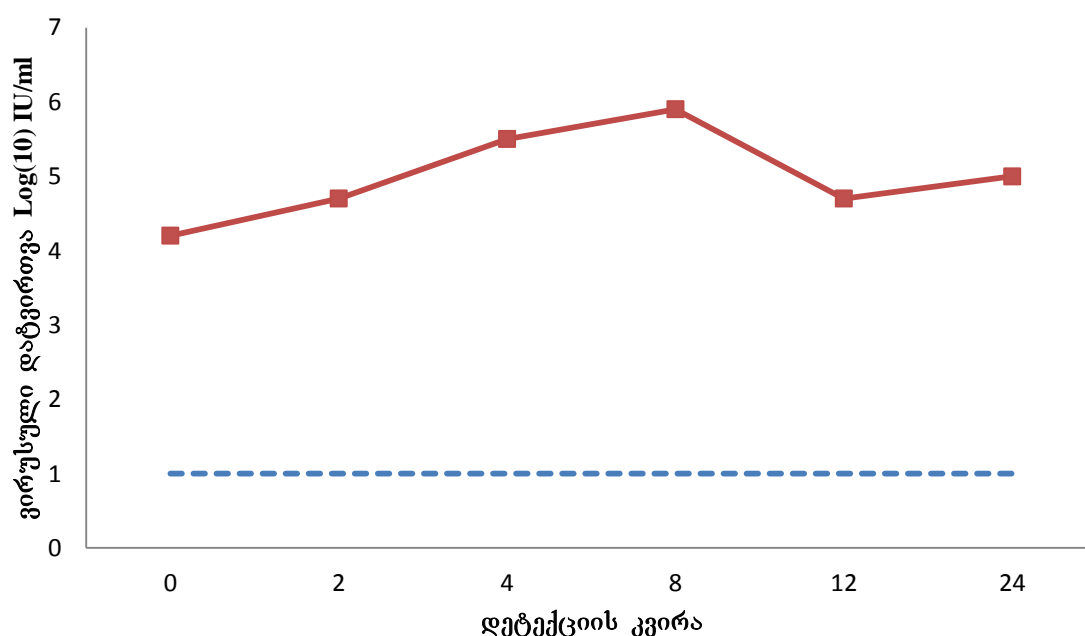
ინფექციის მქონე ცხრავე პაციენტს, დაკვირვების მთელი პერიოდის განმავლობაში სულ ცოტა 6 log₁₀ IU/ml ვირუსული დატვირთვის მაჩვენებელი დაუფიქსირდა.

(დიაგრამა №14) ვირუსული დატვირთვის დინამიკა გამოჯანმრთელებულებში (n=4)



* დაშტრიხული ხაზი გამოსახავს დეტექციის ლიმიტის ქვედა ზღვარს

(დიაგრამა №15) HCV ვირუსული დატვირთვის დინამიკა ქრონიკული ინფექციით პაციენტებში



* დაშტრიხული ხაზი გამოსახავს დეტექციის ლიმიტის ქვედა ზღვარს

კვლევა 2 შედეგები:

მწვავე HCV ინფექციის გამოსავლენად ჯამში გამოვიკვლიეთ 451 აივ ინფიცირებული უარყოფითი anti HCV-ით, რომელთაგან 129 იყო MSM და 322 IDUs. მათ შორის 26 პირს: 17 MSM-ს და 9 IDUs-ს განესაზღვრათ HCV რნმ, რაც თავის მხრივ ნიშნავს, რომ ამ პირებს აქვთ მწვავე HCV ინფექცია.

მწვავე HCV ინფექციით ინფიცირებული 26 პაციენტის ბაზისური მახასიათებლები მოყვანილია ცხრილი №5-ში.

(ცხრილი №5) მწვავე HCV ინფიცირებული პაციენტების ბაზისური მონაცემები (n=26)

	საერთო რაოდენობა (n=26)	სპონტანურად განკურნებულები (n=7)	პაციენტები ქრონიკული ინფექციით (n=19)
ასაკი, საშუალო ასაკი (დიაპაზონი)	32 (22-42)	29 (22-35)	34 (25-42)
HCV-ს გადაცემის საგარაუდო გზა, n (%)			
IDUs	9	2 (22.2)	7 (77.8)
MSM	17	5 (29.4)	12 (70.6)
HCV გენოტიპი, n (%)			
გენოტიპი 1b	10	2 (20.0)	8 (80.0)
გენოტიპი 2a/2c	7	2 (28.6)	5 (71.4)
გენოტიპი 3a	9	3 (33.3)	6 (66.7)
rs12979860			
C/C(%)	7	5 (71.4)	2 (28.6)
C/T(%)	9	2 (22.2)	7 (77.8)
T/T(%)	10	0 (00.0)	10 (100.0)

საკვლევად შერჩეული ჯგუფების სპეციფიკის გათვალისწინებით (MSM და IDUs), მწვავე HCV ინფექციით ინფიცირებულთა აბსოლუტური უმრავლესობა მამაკაცია (99.9%), რომელთა საშუალო ასაკი 32 წელია. მათგან 9 პაციენტის

ინფიცირების წყარო არის ნარკოტიკების ინექციურად მოხმარება (34,6%), 17 პაციენტი დაინფიცირდა სქესობრივი გზით (65,4%). მწვავე HCV ინფექციით ინფიცირებულთა 38.5%-ს აქვს HCV 1 გენეტიკური ტიპი. პაციენტთა 26,9%-ს აქვს მე-2 გენოტიპი და 34.6%-ს მე-3 გენოტიპი. 36 კვირიანი დაკვირვების საფუძველზე შეიძლება ითქვას, რომ თვითგანკურნება მოხდა ამ 26 პაციენტიდან 7-ში(26.9%), დარჩენილ 19(73.1%) პაციენტს განუვითარდა ქრონიკული C ჰეპატიტი. HCV გენეტიკური ტიპების მიხედვით ვირუსის კლირენსი შემდეგნაირად გადანაწილდა: ათი 1b გენოტიპიანი პაციენტიდან ელიმინაცია მოხდა ორ პაციენტში – 20%. შვიდ 2a/2c პაციენტში თვითგანკურნა ორი პაციენტი – 28.6%. ცხრა 3a გენოტიპიანი პაციენტიდან ვირუსის თვითგანწმენდა მოხდა 33.3%-ში. ზემოთ მოყვანილი შედეგებიდან გამომდინარე შეიძლება ითქვას, რომ არცერთ გენოტიპს არ ქონდა გამოსატული უპირატესობა HCV-საგან სპონტანურ გამოჯამრთელებაში.

მეტად საგულისხმოა ის გარემოება, რომ ჩვენი კვლევის პროცესში ვირუსისაგან კლირენსი ერთ შემთხვევაში დაფიქსირდა არა გამოვლენიდან 6 თვის პერიოდში, არამედ დაკვირვების 27-ე კვირაზე.

რაც შეეხება მასპინძლის გენეტიკურ ფაქტორს, II28b C/C გენოტიპიანი შვიდი პაციენტიდან განიკურნა ხუთი – 71.4 %, C/T გენოტიპიანი 9 პირიდან კლირენსი მოხდა ორში-22.2% და T/T გენოტიპით პაციენტებიდან ყველას განუვითარდათ ქრონიკული C ჰეპატიტი.

კვლევა 3 შედეგები:

ოკულტური C ჰეპატიტის გამოსავლენად სულ გამოვიკვლიეთ 161 აივ ინფიცირებული პირი, რომლებიც 3 ჯგუფად იყო დაყოფილი: ჯგუფი 1 – აივ-ით ინფიცირებული პაციენტები ღვიძლის დაავადებების გარეშე (n = 98), ჯგუფი 2 – უცნობი ეტიოლოგიის ღვიძლის დაავადებების მქონე აივ ინფიცირებული პირები (n = 34), ჯგუფი 3 – HIV/HBV კო-ინფიცირებული პაციენტები (n = 29).

გამოკვლეული პაციენტებიდან 15-ს განესაზღვრა HCV რნმ-ი პერიფერიული სისხლის მონონუკლეარებში. ჯგუფების მიხედვით შედეგები შემდეგნაირად გადანაწილდა: ჯგუფ 1-ში 2 შემთხვევაში (2%), ჯგუფ 2-ში 4 შემთხვევაში (12%) და ჯგუფ 3-ში 9 შემთხვევაში (31%).

გამოვლენილი 15 OCI-დან HCV გენოტიპი განისაზღვრა 13 პაციენტში, C ჰეპატიტის გენოტიპების შემდეგი განაწილებით: 6 (46%) – 1b გენოტიპი. 3 (23%) – 2a/2c გენოტიპი და 5 (38%) – 3a გენოტიპი. ორ ნიმუშში გენოტიპი ვერ განისაზღვრა, C ჰეპატიტის ვირუსის უკიდურესად დაბალი ვირუსული დათვირთვის გამო.

ღვიძლის ფიბროზის ხარისხი განსაზღვრა მოხდა 152 პაციენტში. დარჩენილ ცხრა პაციენტში წონის გამო ვერ მოხერხდა ფიბროზის განსაზღვრა. ზემოაღნიშნული კვლევის შედეგად გამოიკვეთა, რომ პაციენტებს რომელთაც არ აღმოაჩნდათ ოკულტური C ჰეპატიტი ფიბროზის ხარისხის საშუალო მაჩვენებელი შეადგენდა F1-ს, მაშინ როდესაც OCI პოზიტიურ პაციენტებში ფიბროზის ხარისხი იყო F2 ან მეტი.

ცხრილი № 6. პაციენტების მაჩვენებლების შედარება OCI-ით და OCI-ის გარეშე.

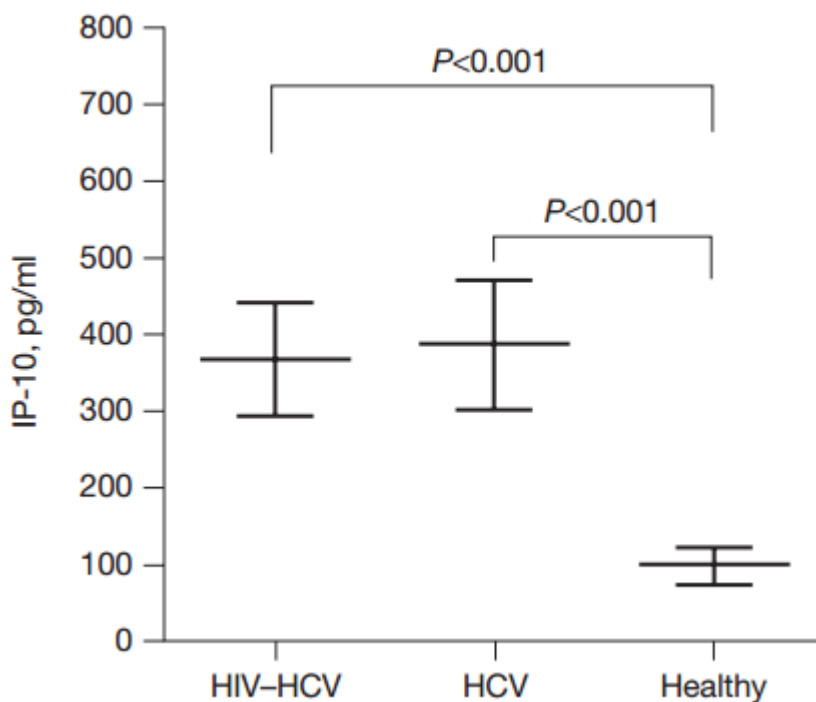
კატეგორია	PBMCs-ში	
	HCV რნმ-ზე გამოკვლევის შედეგები (+) დადებითი	(-) უარყოფითი
პაც. რაოდენობა (ჯამი)	15	146
ღვიძლის დაავადების გარეშე (ჯგუფი 1)	2	96
კრიპტოგენული ღვიძლის დაავადებით (ჯგუფი 2)	4	30
HIV/IBV კო-ინფიცირებულები (ჯგუფი 3)	9	20
სქესი, მამაკაცი/ქალი	12/3	91/55
ასაკი, საშუალო, წელი	48 ± 11	50 ± 12
BMI, საშუალო	27.1 ± 4	26.3 ± 3
ღვიძლის დაზიანების ხარისხი (kPa)	≥ F2 (8.1-9.5)	F1 (6.8-7.5)

კვლევა 4 შედეგები:

სულ კვლევაში ჩართული იყო 5 ჯგუფად დაყოფილი 178 პირი (ცხრილი №7), რომელთა საშუალო ასაკია 38 ± 8 წელი, სხეულის მასის ინდექსი 25.6 ± 4 kg/m².

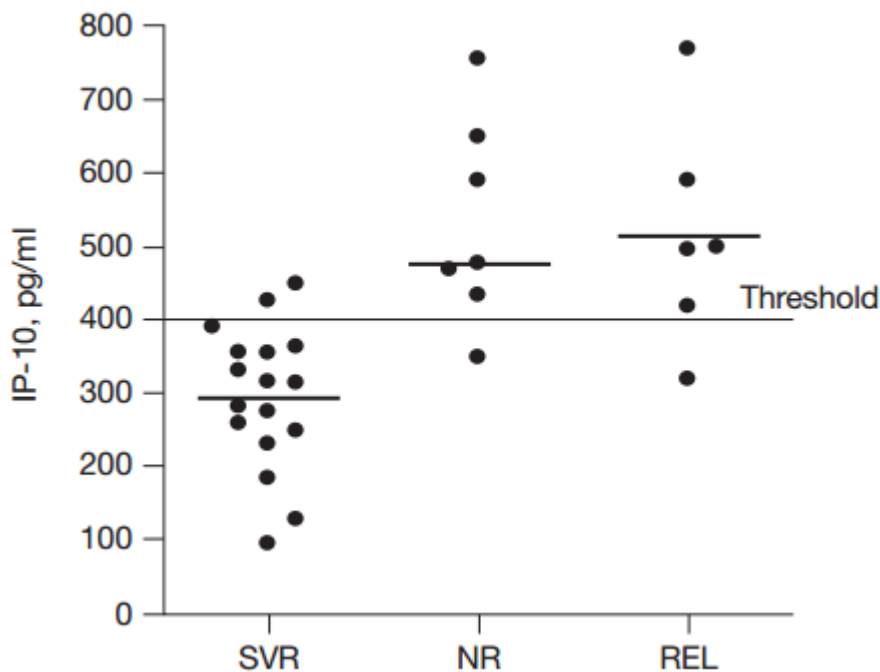
კვლევის მონაწილეების HCV ვირუსული დატვირთვის საწყისი მედიანური სიდიდე იყო 900,000 Iu/ml (35,000 – 4,000,000). შრატის IP-10-ის საწყისი მედიანური სიდიდე კო-ინფიცირებულებში (380 ± 320 pg/ml) და მონოინფიცირებულებში (395 ± 310 pg/ml) მეტ-ნაკლებად ერთნაირი იყო, ხოლო საკონტროლო-ჯანმრთელების ჯგუფში (95 ± 90 pg/ml) მნიშვნელოვანწილად დაბალი (დიაგრამა №16). მკურნალობაზე მყოფი 142 პაციენტიდან SVR მიღწეული იქნა 58%-ში (82/142), აქედან G1 პაციენტებში 48% (35/73)-ში, ხოლო G2-3 პაციენტებში 68% (47/69)-ში. იმ პაციენტებს რომლებიც იყვნენ HAART-ზე, შრატის IP-10-ის დონე ქონდათ უფრო დაბალი, ვიდრე არა HAART-ზე მყოფ პაციენტებს (330 ± 110 pg/ml vs 650 ± 80 pg/ml). ხოლო იმ პაციენტებს, რომელთაც ქონდათ შედეგიანი HAART მკურნალობა (HIV რნმ არა-განსაზღვრადი) ქონდათ მნიშვნელოვანწილად დაბალი IP-10-ის დონე, ვიდრე განსაზღვრად HIV რნმ-იან პაციენტებს (325 ± 120 pg/ml vs 480 ± 130 pg/ml).

(დიაგრამა №16)



ჩვენი კვლევის ფარგლებში დადგინდა, რომ მკურნალობაზე მყოფი 142 პაციენტიდან, იმ 60 პაციენტში, სადაც ვერ იქნა მიღწეული SVR, IP-10-ის დონე შრატში იყო უფრო მაღალი, ვიდრე იმ 82 პაციენტში, სადაც მიღწეული იქნა SVR (n=60, 500 ± 300pg/ml vs n=82, 290 ± 100pg/ml) (დიაგრამა №17). რელაფსერების ჯგუფის შიგნით (n=60) ანალიზმა ცხადყო, რომ უშუალოდ არამოპასუხეებსა (NR) (n=34) და რელაფერებს (REL) (n=26) შორის IP-10-ის დონის მხრივ რაიმე მნიშვნელოვანი განსხვავება არ იკვეთება (n=34, 480 ± 180pg/ml vs n=26, 500 ± 190pg/ml).

(დიაგრამა №17)

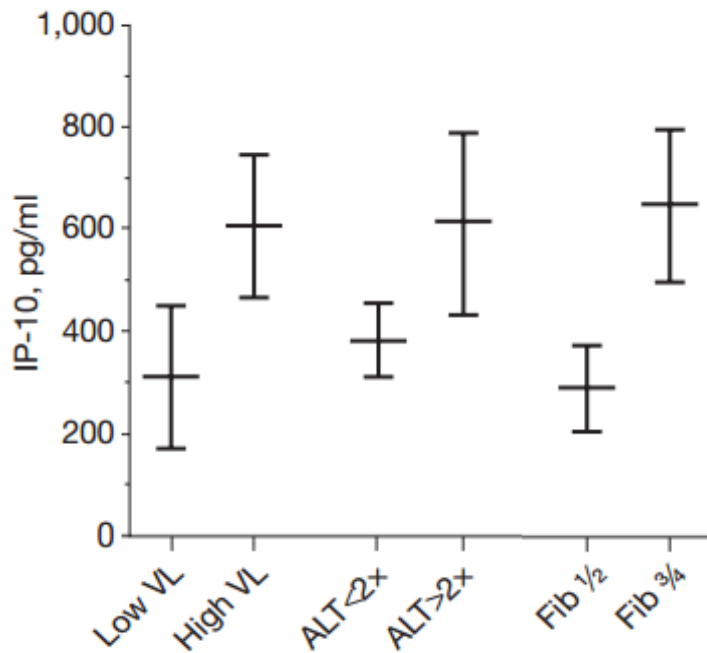


ჩვენი კვლევის ფარგლებში გამოიკვეთა, რომ პაციენტებს რომელთაც ქონდათ ფიბროზის დაბალი ხარისხი და ALT-ს დაბალი დონე შრატის IP-10-ის დონეც მნიშვნელოვანწილად დაბალი ქონდათ, მაღალი ფიბროზით და მაღალი ALT-ით პაციენტებთან შედარებით (დიაგრამა №18). ასევე გამოვლინდა ვირუსულ დატვირთვასთან ასოცირებული კანონზომიერება: პაციენტებს, რომელთაც ქონდათ მაღალი HCV ვირუსული დატვირთვა (>10+E6Iu/ml; n=68) IP-10-ის დონე შრატში ქონდათ უფრო მაღალი, ვიდრე დაბალი ვირუსული დატვირთვით პაციენტებს (<10+E6Iu/ml; n=74; 440 ± 90pg/ml vs 320 ± 110pg/ml) (დიაგრამა №18).

Ip-10-ისათვის გამოვიანგარიშეთ ის ზღვრული მაჩვენებელი, რომელიც არის SVR-ის პრედიქტორი, ამ მაჩვენებელის საშუალო სიდიდე (cutoff) განისაზღვრა 400

pg/ml-ით (დიაგრამა №17). კატოვის ამ მნიშვნელობის (400pg/ml) გამოყენებით დაახლოებით 91%-იანი სიზუსტით შეიძლება ვივარაუდოთ მოხდება თუ არა ვირუსისაგან ელიმინაცია, თუ მივიღებთ რელაფსს.

(დიაგრამა №18.)



SVR-თან ასოცირებული პარამეტრების უნივარიაციული და მულტივარიაციული კვლევის ანალიზმა აჩვენა, რომ მკურნალობის დაწყებამდე მიღებული პარამეტრებიდან მხოლოდ HCV ვირუსული დატვირთვის საწყისი მაჩვენებელი და Ip-10-ის კონცენტრაცია სისხლში არის კორელაციაში SVR-თან. ამ ორ მაჩვენებელს შორის, Ip-10 არის უფრო მძლავრი მკურნალობის გამოსავლის პრედიქტორი.

ცხრილი 2 ასახავს ჩვენს მიერ შესწავლილი პარამეტრების ღირებულებას, მკურნალობის გამოსავალთან მიმართებაში.

მკურნალობის დაწყებამდე მიღებული ყველა პარამეტრიდან IL28B-ის მერე, შრატის Ip-10-ის დონე არის ყველაზე ძლიერი მკურნალობის გამოსავლის პრედიქტორი, რომლის მგრძობელობაა 91% და სპეციფიურობაა 85%.

ცხრილი № 7. მკურნალობის გამოსავალთან ასცირებული ფაქტორები

ფაქტორი	HCV მონონფიც			HIV/HCV კო-ინფიც.		
	მკურ. გამოსავალი			მკურ. გამოსავალი		
	SVR	NR ან REL		SVR	NR ან REL	
პაც. რაოდენობა ,n	48	18	19	34	16	7
სქესი						
მამაკაცი	33	16	16	24	13	4
ქალი	15	2	3	10	3	3
ასაკი, საშ., წელი	34±2	42±3	43±4	36±3	48±2	48±3
BMI, საშ. kg/m ²	24,6	25,2	25,4	26,0	25,0	26,7
საშ. HCV RNA 10E3Iu/ml	33,000	98,000	78,000	36,000	97,000	94,000
HCV RNA<10E6Iu/ml,n	42	3	3	24	2	1
HCV RNA>10E6Iu/ml,n	6	15	16	10	14	6
გენოტიპი						
G1,n	16	5	5	14	7	5
G2,n	14	6	8	11	4	1
G3,n	18	7	6	9	5	1
ღვიძლის დაზ. ხარისხი (kPa)	7,8	8,2	8,1	7,9	9,2	9,1
IL 28B						
CC,n	36	3	4	20	3	2
CT,n	9	7	8	7	8	2
TT,n	3	8	7	7	5	3
IP-10, საშ. pg/ml	310	540	520	360	880	790

ჩვენს კვლევაში, მწვავე HCV ინფექციის დროს, სისხლის შრატში IP-10-ის დონის განსაზღვრამ როგორც HCV მონოინფიცირებულებში, ასევე HCV/HIV კო-ინფიცირებულებში აჩვენა, რომ იმ პაციენტებში სადაც მოხდა თვითგანკურნება, IP-10-ის დონე მნიშვნელოვანწილად დაბალი იყო, ვიდრე პაციენტებში სადაც ჩამოყალიბდა ქრონიკული HCV ინფექცია ($n=8/18; 380 \pm 60\text{pg/ml}$ vs $n=10/18 520 \pm 90\text{pg/ml}$).

ამრიგად, როგორც ქრონიკული HCV ინფექციის დროს, ასევე მწვავე HCV ინფექციის დროსაც, IP-10-ის დონე კორელირებს IL28B-ს გენოტიპთან. გამომდინარე აქედან, IP-10 იკვთება როგორც მნიშვნელოვანი სეროლოგიური მარკერი მწვავე C ჰეპატიტისაგან განკურნების მაღალი ალბათობით სავარაუდოდ, როგორც მონო, ასევე კო-ინფიცით პაციენტებში.

კვლევის შედეგების განხილვა

კვლევა 1

ჩვენი კვლევის შედეგად მოხდა უნიკალური კვლევის შედეგების რეპორტირება. კვლევის ორიგინალურმა დიზაინმა მოგვცა საშუალება, მოგვეხდინა პაციენტებზე დაკვირვება C ჰეპატიტის ვირუსით ინფიცირების პირველივე დღეებიდან. ჩვენ შევძელით სერონეგატიურ პირებში თვისობრივი პჯრ მეთოდით აღმოგვეჩინა HCV ინფექცია, ხოლო რნმ-ის რაოდენობის დათვლა შემდგომში მოხდა რეალური დროის რაოდენობრივი პჯრ რეაქციის გამოყენებით. გამოვლინდა მწვავე C ჰეპატიტის ვირუსის ორი ძალიან უჩვეულო ტრაექტორია, რომელიც შეიძლება იყოს უფრო ხშირი, ვიდრე აღწერილია კლინიკურ კვლევებში.

პირველი უჩვეულო შემთხვევა არის ტრანზიტორული ვირემიის შემთხვევა, როდესაც HCV რნმ პოზიტიურ ორ პაციენტში მოხდა ვირუსის სპონტანური ელიმინაცია, ყოველგვარი კლინიკური გამოვლინების გარეშე. ALT-ს დონე არ მომატებულა, და რაც ყველაზე უჩვეულოა, ისე მოხდა ვირუსის გაქრობა, რომ არ მომხდარა სეროკონვერსია. როგორც ჩვენთვის ცნობილია, ლიტერატურაში მხოლოდ ერთეული ანალოგიური შემთხვევაა აღწერილი (Meyer et al., 2007; Munier et al., 2013; Post et al., 2004; Stramer et al., 2004). აქვე საგულისხმოა, რომ ზემოაღნიშნულ კვლევაში(Stramer, et al., 2004) სტრამერს და მის კოლეგებს არ აქვთ აღწერილი ვირემიის ხანგრძლივობა, მათ აქვთ მხოლოდ დაფიქსირებული HCV რნმ-ის

განმეორებითი გამოვლენის და შემდგომ გაქრობის ფაქტი. ჩვენი კვლევის ფარგლებში კი, ერთ პაციენტში 2 კვირის განმავლობაში, ხოლო მე-2 პაციენტში 4 კვირის განმავლობაში ვაკვირდებოდით ვირემიის არსებობას. აღწერილ ორივე შემთხვევაში, ვირემიის ხანგრძლივობა იყო ხანმოკლე, მისი გამოვლენა და აღწერა მხოლოდ კვლევის განსაკუთრებული დიზაინის საშუალებით მოხერხდა. ყოველივე ზემოთ თქმულის გათვალისწინებით, არ არის გასაკვირი, რომ როდესაც მწვავე C ჰეპატიტის გამოსავლენ ძირითად მარკერებად გამოიყენება ვირუსის ანტისხეულებზე და მომატებულ ALT-ზე გამოკვლევა, უმეტეს შემთხვევებში ვერ ხდება ტრანზიტორული ვირემიის დაფიქსირება (Hajarizadeh, Grebely, & Dore, 2012).

ტრანზიტორული ვირემიის გამოვლენის ზემოაღწერილი სიძნელეები ტოვებს კითხვებს, თუ რამდენად ხშირია ტრანზიტორული ვირემია და როგორია მისი კლინიკური გამოვლინება და აქვთ თუ არა ესეთ პაციენტებს რაიმე სახის იმუნიტეტი ახალ HCV ინფექციაზე.

მწვავე C ჰეპატიტის მეორე საინტერესო ფორმა იქნა აღწერილი ჩვენს კვლევაში. როდესაც, უსიმპტომოდ მიმდინარე ორ მწვავე C ჰეპატიტიან პაციენტში განვითარდა ქრონიკული ინფექცია ისე, რომ ALT-ს დონეს არ მოუმატია. როგორც დაკვირვებამ აჩვენა, ორივე პაციენტს 24 კვირის პერიოდში განუვითარდა სეროკონვერსია. როგორც კლინიკური ჰეპატიტის გამოვლინება, ალტ-ს მაჩვენებლის მომატება დაფიქსირდა მოკლე დროში, მხოლოდ მას შემდეგ რაც პლაზმაში მოიმატა ვირუსული რნმ-ის რაოდენობამ (Hajarizadeh, et al., 2013). შეიძლება ითქვას, რომ ასიმპტომური ჰეპატიტი ასოცირდება ALT-ს დაბალ დონესთან, სიმპტომურ ჰეპატიტთან შედარებით (Mosley et al., 2005). თუმცა ლიტერატურაში მაინც მოიპოვება მონაცემები ქრონიკული C ჰეპატიტის შესახებ, რომელიც მიმდინარეობს დვიდლის ნორმალური ბიოქიმიური მაჩვენებლების პირობებში (Hajarizadeh et al., 2014; Uto, Mawatari, Kumagai, Ido, & Tsubouchi, 2012). შტრამერმა და მისმა კოლეგებმა აღწერეს ალტ-ს დონის მომატების გარეშე 3 წლამდე ხანგრძლივობის ვირემიის სამი შემთხვევა, მაგრამ ამ ქეისებში ჩვენს მიერ აღწერილი შემთხვევებისაგან განსხვავებით დაკვირვების მთელი პერიოდის განმავლობაში არ მომხდარა სეროკონვერსია (Stramer, et al., 2004).

რაც შეეხება დაავადების სხვა კლინიკურ ფორმებს: ოთხი მწვავე HCV ინფექციის მქონე სიმპტომური პაციენტიდან, სამს აღენიშნებოდა სიყვითლე. სწორედ ამ სამი პაციენტიდან ორში მოხდა ვირუსის უეცარი გაქრობა. სიმპტო-

მური მწვავე C ჰეპატიტი და განსაკუთრებით სიყვითლის არსებობა იქნა აღწერილი როგორც უეცარი განკურნების ყველაზე მაღალპროცენტული მარკერი (Maheshwari, Ray, & Thuluvath, 2008; Micallef, Kaldor, & Dore, 2006).

ჩვენს კვლევაში აღწერილია 9 მწვავე C ჰეპატიტიანი ასიმპტომური პაციენტი, მათ აღენიშნებოდათ ALT-ს ზომიერი მატება და გამოხატული იყო სეროკონვერსია. არცერთ მათგანში არ მომხდარა ვირუსის გაქრობა. აღნიშნული არ არის გასაკვირი, რადგან როგორც ლიტერატურაშია აღწერილი უსიმპტომოდ, ჰეპატიტის ბიოქიმიური მარკერების მატების გარეშე მიმდინარე მწვავე C ჰეპატიტი ასოცირდება ყველაზე დაბალ პროგნოზულ მარკერად. საშუალოდ მხოლოდ 10 %-ში ხდება ვირუსისგან ელიმინაცია (Maheshwari, et al., 2008).

საერთო ჯამში, ჩვენს კვლევაში ვირუსისაგან განთავისუფლება დაფიქსირდა 23.5%-ში, რაც მსგავსია ლიტერატურაში აღწერილი 26 %-ისა (Micallef, et al., 2006). ყველაზე მაღალი განკურნების დონე, 40% და მეტი აღწერილია ბრაზილიაში (Lewis-Ximenez et al., 2010) და ეგვიპტეში (Sharaf Eldin et al., 2008). აქვე უნდა აღინიშნოს რომ ამ ქვეყნებში კვლევაში მონაწილეობდნენ დიდი რაოდენობით სიმპტომურად მიმდინარე HCV ინფექციის მქონე ქალები. ხოლო ორივე მაჩვენებელი, სიმპტომური მწვავე C ჰეპატიტი და მდედრობითი სქესი ასოცირდება მწვავე ჰეპატიტის უკეთეს გამოსავალთან, მათ შორის განკურნების ყველაზე მაღალ სიხშირესთან (Micallef, et al., 2006).

ჩვენს კვლევაში გამოვლინდა HCV ვირუსული დატვირთვის სხვა მკვლევარების მიერ გამოქვეყნებული კვლევების ანალოგიური კანონზომიერებები (Cox et al., 2005; Glynn et al., 2005; Hajarizadeh, et al., 2013; McGovern et al., 2006). კვლევამ, მწვავე C ჰეპატიტით პაციენტებში ვირუსის დინამიკის როგორც პროგნოზული მარკერის შესახებ, გაამყარა ლიუს და მისი კოლეგების მიერ ახლახანს გამოქვეყნებული შედეგები იმის თაობაზე, რომ არსებობს გარკვეული კორელაცია ვირუსის საწყის კონცენტრაციასა და დაავადების გამოსავალს შორის (Liu, Fisher, Thomas, Cox, & Ray, 2012). კერძოდ, იმ პირებში, რომელთაც HCV რნმ-ის პიკის დროს ვირუსის მაღალი კონცენტრაცია აღენიშნათ, დაფიქსირდა უფრო მაღალი სიხშირით გამოჯანმრთელების ტენდენცია. რაც შესაძლოა აიხსნას იმით, რომ ვირუსის მაღალმა კონცენტრაციამ იმუნური სისტემის მხრივ ძლიერი წინაღმდეგობა გამოიწვია და შესაბამისად ძლიერი იმუნური პასუხი განვითარდა. თუმცა აქვე უნდა აღინიშნოს, რომ დასკვნების გაკეთებისას უნდა ვიყოთ ფრთხილად და გავითვალისწინოთ ის

გარემოება, რომ იმ ოთხი პირიდან სადაც მოხდა ვირუსისაგან ელიმინაცია, ორში იყო გარდამავალი HCV ვირემია.

ჩვენმა კვლევამ გამოკვეთა კიდევ ერთი, საზოგადოებრივი ჯანდაცვისათვის მეტად მნიშვნელოვანი და აქტუალური გამოწვევა-სისხლის და სისხლის პროდუქტების უსაფრთხოება, როდესაც მათი კვლევა ხდება მხოლოდ სეროლოგიურად. უსაფრთხო სისხლის ეროვნული პროგრამა საქართველოში 1997 წელს დაინერგა და მოიცავს უკლებლივ ყველა დონორის, აივ-ზე, B და C ჰეპატიტის ვირუსებზე და სიფილისზე სეროლოგიურ გამოკვლევას. ამ პროგრამის განხორციელების შედეგად მნიშვნელოვნად შემცირდა ტრანსფუზიური გზით გადადებული შემთხვევების რაოდენობა (TTI). თუმცა ჩვენმა კვლევამ ცხადყო, რომ ნაციონალურმა უსაფრთხო სისხლის პროგრამამ, რომელიც მოიცავს მხოლოდ სკრინინგულ კვლევას და ემყარება დონორის სისხლში ზემოთ ჩამოთვლილ ინფექციებზე მხოლოდ ანტისხეულებზე ტესტირებას, ჩვენ შემთხვევაში ვერ შეძლო HCV 7 ახალი შემთხვევის გამოვლენა. მსოფლიოს მაღალგანვითარებულმა ქვეყნებმა უკვე შემოიღეს დონორების სისხლის ნუკლეინის მუაგებით ტესტირება (NAT) ოქროს სტანდარტად. რამაც მინიმუმამდე შეამცირა ამ გზით ვირუსული აგენტებით ინფიცირების შემთხვევები (Coste et al., 2005).

ჩვენი კვლევა ადასტურებს, რომ საქართველოში გამართლებულია სისხლის დონორებში NAT ტესტირების დანებგვა. აღნიშნული რეკომენდაციის გათვალისწინება განსაკუთრებით მნიშვნელოვანია C ჰეპატიტთან მიმართებაში, რადგან საქართველო მიეკუთვნება C ჰეპატიტის მაღალი პრევალენტობის ქვეყნებს. ასევე, HCV ინფექცია ხასიათდება უფრო ხანგრძლივი სერონეგატიური ფანჯარა პერიოდით, ვიდრე აივ ინფექცია (Stvilia, et al., 2006).

ჩვენს კვლევაში დონორებს შორის გამოვლენილი მწვავე HCV ინფექციით 2 პირი ინექციური გზით ნარკოტიკის მომხმარებელი აღმოჩნდა. კვლევის დროს ჩატარებული ინტერვიუს დროს მათ აღიარეს ნარკოტიკის უახლოეს წარსულში მოხმარება, თუმცა ეს ფაქტი დამალეს სისხლის ბანკში სისხლს ჩაბარებების დროს. იმის გათვალისწინებით, რომ საქართველოში სისხლის დონაციას უმეტესწილად კომერციული დონორები ეწევიან, რომლებიც წარმოადგენენ HCV ინფექციის და TTI-ის მაღალი რისკის ჯგუფს (Zaller et al., 2004), აუცილებელია სისხლის და სისხლის პროდუქტების უსაფრთხოების სტრატეგიაში NAT-ზე გამოკვლევის დამატების მიღწევა. ასევე საჭიროა დიდი ძალისხმევა, რათა გაიზარდოს ნება-

ყოფლობითი, უსასყიდლო სისხლის დონორების რიცხვი და შემუშავდეს ეფექტური სკრინინგის ალგორითმი, რომელიც ზუსტად განსაზღვრავს სისხლის დონორებში მაღალი რისკის ქცევებს.

ჩვენს კვლევას აქვს რამოდენიმე შეზღუდვა:

მიუხედავად კვლევის მაშტაბურობისა, გამოვლინილი მწვავე C ჰეპატიტის შემთხვევების რიცხვი არის მცირე, იმისათვის რომ კვლევის შედეგების განზოგადოება იყოს სტატისტიკურად სარწმუნო.

მეორე შესაძლო შეზღუდვაა, დაკვირვების პერიოდის ხანგრძლივობა. როგორც ლიტერატურიდანაა ცნობილი, პაციენტების დიდ უმრავლესობაში სპონტანური გამოჯამრთელება მიიღწევა ინფიცირებიდან 6 თვის განმავლობაში (Hajarizadeh, et al., 2013; McGovern et al., 2009; Thomas, 2013). სწორედ ამიტომ ჩვენ ახალ/მწვავე ინფექციას ვაკვირდებოდით 24 კვირის განმავლობაში. თუმცა მოიპოვება შეზღუდული რიცხვი მონაცემებისა, რომლებშიც აღწერილია ვირუსის კლირენსი 6 თვის შემდეგ და ერთეულ შემთხვევაში 12 თვის შემდეგაც, როდესაც უკვე დადგენილად ითვლება ქრონიკული ინფექცია (Jauncey et al., 2004; Scott et al., 2006; Villano, et al., 1999; Vispo et al., 2014). ამიტომ შესაძლებელია, ზოგიერთ პაციენტში მომხდარიყო ვირუსისაგან სპონტანური ელიმინაცია, ჩვენი დაკვირვების პერიოდის გასვლის შემდეგ.

კვლევა 2

კვლევის ფარგლებში შემუშავებულმა დიზაინმა, მოგვცა საშუალება C ჰეპატიტის მიმართ მაღალი სარისკო ქცევის აივ ინფიცირებულ anti HCV სერონეგატიურ პირებში გამოგვევლინა მწვავე C ჰეპატიტის შემთხვევები და ცხრა თვის განმავლობაში მოგვეხდინა მათზე დაკვირვება. თვისობრივი პჯრ მეთოდის გამოყენებით, HCV სერონეგატიურ პირებში გამოვავლინეთ მწვავე HCV ინფექცია, ხოლო რნმ-ის რაოდენობის დათვლა შემდგომში მოხდა რეალური დროის რაოდენობრივი პჯრ რეაქციის გამოყენებით.

ჩვენი კვლევის შედეგად მოხდა შემდეგი შედეგების რეპორტირება:

კვლევა 2-ში, ისევე როგორც პირველ კვლევაში, სპონტანურ გამოჯამრთელებასა და HCV გენეტიკურ ტიპებს შორის რაიმე კორელაცია არ გამოკვეთილა. HIV/HCV კო-ინფიცირებულ პაციენტებში მწვავე HCV-ისაგან განკურნებულთა

შორის იყო დაახლოებით თანაბარი პროცენტული გადანაწილება, რაც განსხვავდება ზოგიერთი მკვლევართა ჯგუფის მიერ მიღებული შედეგებისაგან (Lehmann et al., 2004). სადაც, მე-3 გენეტიკურ ტიპში მწვავე HCV-ის დროს მიიღეს განკურნების უფრო მაღალი პროცენტი.

დედეს არსებული მრავალრიცხოვანი ლიტერატურული მონაცემებით, მწვავე C ჰეპატიტის დროს, ვირუსისაგან ერადიკაცია ხდება 6 თვის პერიოდში (Hajarizadeh, et al., 2013; McGovern, et al., 2009; Thomas, 2013). ექვსი თვის შემდეგ ვირუსის გაქრობა აღწერილია ზოგიერთი მკვლევარის ნაშრომში და იშვიათობას წარმოადგენს (Jauncey, et al., 2004; Scott, et al., 2006; Vispo, et al., 2014). საგულისხმოა, რომ ჩვენი კვლევის პროცესში ვირუსისაგან ქლირენსი ერთ შემთხვევაში დაფიქსირდა არა გამოვლენიდან 6 თვის პერიოდში, არამედ დაკვირვების 27-ე კვირაზე. საინტერესოა ხომ არ უკავშირდება დაგვიანებული ელიმინაცია აივ-თან კონფიცირებას. აღნიშნული მოითხოვს დამატებით შესწავლას.

ჩვენს კვლევაში, HIV/HCV კო-ინფიცირებულ, სიმპტომურ პაციენტებში HCV ვირუსისაგან ქლირენსმა ჯამში შეადგინა 26.9%. მიღებული განკურნების პროცენტი მნიშვნელოვანწილად დაბალია თუ მას შევადარებთ ლიტერატურაში აღწერილ, სიმპტომური HCV მონოინფიცირებულების გამოჯამრთელების პროცენტს (Lewis-Ximenez, et al., 2010; Micallef, et al., 2006; Sharaf Eldin, et al., 2008).

კვლევამ ცხადყო, რომ მასპინზლის გენეტიკური ფაქტორი, კერძოდ IL28B-ს გენოტიპი, მნიშვნელოვან როლს თამაშობს ვირუსის ერადიკაციაში. 26 გამოვლენილი მწვავე შემთხვევიდან შვიდ შემთხვევაში, სადაც მოხდა ვირუსის ელიმინაცია უმრავლესობას, კერძოდ ხუთს ქონდა C/C გენოტიპი (71.4%), ხოლო ორ პაციენტს C/T გენოტიპი. ჩვენს კვლევაში მიღებული შედეგი მსგავსია სხვა მკვლევარების მიერ მიღებული შედეგების და ცხადყოფს, რომ IL28B C/C გენოტიპი გამოჯამრთელების მნიშვნელოვანი პრედიქტორია როგორც მონო ასევე კო-ინფიცირებული პაციენტებისთვისაც.

ჩვენს კვლევას აქვს რამოდენიმე შეზღუდვა:

საკვლევი პოპულაციის სპეციფიკიდან გამომდინარე და ზოგადად C ჰეპატიტის მწვავე პერიოდში დაჭერის სირთულიდან გამომდინარე, გამოვლენილი მწვავე C ჰეპატიტის შემთხვევების რიცხვი არის მცირე, იმისათვის რომ კვლევის შედეგების განზოგადოება იყოს სტატისტიკურად სარწმუნო.

კიდევ ერთი მნიშვნელოვანი შეზღუდვაა კვლევაში მხოლოდ მამაკაცების მონაწილეობა, რომელიც ასევე საკვლევი პოპულაციის სპეციფიკიდან გამომდინარეობს. ამ ფაქტორის გათვალისწინებით, ჩვენს კვლევაში, მდედრობითი სქესის, როგორც ერთ-ერთი მნიშვნელოვანი პრედიქტორის ვირუსისაგან ელიმინაციაში, კოინფიცირებული პაციენტებისათვის ვერ მოხერხდა.

კვლევა 3

ჩვენი კვლევის მონაცემებმა აჩვენა აივ-ით ინფიცირებულ პაციენტების სხვადასხვა ჯგუფში ოკულტური HCV ინფექციის არსებობა. კვლევის შედეგების გაანალიზებისას არცერთი HCV გენოტიპი არ იყო უპირატესი. ღვიძლის ფიბროზი ნანახი იქნა უფრო ხშირად და ფიბროზის ხარისხი იყო უფრო მაღალი OCI პაციენტებში, ვიდრე იმ პირებში ვისაც არ ქონდათ ოკულტური C ჰეპატიტი. აღნიშნული მიუთითებს იმაზე, რომ გამოუვლენელმა ოკულტურმა C ჰეპატიტმა შეიძლება გარკვეული გავლენა იქონიოს ღვიძლის დაზიანებაზე. წინამდებარე კვლევამ აჩვენა, რომ აივ ინფიცირებულების მხოლოდ HCV ანტისხეულებზე კვლევა არ ასახავს ოკულტური HCV კო-ინფექციის ჭეშმარიტ პრევალენტობას.

ჩვენ ვთავაზობთ, რომ OCI-ის გამოსავლენად, ღვიძლის ბიოფსიის ხელ-მიუწვდომლობის შემთხვევაში PBMCs ნიმუშების HCV-რმნზე კვლევა იქნება ინფორმატიული.

კვლევა 4

კვლევის ფარგლებში შემუშავებულმა დიზაინმა, მოგვცა საშუალება, კვლევისათვის გამოგვეყენებინა როგორც ჩვენს კლინიკებში მკურნალობისათვის მოსული პაციენტების სისხლის ნიმუშები, ასევე სამეცნიერო მიზნებისათვის შეგროვილი და -70°C -ზე შენახული საკვლევი მასალა. საკვლევი ნიმუშების რაოდენობის გაზრდამ კი, გაზარდა შედეგების სარწმუნოება.

ჩვენი კვლევის შედეგად მოხდა შემდეგი შედეგების რეპორტირება:

- C ჰეპატიტის საწინააღმდეგო, ანტივირუსული მკურნალობის დაწყებამდე, შრატის IP-10-ის დონე იმ პაციენტებში, რომლებმაც მკურნალობის შედეგად მიღწიეს SVR-ს ბევრად უფრო დაბალია, ვიდრე IP-10-ის საწყისი მაჩვენებელი

არამოპასუხეებში და რელაფსეში, როგორც HCV მონონფიცირებულებში, ასევე HIV/HCV კო-ინფექციით პაციენტებში.

- ანტივირუსული მკურნალობის დაწყებამდე, IP-10-ის დონე არამოპასუხეებსა და რელაფსერებს შორის მნიშვნელოვნად არ განსხვავდება.
- პაციენტებს რომელთაც ქონდათ ფიბროზის დაბალი ხარისხი და ALT-ს დაბალი დონე შრატის IP-10-ის დონეც მნიშვნელოვანწილად დაბალი ქონდათ, მაღალი ფიბროზით და მაღალი ALT-ით პაციენტებთან შედარებით.
- პაციენტებს, რომელთაც ქონდათ მაღალი HCV ვირუსული დატვირთვა, IP-10-ის დონე შრატში ქონდათ უფრო მაღალი, ვიდრე დაბალი ვირუსული დატვირთვით პაციენტებს.
- Ip-10-ისათვის გამოვიანგარიშეთ ის ზღვრული მაჩვენებელი, რომელიც არის SVR-ის პრედიქტორი, ამ მაჩვენებლის საშუალო სიდიდე (cutoff) განისაზღვრა 400 pg/ml-ით. კატოფის ამ მნიშვნელობის (400pg/ml) გამოყენებით საკმაოდ მაღალი ალბათობით, დაახლოებით 91%-იანი სიზუსტით შეიძლება ვივარაუდოთ მოხდება თუ არა ვირუსისაგან ელიმინაცია, თუ მივიღებთ რელაფსს.
- მწვავე HCV ინფექციის დროს, როგორც HCV მონონფიცირებულებში, ასევე HCV/HIV კო-ინფიცირებულებში, სისხლის შრატში IP-10-ის დონე მნიშვნელოვანწილად დაბალია პაციენტებში, სადაც მოხდა გამოჯანმრთელება, ვიდრე პაციენტებში სადაც ჩამოყალიბდა ქრონიკული HCV ინფექცია.
- როგორც ქრონიკული HCV ინფექციის დროს, ასევე მწვავე HCV ინფექციისას, IP-10-ის დონე კორელირებს IL28B-ს გენოტიპთან და კავშირშია დაავადების გამოსავალთან.

დასკვნები და პრაქტიკული რეკომენდაციები:

დასკვნები:

კვლევა 1

- სერონეგატიურ სისხლის დონორებში HCV ინფექციის პრევალენტობა შეადგენს 0.1 %, ხოლო სერონეგატიურ ინექციური გზით ნარკოტიკების მომხმარებლებში 0.3%-ს.
- მწვავე/ახალი HCV ინფექციის დროს ქრონიზაცია ხდება 76%-ში. (სიმპტომატურ პაციენტებში – 50%, ასიმპტომატურ პაციენტებში – 84%).
- მწვავე/ახალი HCV ინფექციის მიმდინარეობისას ვირუსის რეპლიკაციის კინეტიკა და კონცენტრაცია კორელაციაშია დაავადების გამოსავალთან.
- მწვავე/ახალი HCV ინფექციის სიმპტომური მიმდინარეობა, ახალგაზრდა ასაკი და მდებარეობითი სქესი კორელირებს დაავადების გამოსავალთან.
- C ჰეპატიტის ვირუსის გენეტიკური ტიპი არ ახდენს გავლენას მწვავე/ახალი HCV ინფექციის მიმდინარეობასა და მის გამოსავალზე.
- ჩვენი კვლევისას გამოვლენილი ტრანზიტორული ვირემიის ორი შემთხვევა, გვაძლევს საფუძველს ვივარაუდოთ, რომ აღნიშნული შეიძლება იყოს უფრო ხშირი, ვიდრე აღწერილია ლიტერატურაში.

კვლევა 2

- სერონეგატიურ, სიმპტომურ, HCV ინფექციის მიმართ მაღალი რისკის აივ ინფიცირებულებში დაფიქსირდა მწვავე HCV ინფექციის მაღალი ინციდენტობა – 5.76% (MSM-13,25; IDUs-2,8%).
- ისევე როგორც მონონინფიცირებულებში, აივ ინფიცირებულებშიც, C ჰეპატიტის ვირუსის გენეტიკური ტიპი არ ახდენს გავლენას მწვავე/ახალი HCV ინფექციის მიმდინარეობასა და მის გამოსავალზე.
- მწვავე HCV ინფექციის დროს, ერთეულ შემთხვევებში, ელიმინაცია შეიძლება მოხდეს არა ექვსი თვის პერიოდში, არამედ უფრო ხანგრძლივ ვადაში.

- HIV/HCV კო-ინფიცირებულ, სიმპტომურ მწვავე C ჰეპატიტის პირებში, ისევე როგორც მწვავე C ჰეპატიტით მონონინფიცირებულებში, IL28B C/C გენოტიპს, C/T და T/T გენოტიპებთან შედარებით აქვს თვითგანკურნების მაღალი პროგნოზული ღირებულება.
- HIV/HCV კო-ინფიცირებულ, სიმპტომურ პირებში, მწვავე HCV ინფექციისაგან სპონტანური გამოჯამრთელების პროცენტი მნიშვნელოვანწილად დაბალია, ვიდრე HCV მონონინფიცირებულ პაციენტებში (26,9% vs 50%).

კვლევა 3

- აივ ინფიცირებული პაციენტების სხვადასხვა ჯგუფში არსებობს ოკულტური HCV ინფექცია, რომელიც არ ჩანს პერიფერიული სისხლის შრატის ან პლაზმის HCV ანტისხეულებზე ან უშუალოდ ვირუსის რნმ-ზე გამოკვლევისას.
- HCV გენეტიკური ტიპი არ ახდენს რაიმე გავლენას OCI შემთხვევებზე.
- OCI პაციენტებში ღვიძლის ფიბროზის ხარისხი უფრო მაღალია, ვიდრე პაციენტებში OCI-ის გარეშე.

კვლევა 4

- შრატის IP-10-ის დაბალი კონცენტრაცია, ისევე როგორც IL 28B C/C გენოტიპი წარმოადგენს მწვავე HCV ინფექციისაგან განკურნების დადებით პროგნოზულ მარკერს როგორც HCV მონონინფიცირებულ პაციენტებში, ასევე HCV/HIV კო-ინფიცირებულ პაციენტებში.
- დაბალი ღირებულების და ანალიზის შესრულების სიმარტივის გამო, IP10-ის განსაზღვრის იმუნოფერმენტულმა მეთოდმა შესაძლებელია გარკვეულწილად ჩაანაცვლოს IL28B გენოტიპირების მაღალტექნოლოგიური და შესაბამისად ძვირადღირებული მეთოდი.

რეკომენდაციები:

- მწვავე C ჰეპატიტის მკურნალობის გადაწყვეტილების მიღებისას, როგორც მონო ასევე HIV/HCV კო-ინფექციით პაციენტებში, რეკომენდირებულია შემდეგი ფაქტორების: ასაკი, სქესი, ვირუსის კინეტიკა, ვირუსის კონცენტრაცია, დაავადების მიმდინარეობის ფორმა (სიმპტომური/უსიმპტომო) და მასპინძლის გენეტიკური (IL28B) და/ან სეროლოგიური (IP-10) მარკერების პროგნოზული ღირებულების გათვალისწინება.
- ოკულტური HCV ინფექციის გამოსავლენად, ერთ-ერთი მნიშვნელოვანი კვლევაა PBMCs ნიმუშების HCV-რნმზე გამოკვლევა. მეთოდი არის ადვილად შესასრულებელი, იაფი, ინფორმატიული და თავისუფლად შესაძლოა გამოვიყენოთ, როგორც ღვიძლის ბიოფსიის ალტერნატიული მეთოდი HCV-რნმზე გამოკვლევისას.
- სადღეისოდ, სხლის და სისხლის პროდუქტების დონორების HCV ინფექციაზე ტესტირება, მხოლოდ ანტისხეულებზე კვლევას ითვალისწინებს. სერონეგატიური ფანჯარა პერიოდის გათვალისწინებით, რეკომენდირებულია, დონორთა სავალდებულო ტესტირების დღეს არსებულ ალგორითმს, დაემატოს NAT ტესტირება ე.წ. ავზის მეთოდით. აღნიშნული ხელს შეუწყობს სერონეგატიურ პირებში HCV ინფექციის ადრეულ ეტაპზე გამოვლენას. ე.წ. ავზის მეთოდის გამოყენება მნიშვნელოვნად არ გაზრდის ხარჯებს, ხოლო შედეგად თავიდან აგვაცილებს დაინფიცირების შემთხვევებს.
- მაღალი რისკის ქცევის დონორების რიცხვს შესამცირებლად სასურველია მოხდეს ნებაყოფლობითი/უსასყიდლო დონაციის პოპულარიზაცია და წახალისება.

ლიტერატურა

- Acton, S., Rigotti, A., Landschulz, K. T., Xu, S., Hobbs, H. H., & Krieger, M. (1996). Identification of scavenger receptor SR-BI as a high density lipoprotein receptor. *Science*, *271*(5248), 518-520.
- Afdhal, N., Reddy, K. R., Nelson, D. R., Lawitz, E., Gordon, S. C., Schiff, E., et al. (2014). Ledipasvir and sofosbuvir for previously treated HCV genotype 1 infection. *N Engl J Med*, *370*(16), 1483-1493.
- Alter, M. J. (1997a). The epidemiology of acute and chronic hepatitis C. *Clin Liver Dis*, *1*(3), 559-568, vi-vii.
- Alter, M. J. (1997b). Epidemiology of hepatitis C. *Hepatology*, *26*(3 Suppl 1), 62S-65S.
- Alter, M. J. (2006). Epidemiology of viral hepatitis and HIV co-infection. *J Hepatol*, *44*(1 Suppl), S6-9.
- Alter, M. J. (2007). Epidemiology of hepatitis C virus infection. *World J Gastroenterol*, *13*(17), 2436-2441.
- Alter, M. J., Kruszon-Moran, D., Nainan, O. V., McQuillan, G. M., Gao, F., Moyer, L. A., et al. (1999). The prevalence of hepatitis C virus infection in the United States, 1988 through 1994. *N Engl J Med*, *341*(8), 556-562.
- Antoszewski, B., Sitek, A., Jedrzejczak, M., Kasielska, A., & Kruk-Jeromin, J. (2006). Are body piercing and tattooing safe fashions? *Eur J Dermatol*, *16*(5), 572-575.
- Armstrong, G. L., Wasley, A., Simard, E. P., McQuillan, G. M., Kuhnert, W. L., & Alter, M. J. (2006). The prevalence of hepatitis C virus infection in the United States, 1999 through 2002. *Ann Intern Med*, *144*(10), 705-714.
- Badridze, N., Chkhartishvili, N., Abutidze, A., Gatsrelia, L., & Sharvadze, L. (2008). Prevalence of hepatitis B and C among HIV positive patients in Georgia and its associated risk factors. *Georgian Med News*(165), 54-60.
- Bain, C., Fatmi, A., Zoulim, F., Zarski, J. P., Trepo, C., & Inchauspe, G. (2001). Impaired allostimulatory function of dendritic cells in chronic hepatitis C infection. *Gastroenterology*, *120*(2), 512-524.
- Barril, G., Castillo, I., Arenas, M. D., Espinosa, M., Garcia-Valdecasas, J., Garcia-Fernandez, N., et al. (2008). Occult hepatitis C virus infection among hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol*, *19*(12), 2288-2292.

- Bartosch, B., Vitelli, A., Granier, C., Goujon, C., Dubuisson, J., Pascale, S., et al. (2003). Cell entry of hepatitis C virus requires a set of co-receptors that include the CD81 tetraspanin and the SR-B1 scavenger receptor. *J Biol Chem*, 278(43), 41624-41630.
- Blatt, L. M., Mutchnick, M. G., Tong, M. J., Klion, F. M., Lebovics, E., Freilich, B., et al. (2000). Assessment of hepatitis C virus RNA and genotype from 6807 patients with chronic hepatitis C in the United States. *J Viral Hepat*, 7(3), 196-202.
- Bravo, A. A., Sheth, S. G., & Chopra, S. (2001). Liver biopsy. *N Engl J Med*, 344(7), 495-500.
- Bukh, J., Miller, R. H., & Purcell, R. H. (1995). Genetic heterogeneity of hepatitis C virus: quasispecies and genotypes. *Semin Liver Dis*, 15(1), 41-63.
- Carrat, F., Bani-Sadr, F., Pol, S., Rosenthal, E., Lunel-Fabiani, F., Benzekri, A., et al. (2004). Pegylated interferon alfa-2b vs standard interferon alfa-2b, plus ribavirin, for chronic hepatitis C in HIV-infected patients: a randomized controlled trial. *JAMA*, 292(23), 2839-2848.
- Carreno, V., Bartolome, J., Castillo, I., & Quiroga, J. A. (2012). New perspectives in occult hepatitis C virus infection. *World J Gastroenterol*, 18(23), 2887-2894.
- Castillo, I., Pardo, M., Bartolome, J., Ortiz-Movilla, N., Rodriguez-Inigo, E., de Lucas, S., et al. (2004). Occult hepatitis C virus infection in patients in whom the etiology of persistently abnormal results of liver-function tests is unknown. *J Infect Dis*, 189(1), 7-14.
- CDC. (1998). Recommendations for Prevention and Control of Hepatitis C Virus (HCV) Infection and HCV-Related Chronic Disease. *Morbidity and Mortality Weekly Report*(US Department of Health and Human Services), 47.
- Chang, K. M., Thimme, R., Melpolder, J. J., Oldach, D., Pemberton, J., Moorhead-Loudis, J., et al. (2001). Differential CD4(+) and CD8(+) T-cell responsiveness in hepatitis C virus infection. *Hepatology*, 33(1), 267-276.
- Charlton, M., Everson, G. T., Flamm, S. L., Kumar, P., Landis, C., Brown, R. S., Jr., et al. (2015). Ledipasvir and Sofosbuvir Plus Ribavirin for Treatment of HCV Infection in Patients With Advanced Liver Disease. *Gastroenterology*, 149(3), 649-659.
- Chemello, L., Cavalletto, L., Bernardinello, E., Guido, M., Pontisso, P., & Alberti, A. (1995). The effect of interferon alfa and ribavirin combination therapy in naive patients with chronic hepatitis C. *J Hepatol*, 23 Suppl 2, 8-12.
- Chung, R. T., Andersen, J., Volberding, P., Robbins, G. K., Liu, T., Sherman, K. E., et al. (2004). Peginterferon Alfa-2a plus ribavirin versus interferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C in HIV-coinfected persons. *N Engl J Med*, 351(5), 451-459.

- Coste, J., Reesink, H. W., Engelfriet, C. P., Laperche, S., Brown, S., Busch, M. P., et al. (2005). Implementation of donor screening for infectious agents transmitted by blood by nucleic acid technology: update to 2003. *Vox Sang*, 88(4), 289-303.
- Cox, A. L., Netski, D. M., Mosbrugger, T., Sherman, S. G., Strathdee, S., Ompad, D., et al. (2005). Prospective evaluation of community-acquired acute-phase hepatitis C virus infection. *Clin Infect Dis*, 40(7), 951-958.
- Daniele, B., Bencivenga, A., Megna, A. S., & Tinessa, V. (2004). Alpha-fetoprotein and ultrasonography screening for hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology*, 127(5 Suppl 1), S108-112.
- Davila, J. A., Morgan, R. O., Shaib, Y., McGlynn, K. A., & El-Serag, H. B. (2004). Hepatitis C infection and the increasing incidence of hepatocellular carcinoma: a population-based study. *Gastroenterology*, 127(5), 1372-1380.
- De Francesco, R. (1999). Molecular virology of the hepatitis C virus. *J Hepatol*, 31 Suppl 1, 47-53.
- de Ledinghen, V., Douvin, C., Kettaneh, A., Ziol, M., Roulot, D., Marcellin, P., et al. (2006). Diagnosis of hepatic fibrosis and cirrhosis by transient elastography in HIV/hepatitis C virus-coinfected patients. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 41(2), 175-179.
- Demetriou, V. L., Kyriakou, E., & Kostrikis, L. G. (2011). Near-full genome characterisation of two natural intergenotypic 2k/1b recombinant hepatitis C virus isolates. *Adv Virol*, 2011, 710438.
- Diago, M., Castellano, G., Garcia-Samaniego, J., Perez, C., Fernandez, I., Romero, M., et al. (2006). Association of pretreatment serum interferon gamma inducible protein 10 levels with sustained virological response to peginterferon plus ribavirin therapy in genotype 1 infected patients with chronic hepatitis C. *Gut*, 55(3), 374-379.
- Firdaus, R., Saha, K., Biswas, A., & Sadhukhan, P. C. (2015). Current molecular methods for the detection of hepatitis C virus in high risk group population: A systematic review. *World J Virol*, 4(1), 25-32.
- Frank, C., Mohamed, M. K., Strickland, G. T., Lavanchy, D., Arthur, R. R., Magder, L. S., et al. (2000). The role of parenteral antischistosomal therapy in the spread of hepatitis C virus in Egypt. *Lancet*, 355(9207), 887-891.
- Fraser, J., Boo, I., Pournourios, P., & Drummer, H. E. (2011). Hepatitis C virus (HCV) envelope glycoproteins E1 and E2 contain reduced cysteine residues essential for virus entry. *J Biol Chem*, 286(37), 31984-31992.
- Garcia, G., & Keeffe, E. B. (2001). Liver biopsy in chronic hepatitis C: routine or selective. *Am J Gastroenterol*, 96(11), 3053-3055.

- Gerlach, J. T., Diepolder, H. M., Zachoval, R., Gruener, N. H., Jung, M. C., Ulsenheimer, A., et al. (2003). Acute hepatitis C: high rate of both spontaneous and treatment-induced viral clearance. *Gastroenterology*, *125*(1), 80-88.
- Glynn, S. A., Wright, D. J., Kleinman, S. H., Hirschhorn, D., Tu, Y., Heldebrant, C., et al. (2005). Dynamics of viremia in early hepatitis C virus infection. *Transfusion*, *45*(6), 994-1002.
- Gremion, C., & Cerny, A. (2005). Hepatitis C virus and the immune system: a concise review. *Rev Med Virol*, *15*(4), 235-268.
- Gremion, C., Grabscheid, B., Wolk, B., Moradpour, D., Reichen, J., Pichler, W., et al. (2004). Cytotoxic T lymphocytes derived from patients with chronic hepatitis C virus infection kill bystander cells via Fas-FasL interaction. *J Virol*, *78*(4), 2152-2157.
- Gruener, N. H., Gerlach, T. J., Jung, M. C., Diepolder, H. M., Schirren, C. A., Schraut, W. W., et al. (2000). Association of hepatitis C virus-specific CD8+ T cells with viral clearance in acute hepatitis C. *J Infect Dis*, *181*(5), 1528-1536.
- Gupta, G., Qin, H., & Song, J. (2012). Intrinsically unstructured domain 3 of hepatitis C Virus NS5A forms a "fuzzy complex" with VAPB-MSP domain which carries ALS-causing mutations. *PLoS One*, *7*(6), e39261.
- Hadziyannis, S. J., Sette, H., Jr., Morgan, T. R., Balan, V., Diago, M., Marcellin, P., et al. (2004). Peginterferon-alpha2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann Intern Med*, *140*(5), 346-355.
- Hajarizadeh, B., Grebely, J., Applegate, T., Matthews, G. V., Amin, J., Petoumenos, K., et al. (2014). Dynamics of HCV RNA levels during acute hepatitis C virus infection. *J Med Virol*, *86*(10), 1722-1729.
- Hajarizadeh, B., Grebely, J., & Dore, G. J. (2012). Case definitions for acute hepatitis C virus infection: a systematic review. *J Hepatol*, *57*(6), 1349-1360.
- Hajarizadeh, B., Grebely, J., & Dore, G. J. (2013). Epidemiology and natural history of HCV infection. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, *10*(9), 553-562.
- HIN. (2002a). Management of Hepatitis C. *Hepatology*(Consensus Development Conference Statement).
- HIN. (2002b). Publication.
- HIN. (2002c). Publication. No.02-4230.
- Hoofnagle, J. H. (2004). Hepatocellular carcinoma: summary and recommendations. *Gastroenterology*, *127*(5 Suppl 1), S319-323.

- Houghton M, B. F., Knipe DM, Howley PM. (1996). Hepatitis C viruses. *Fields Virology*(3rd), 1035-1058.
- Jaeckel, E., Cornberg, M., Wedemeyer, H., Santantonio, T., Mayer, J., Zankel, M., et al. (2001). Treatment of acute hepatitis C with interferon alfa-2b. *N Engl J Med*, 345(20), 1452-1457.
- Jauncey, M., Micallef, J. M., Gilmour, S., Amin, J., White, P. A., Rawlinson, W., et al. (2004). Clearance of hepatitis C virus after newly acquired infection in injection drug users. *J Infect Dis*, 190(7), 1270-1274.
- Jin, Z., Leveque, V., Ma, H., Johnson, K. A., & Klumpp, K. (2012). Assembly, purification, and pre-steady-state kinetic analysis of active RNA-dependent RNA polymerase elongation complex. *J Biol Chem*, 287(13), 10674-10683.
- Kalinina, O., Norder, H., Mukomolov, S., & Magnius, L. O. (2002). A natural intergenotypic recombinant of hepatitis C virus identified in St. Petersburg. *J Virol*, 76(8), 4034-4043.
- Karchava, M., Waldenstrom, J., Parker, M., Hallack, R., Sharvadze, L., Gatsereia, L., et al. (2015). High incidence of the hepatitis C virus recombinant 2k/1b in Georgia: Recommendations for testing and treatment. *Hepatol Res*, 45(13), 1292-1298.
- Kato, N., Sekiya, H., Ootsuyama, Y., Nakazawa, T., Hijikata, M., Ohkoshi, S., et al. (1993). Humoral immune response to hypervariable region 1 of the putative envelope glycoprotein (gp70) of hepatitis C virus. *J Virol*, 67(7), 3923-3930.
- Kim, W. R. (2002). The burden of hepatitis C in the United States. *Hepatology*, 36(5 Suppl 1), S30-34.
- Kountouras, J., Zavos, C., & Chatzopoulos, D. (2003). Apoptosis in hepatitis C. *J Viral Hepat*, 10(5), 335-342.
- Koziel, M. J. (2005). Cellular immune responses against hepatitis C virus. *Clin Infect Dis*, 41 Suppl 1, S25-31.
- Kuniholm, M. H., Aladashvili, M., Del Rio, C., Stvilia, K., Gabelia, N., Chitale, R. A., et al. (2008). Not all injection drug users are created equal: heterogeneity of HIV, hepatitis C virus, and hepatitis B virus infection in Georgia. *Subst Use Misuse*, 43(10), 1424-1437.
- Lagging, M., Romero, A. I., Westin, J., Norkrans, G., Dhillon, A. P., Pawlotsky, J. M., et al. (2006). IP-10 predicts viral response and therapeutic outcome in difficult-to-treat patients with HCV genotype 1 infection. *Hepatology*, 44(6), 1617-1625.
- Lam, B. P., Jeffers, T., Younoszai, Z., Fazel, Y., & Younossi, Z. M. (2015). The changing landscape of hepatitis C virus therapy: focus on interferon-free treatment. *Therap Adv Gastroenterol*, 8(5), 298-312.

- Laskus, T., Radkowski, M., Wang, L. F., Nowicki, M., & Rakela, J. (2000). Uneven distribution of hepatitis C virus quasispecies in tissues from subjects with end-stage liver disease: confounding effect of viral adsorption and mounting evidence for the presence of low-level extrahepatic replication. *J Virol*, *74*(2), 1014-1017.
- Lauer, G. M., Lucas, M., Timm, J., Ouchi, K., Kim, A. Y., Day, C. L., et al. (2005). Full-breadth analysis of CD8+ T-cell responses in acute hepatitis C virus infection and early therapy. *J Virol*, *79*(20), 12979-12988.
- Lauer, G. M., & Walker, B. D. (2001). Hepatitis C virus infection. *N Engl J Med*, *345*(1), 41-52.
- Lavanchy, D. (2009). The global burden of hepatitis C. *Liver Int*, *29 Suppl 1*, 74-81.
- Lechner, F., Wong, D. K., Dunbar, P. R., Chapman, R., Chung, R. T., Dohrenwend, P., et al. (2000). Analysis of successful immune responses in persons infected with hepatitis C virus. *J Exp Med*, *191*(9), 1499-1512.
- Legrand-Abravanel, F., Claudinon, J., Nicot, F., Dubois, M., Chapuy-Regaud, S., Sandres-Saune, K., et al. (2007). New natural intergenotypic (2/5) recombinant of hepatitis C virus. *J Virol*, *81*(8), 4357-4362.
- Lehmann, M., Meyer, M. F., Monazahian, M., Tillmann, H. L., Manns, M. P., & Wedemeyer, H. (2004). High rate of spontaneous clearance of acute hepatitis C virus genotype 3 infection. *J Med Virol*, *73*(3), 387-391.
- Lemon SM, B. E., Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, . (1995). Hepatitis C virus. *Principle and Practice of Infectious Disease*, (Fourth), 1474-1486.
- Lerat, H., Rumin, S., Habersetzer, F., Berby, F., Trabaud, M. A., Trepo, C., et al. (1998). In vivo tropism of hepatitis C virus genomic sequences in hematopoietic cells: influence of viral load, viral genotype, and cell phenotype. *Blood*, *91*(10), 3841-3849.
- Lewis-Ximenez, L. L., Lauer, G. M., Schulze Zur Wiesch, J., de Sousa, P. S., Ginuino, C. F., Paranhos-Baccala, G., et al. (2010). Prospective follow-up of patients with acute hepatitis C virus infection in Brazil. *Clin Infect Dis*, *50*(9), 1222-1230.
- Liang, T. J., Rehermann, B., Seeff, L. B., & Hoofnagle, J. H. (2000). Pathogenesis, natural history, treatment, and prevention of hepatitis C. *Ann Intern Med*, *132*(4), 296-305.
- Liu, L., Fisher, B. E., Thomas, D. L., Cox, A. L., & Ray, S. C. (2012). Spontaneous clearance of primary acute hepatitis C virus infection correlated with high initial viral RNA level and rapid HVR1 evolution. *Hepatology*, *55*(6), 1684-1691.
- Locatelli, G. A., Gosselin, G., Spadari, S., & Maga, G. (2001). Hepatitis C virus NS3 NTPase/helicase: different stereoselectivity in nucleoside triphosphate utilisation suggests

- that NTPase and helicase activities are coupled by a nucleotide-dependent rate limiting step. *J Mol Biol*, 313(4), 683-694.
- MacDonald, A. J., Duffy, M., Brady, M. T., McKiernan, S., Hall, W., Hegarty, J., et al. (2002). CD4 T helper type 1 and regulatory T cells induced against the same epitopes on the core protein in hepatitis C virus-infected persons. *J Infect Dis*, 185(6), 720-727.
- Maheshwari, A., Ray, S., & Thuluvath, P. J. (2008). Acute hepatitis C. *Lancet*, 372(9635), 321-332.
- Mandell, D., and Bennett's. (2005). Principles and Practice of Infectious Diseases. *Elsevier Churchill Livingstone*(Sixth edition), pg. 1960-1961.
- Manns, M. P., McHutchison, J. G., Gordon, S. C., Rustgi, V. K., Shiffman, M., Reindollar, R., et al. (2001). Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. *Lancet*, 358(9286), 958-965.
- Marinho, R. T., Vitor, S., & Velosa, J. (2014). Benefits of curing hepatitis C infection. *J Gastrointestin Liver Dis*, 23(1), 85-90.
- Martin-Carbonero, L., Soriano, V., Valencia, E., Garcia-Samaniego, J., Lopez, M., & Gonzalez-Lahoz, J. (2001). Increasing impact of chronic viral hepatitis on hospital admissions and mortality among HIV-infected patients. *AIDS Res Hum Retroviruses*, 17(16), 1467-1471.
- Mast, E. E., Hwang, L. Y., Seto, D. S., Nolte, F. S., Nainan, O. V., Wurtzel, H., et al. (2005). Risk factors for perinatal transmission of hepatitis C virus (HCV) and the natural history of HCV infection acquired in infancy. *J Infect Dis*, 192(11), 1880-1889.
- McCarron, B., Main, J., & Thomas, H. C. (1998). Molecular and therapeutic advances in the management of chronic hepatitis B and C. *Curr Opin Infect Dis*, 11(5), 555-564.
- McGovern, B. H., Birch, C. E., Bowen, M. J., Reyor, L. L., Nagami, E. H., Chung, R. T., et al. (2009). Improving the diagnosis of acute hepatitis C virus infection with expanded viral load criteria. *Clin Infect Dis*, 49(7), 1051-1060.
- McGovern, B. H., Wurcel, A., Kim, A. Y., Schulze zur Wiesch, J., Bica, I., Zaman, M. T., et al. (2006). Acute hepatitis C virus infection in incarcerated injection drug users. *Clin Infect Dis*, 42(12), 1663-1670.
- McHutchison, J. G., Gordon, S. C., Schiff, E. R., Shiffman, M. L., Lee, W. M., Rustgi, V. K., et al. (1998). Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin as initial treatment for chronic hepatitis C. Hepatitis Interventional Therapy Group. *N Engl J Med*, 339(21), 1485-1492.
- McHutchison, J. G., Poynard, T., Pianko, S., Gordon, S. C., Reid, A. E., Dienstag, J., et al. (2000). The impact of interferon plus ribavirin on response to therapy in black patients with chronic

- hepatitis C. The International Hepatitis Interventional Therapy Group. *Gastroenterology*, 119(5), 1317-1323.
- Meyer, M. F., Lehmann, M., Cornberg, M., Wiegand, J., Manns, M. P., Klade, C., et al. (2007). Clearance of low levels of HCV viremia in the absence of a strong adaptive immune response. *Virology*, 4, 58.
- Micallef, J. M., Kaldor, J. M., & Dore, G. J. (2006). Spontaneous viral clearance following acute hepatitis C infection: a systematic review of longitudinal studies. *J Viral Hepat*, 13(1), 34-41.
- Mitruka, K., Tsertsvadze, T., Butsashvili, M., Gamkrelidze, A., Sabelashvili, P., Adamia, E., et al. (2015). Launch of a Nationwide Hepatitis C Elimination Program--Georgia, April 2015. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 64(28), 753-757.
- Mondelli, M. U., & Silini, E. (1999). Clinical significance of hepatitis C virus genotypes. *J Hepatol*, 31 Suppl 1, 65-70.
- Monga, H. K., Rodriguez-Barradas, M. C., Breaux, K., Khattak, K., Troisi, C. L., Velez, M., et al. (2001). Hepatitis C virus infection-related morbidity and mortality among patients with human immunodeficiency virus infection. *Clin Infect Dis*, 33(2), 240-247.
- Moradpour, D. (2004). Hepatology highlights: viral hepatitis. *Hepatology*(40), 4-5.
- Moradpour, D., Penin, F., & Rice, C. M. (2007). Replication of hepatitis C virus. *Nat Rev Microbiol*, 5(6), 453-463.
- Mosley, J. W., Operskalski, E. A., Tobler, L. H., Andrews, W. W., Phelps, B., Dockter, J., et al. (2005). Viral and host factors in early hepatitis C virus infection. *Hepatology*, 42(1), 86-92.
- Munier, A., Marzouk, D., Abravanel, F., El-Daly, M., Taylor, S., Mamdouh, R., et al. (2013). Frequent transient hepatitis C viremia without seroconversion among healthcare workers in Cairo, Egypt. *PLoS One*, 8(2), e57835.
- Napoli, N., Giannelli, G., Parisi, C. V., Antonaci, A., Maddalena, G., & Antonaci, S. (2005). Predictive value of early virological response to treatment with different interferon-based regimens plus ribavirin in patients with chronic hepatitis C. *New Microbiol*, 28(1), 13-21.
- Navas, S., Martin, J., Quiroga, J. A., Castillo, I., & Carreno, V. (1998). Genetic diversity and tissue compartmentalization of the hepatitis C virus genome in blood mononuclear cells, liver, and serum from chronic hepatitis C patients. *J Virol*, 72(2), 1640-1646.
- Neumann, A. U., Lam, N. P., Dahari, H., Gretch, D. R., Wiley, T. E., Layden, T. J., et al. (1998). Hepatitis C viral dynamics in vivo and the antiviral efficacy of interferon-alpha therapy. *Science*, 282(5386), 103-107.

- Nolte, F. S., Green, A. M., Fiebelkorn, K. R., Caliendo, A. M., Sturchio, C., Grunwald, A., et al. (2003). Clinical evaluation of two methods for genotyping hepatitis C virus based on analysis of the 5' noncoding region. *J Clin Microbiol*, 41(4), 1558-1564.
- Ogarkov, P. I., Malyshev, V. V., Tokmakov, V. S., & Smirnov, A. V. (2004). Epidemiological features of virus hepatitis in the Russian Army. *Minerva Gastroenterol Dietol*, 50(2), 165-169.
- Panos, G., Samonis, G., Alexiou, V. G., Kavarnou, G. A., Charatsis, G., & Falagas, M. E. (2008). Mortality and morbidity of HIV infected patients receiving HAART: a cohort study. *Curr HIV Res*, 6(3), 257-260.
- Pawlotsky, J. M. (1999). Diagnostic tests for hepatitis C. *J Hepatol*, 31 Suppl 1, 71-79.
- Peterson, J., Green, G., Iida, K., Caldwell, B., Kerrison, P., Bernich, S., et al. (2000). Detection of hepatitis C core antigen in the antibody negative 'window' phase of hepatitis C infection. *Vox Sang*, 78(2), 80-85.
- Ploss, A., & Evans, M. J. (2012). Hepatitis C virus host cell entry. *Curr Opin Virol*, 2(1), 14-19.
- Popescu, C. I., Callens, N., Trinel, D., Roingeard, P., Moradpour, D., Descamps, V., et al. (2011). NS2 protein of hepatitis C virus interacts with structural and non-structural proteins towards virus assembly. *PLoS Pathog*, 7(2), e1001278.
- Post, J. J., Pan, Y., Freeman, A. J., Harvey, C. E., White, P. A., Palladinetti, P., et al. (2004). Clearance of hepatitis C viremia associated with cellular immunity in the absence of seroconversion in the hepatitis C incidence and transmission in prisons study cohort. *J Infect Dis*, 189(10), 1846-1855.
- Poynard, T., Leroy, V., Cohard, M., Thevenot, T., Mathurin, P., Opolon, P., et al. (1996). Meta-analysis of interferon randomized trials in the treatment of viral hepatitis C: effects of dose and duration. *Hepatology*, 24(4), 778-789.
- Purcell, R. H. (1994). Hepatitis C virus: historical perspective and current concepts. *FEMS Microbiol Rev*, 14(3), 181-191.
- Purcell RH, W. R., Granoff A. (1994). Hepatitis C virus. *Encyclopedia of Virology*(London, Academic Press Ltd), 569-574.
- Quinn, T. C. (2008). HIV epidemiology and the effects of antiviral therapy on long-term consequences. *AIDS*, 22 Suppl 3, S7-12.
- Raghwani, J., Thomas, X. V., Koekkoek, S. M., Schinkel, J., Molenkamp, R., van de Laar, T. J., et al. (2012). Origin and evolution of the unique hepatitis C virus circulating recombinant form 2k/1b. *J Virol*, 86(4), 2212-2220.

- Rehermann, B., Chang, K. M., McHutchinson, J., Kokka, R., Houghton, M., Rice, C. M., et al. (1996). Differential cytotoxic T-lymphocyte responsiveness to the hepatitis B and C viruses in chronically infected patients. *J Virol*, 70(10), 7092-7102.
- Richards, D. C., Mikiashvili, T., Parris, J. J., Kourbatova, E. V., Wilson, J. C., Shubladze, N., et al. (2006). High prevalence of hepatitis C virus but not HIV co-infection among patients with tuberculosis in Georgia. *Int J Tuberc Lung Dis*, 10(4), 396-401.
- Rigat, K., Wang, Y., Hudyma, T. W., Ding, M., Zheng, X., Gentles, R. G., et al. (2010). Ligand-induced changes in hepatitis C virus NS5B polymerase structure. *Antiviral Res*, 88(2), 197-206.
- Ross, R. S., Viazov, S. O., Holtzer, C. D., Beyou, A., Monnet, A., Mazure, C., et al. (2000). Genotyping of hepatitis C virus isolates using CLIP sequencing. *J Clin Microbiol*, 38(10), 3581-3584.
- Rubbia-Brandt, L., Fabris, P., Paganin, S., Leandro, G., Male, P. J., Giostra, E., et al. (2004). Steatosis affects chronic hepatitis C progression in a genotype specific way. *Gut*, 53(3), 406-412.
- Rubbia-Brandt, L., Quadri, R., Abid, K., Giostra, E., Male, P. J., Mentha, G., et al. (2000). Hepatocyte steatosis is a cytopathic effect of hepatitis C virus genotype 3. *J Hepatol*, 33(1), 106-115.
- S, D. E. N., & Colombo, M. (2016). The eradication of HCV. *Minerva Gastroenterol Dietol*, 62(1), 63-75.
- Scott, J. D., McMahon, B. J., Bruden, D., Sullivan, D., Homan, C., Christensen, C., et al. (2006). High rate of spontaneous negativity for hepatitis C virus RNA after establishment of chronic infection in Alaska Natives. *Clin Infect Dis*, 42(7), 945-952.
- Selby, M., Erickson, A., Dong, C., Cooper, S., Parham, P., Houghton, M., et al. (1999). Hepatitis C virus envelope glycoprotein E1 originates in the endoplasmic reticulum and requires cytoplasmic processing for presentation by class I MHC molecules. *J Immunol*, 162(2), 669-676.
- Seme, K., Poljak, M., Babic, D. Z., Mocilnik, T., & Vince, A. (2005). The role of core antigen detection in management of hepatitis C: a critical review. *J Clin Virol*, 32(2), 92-101.
- Sharaf Eldin, N., Ismail, S., Mansour, H., Rekeciewicz, C., El-Houssinie, M., El-Kafrawy, S., et al. (2008). Symptomatic acute hepatitis C in Egypt: diagnosis, spontaneous viral clearance, and delayed treatment with 12 weeks of pegylated interferon alfa-2a. *PLoS One*, 3(12), e4085.

- Sharvadze, L., Nelson, K. E., Imnadze, P., Karchava, M., & Tsertsvadze, T. (2008). Prevalence of HCV and genotypes distribution in general population of Georgia. *Georgian Med News*(165), 71-77.
- Shepard, C. W., Finelli, L., & Alter, M. J. (2005). Global epidemiology of hepatitis C virus infection. *Lancet Infect Dis*, 5(9), 558-567.
- Sherlok S, D. J. (1997). Diseases of the liver and biliary system. *Blackweil Science*(Tenth Edition).
- Shiffman, M. L., Di Bisceglie, A. M., Lindsay, K. L., Morishima, C., Wright, E. C., Everson, G. T., et al. (2004). Peginterferon alfa-2a and ribavirin in patients with chronic hepatitis C who have failed prior treatment. *Gastroenterology*, 126(4), 1015-1023; discussion 1947.
- Simmonds, P. (1999). Viral heterogeneity of the hepatitis C virus. *J Hepatol*, 31 Suppl 1, 54-60.
- Simmonds, P., Holmes, E. C., Cha, T. A., Chan, S. W., McOmish, F., Irvine, B., et al. (1993). Classification of hepatitis C virus into six major genotypes and a series of subtypes by phylogenetic analysis of the NS-5 region. *J Gen Virol*, 74 (Pt 11), 2391-2399.
- Solary, E., Dubrez, L., & Eymin, B. (1996). The role of apoptosis in the pathogenesis and treatment of diseases. *Eur Respir J*, 9(6), 1293-1305.
- Soriano, V., Labarga, P., Barreiro, P., Fernandez-Montero, J. V., de Mendoza, C., Esposito, I., et al. (2015). Drug interactions with new hepatitis C oral drugs. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, 11(3), 333-341.
- Stamataki, Z., Shannon-Lowe, C., Shaw, J., Mutimer, D., Rickinson, A. B., Gordon, J., et al. (2009). Hepatitis C virus association with peripheral blood B lymphocytes potentiates viral infection of liver-derived hepatoma cells. *Blood*, 113(3), 585-593.
- Steinmann, E., Penin, F., Kallis, S., Patel, A. H., Bartenschlager, R., & Pietschmann, T. (2007). Hepatitis C virus p7 protein is crucial for assembly and release of infectious virions. *PLoS Pathog*, 3(7), e103.
- Stramer, S. L., Glynn, S. A., Kleinman, S. H., Strong, D. M., Caglioti, S., Wright, D. J., et al. (2004). Detection of HIV-1 and HCV infections among antibody-negative blood donors by nucleic acid-amplification testing. *N Engl J Med*, 351(8), 760-768.
- Stvilia K, M. M., Tsertsvadze T, Sharvadze L, Dzigua L. (2005). Prevalence of HBV and HCV infections and high risk behavior for blood born infections among general population of Tbilisi, Georgia *ANNALS of biomedical research and education*, 5 (4), 263-265.
- Stvilia, K., Tsertsvadze, T., Sharvadze, L., Aladashvili, M., del Rio, C., Kuniholm, M. H., et al. (2006). Prevalence of hepatitis C, HIV, and risk behaviors for blood-borne infections: a

- population-based survey of the adult population of T'bilisi, Republic of Georgia. *J Urban Health*, 83(2), 289-298.
- Takeuchi, K., Boonmar, S., Kubo, Y., Katayama, T., Harada, H., Ohbayashi, A., et al. (1990). Hepatitis C viral cDNA clones isolated from a healthy carrier donor implicated in post-transfusion non-A, non-B hepatitis. *Gene*, 91(2), 287-291.
- Terrault, N. A. (2002). Sexual activity as a risk factor for hepatitis C. *Hepatology*, 36(5 Suppl 1), S99-105.
- Thomas, D. L. (2013). Global control of hepatitis C: where challenge meets opportunity. *Nat Med*, 19(7), 850-858.
- Tillmann, H. L. (2014). Hepatitis C virus core antigen testing: role in diagnosis, disease monitoring and treatment. *World J Gastroenterol*, 20(22), 6701-6706.
- Torriani, F. J., Rodriguez-Torres, M., Rockstroh, J. K., Lissen, E., Gonzalez-Garcia, J., Lazzarin, A., et al. (2004). Peginterferon Alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection in HIV-infected patients. *N Engl J Med*, 351(5), 438-450.
- Tsertsvadze, T., Karchava, M., Sharvadze, L., Gatsrelia, L., & Dolmazashvili, E. (2014). Discrepancy between HCV structural and non structural genes in Georgian genotype two patients. *Georgian Med News*(235), 74-78.
- Uto, H., Mawatari, S., Kumagai, K., Ido, A., & Tsubouchi, H. (2012). Clinical features of hepatitis C virus carriers with persistently normal alanine aminotransferase levels. *Hepat Mon*, 12(2), 77-84.
- Villano, S. A., Vlahov, D., Nelson, K. E., Cohn, S., & Thomas, D. L. (1999). Persistence of viremia and the importance of long-term follow-up after acute hepatitis C infection. *Hepatology*, 29(3), 908-914.
- Vispo, E., Barreiro, P., Plaza, Z., Fernandez-Montero, J. V., Labarga, P., de Mendoza, C., et al. (2014). Spontaneous hepatitis C virus clearance in HIV patients with chronic hepatitis C bearing IL28B-CC alleles using antiretroviral therapy. *AIDS*, 28(10), 1473-1478.
- Walters, K. A., Syder, A. J., Lederer, S. L., Diamond, D. L., Paeper, B., Rice, C. M., et al. (2009). Genomic analysis reveals a potential role for cell cycle perturbation in HCV-mediated apoptosis of cultured hepatocytes. *PLoS Pathog*, 5(1), e1000269.
- Welker, M. W., & Zeuzem, S. (2009). Occult hepatitis C: how convincing are the current data? *Hepatology*, 49(2), 665-675.
- Welsch, C., Jesudian, A., Zeuzem, S., & Jacobson, I. (2012). New direct-acting antiviral agents for the treatment of hepatitis C virus infection and perspectives. *Gut*, 61 Suppl 1, i36-46.

- WHO. (1999). Global surveillance and control of hepatitis C. Report of a WHO Consultation organized in collaboration with the Viral Hepatitis Prevention Board, Antwerp, Belgium. *J Viral Hepat*, 6(1), 35-47.
- WHO. (2013). Hepatitis C. *Fact sheet no. 164*. Geneva, Switzerland: World Health Organization Media Centre.
- WHO. (2014a). Guidelines for the screening, care and treatment of persons with hepatitis C infection *Guideline*(April).
- WHO. (2014b). Hepatitis C Fact Sheet. (Updated April 2014).
- Wyles, D., Pockros, P., Morelli, G., Younes, Z., Svarovskaia, E., Yang, J. C., et al. (2015). Ledipasvir-sofosbuvir plus ribavirin for patients with genotype 1 hepatitis C virus previously treated in clinical trials of sofosbuvir regimens. *Hepatology*, 61(6), 1793-1797.
- Yeh, C. T., Han, C. M., Lo, S. Y., Ou, J. H., Fan, K. D., Sheen, I. S., et al. (1994). Early detection of anti-HCc antibody in acute hepatitis C virus (HCV) by western blot (immunoblot) using a recombinant HCV core protein fragment. *J Clin Microbiol*, 32(9), 2235-2241.
- Younossi, Z. M., Stepanova, M., Marcellin, P., Afdhal, N., Kowdley, K. V., Zeuzem, S., et al. (2015). Treatment with ledipasvir and sofosbuvir improves patient-reported outcomes: Results from the ION-1, -2, and -3 clinical trials. *Hepatology*, 61(6), 1798-1808.
- Zaller, N., Nelson, K. E., Aladashvili, M., Badridze, N., del Rio, C., & Tsertsvadze, T. (2004). Risk factors for hepatitis C virus infection among blood donors in Georgia. *Eur J Epidemiol*, 19(6), 547-553.
- Zeisel, M. B., Barth, H., Schuster, C., & Baumert, T. F. (2009). Hepatitis C virus entry: molecular mechanisms and targets for antiviral therapy. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 14, 3274-3285.
- Zeuzem, S., Diago, M., Gane, E., Reddy, K. R., Pockros, P., Prati, D., et al. (2004). Peginterferon alfa-2a (40 kilodaltons) and ribavirin in patients with chronic hepatitis C and normal aminotransferase levels. *Gastroenterology*, 127(6), 1724-1732.
- Zeuzem, S., Dusheiko, G. M., Salupere, R., Mangia, A., Flisiak, R., Hyland, R. H., et al. (2014). Sofosbuvir and ribavirin in HCV genotypes 2 and 3. *N Engl J Med*, 370(21), 1993-2001.

დანართი 1. ინგლისური რეზიუმე

**Acute HCV infection, viral kinetics, immune response and disease outcome
among HCV monoinfected and HIV/HCV co-infected patients
in the country of Georgia**

PhD Thesis

Lana Gatsrelia

Tbilisi, 2016

Introduction

The hepatitis C virus (HCV) infection is one of the main causes of liver inflammation, liver disease, and liver cancer. It is estimated that about 170 million people, 3% of the world's population, are infected with HCV. HCV is RNA virus that belongs to the family of flaviviruses. It is transmitted through contact with the blood of an infected person. The natural targets of HCV are hepatocytes and, possibly, B lymphocytes. In most cases of infection (75%) the virus evades the immune system and establishes a chronic infection that ultimately leads to cirrhosis and liver carcinoma.

Although there is no protective vaccine against HCV, current treatment modalities offer high cure rates, which are expected to further improve with more powerful therapies currently in development. This has brought promise that HCV can be eliminated or more effectively prevented through treating patients with hepatitis C, a so called treatment as prevention strategy. However, there are serious challenges, including access to HCV testing, care and treatment services. For example, in the United States only half of the estimated 3.5 million people living with HCV infection were aware of their status and only 16% of them were prescribed treatment. The access is even more limited in resource-poor countries.

Despite the tremendous progress in the field of hepatitis C, knowledge about the natural course of acute disease since the very early days of infection remains limited. Acute HCV is frequently asymptomatic making it very difficult to identify patients early in the course of disease. Therefore, studying acute HCV infection, prior to their seroconversion, by detecting seronegative subjects who are HCV RNA positive is an important method of early detection and can provide additional insights into the immunology and virology of acute phase of the infection. From a public health standpoint, identification of factors associated with recent infection can help to better understand drivers of transmission in order to design preventive strategies. Altogether improved knowledge of recent HCV infection can contribute to the development of interventions that can prevent establishment of chronic infection.

The rate of HCV infection in Georgia is highest among Eastern European Countries. Based on population-based survey an estimated 6.7% of the adult population of the capital city of Tbilisi

has hepatitis C, with prevalence reaching 70% among IDUs. The other group found to be at risk of HCV in Georgia were paid blood donors, who have been identified to be at high risk of bloodborne infections in other settings as well.

The objective of the present study was to identify and characterize the course of recent HCV infection by identifying and prospectively studying patients who were HCV RNA positive prior to anti-HCV seroconversion.

Materials and methods

We conducted a four independent research studies. All subjects included in the research studies were obtained from Georgian Infectious Diseases, AIDS and Clinical Immunology Research Center and Georgian-French Joint Hepatology Clinic “Hepa”.

All studies were approved by the institutional review boards (IRB) of the Infectious Diseases, AIDS and Clinical Immunology Research Center and Johns Hopkins University (study 1). Informed written consent was obtained from all persons.

Study 1

Research design and characteristics of the individuals involved in the research:

We have held a 3-year prospective observational study to identify and follow patients with recent HCV infection, defined as detectable plasma HCV RNA in the absence of anti-HCV antibodies. For this purpose we tested anti-HCV seronegative blood donors and anti-HCV seronegative IDUs for qualitative detection of HCV RNA in plasma. Blood donors were initially screened for HCV at blood banks, while IDUs received their first HCV test at HIV testing and counseling sites.

We applied a mini-pool approach to screen for HCV RNA by testing a pool of 6 samples. Non-reactive pools were excluded from further investigation, while reactive pools were further resolved by testing each individual sample in the pool. Remaining individual blood specimens from initial screening were used for mini-pool testing.

Detection of HCV RNA in anti-HCV negative persons gave us the unique possibility to identify early HCV infection in the seronegative window period (before seroconversion) and to follow the natural course of disease.

All HCV RNA positive persons underwent additional investigations, including plasma HCV RNA quantification, HCV genotyping, ALT level determination and clinical examination immediately after identification their recent HCV infection. Patients were followed for 6 months and anti-HCV, viral load, ALT, bilirubin and clinical/physical examinations were repeated at 2, 4, 8, 12 and 24 weeks of follow-up.

Because of the risk of co-infections with HIV or HBV all patients with recent HCV infection were tested for infection with these viruses. However, none of them had either infection.

Spontaneous HCV clearance was defined as two consecutive negative HCV RNA results after a confirmed recent HCV infection. The time point when spontaneous viral clearance occurred was defined as the midpoint between the date of the last detectable measurement of HCV RNA and the date of the first of two consecutive samples with undetectable HCV RNA. The time point when anti-HCV seroconversion occurred was defined as the midpoint between the date of the last negative and the first positive anti-HCV test. All patients with recent infection were interviewed to collect demographic and epidemiological information.

Study 2

Research design and characteristics of the individuals involved in the research:

HIV-infected individuals with negative serological markers of viral hepatitis and with a high risk for HCV infection: 129 men who have sex with men (MSM) and 322 Injection Drug Users (IDUs) were prospectively investigated.

The main criteria for the involvement in the research was the confirmed diagnosis of HIV infection, high risk behavior for HCV, absence of antibodies to hepatitis C and clinical detection (jaundice, increased transaminases, Hepatomegaly, etc.) of hepatitis signs in some form. Such individuals were tested on HCV RNA by real time PCR. Positive HCV RNA confirmed diagnosis of acute HCV infection.

All the subjects included in the study were subjected for HCV genotyping and IL28B evaluation. HCV viral load was measured monthly during the follow-up period. A nine month period was determined for observing the patients and monitoring the virus. All patients were interviewed to collect demographic and epidemiological information.

Study 3

Research design and characteristics of the individuals involved in the research:

A total of 161 HIV infected patients who were repeatedly negative for HCV Ab and serum RNA were included in this study. We have selected three groups of subjects for analyses. Their mean age was 51 ± 12 years; Ninety-eight of them (group 1) were patients without evidence of liver disease. Selection criteria for group 1 were to being confirm HIV infection, negative for HBV, EBV, CMV infections and essentially free of symptoms or biochemical evidence of liver disease. Out of the recruited 63 patients, there were 34 HIV infected patients (group 2) with cryptogenic liver disease and 29 subjects (group 3) with HIV/HBV co infection.

All the subjects included in the study were subjected for evaluation of HCV-RNA and liver fibrosis score. Although hepatic tissue would be a preferable material for diagnosis of OCI, but liver biopsies was rarely available. Testing for HCV-RNA in PBMCs was an alternative and easy to do when a liver biopsy was not available. HCV genotypes and their distribution among the OCI detected patients were investigated in this study.

Study 4

Research design and characteristics of the individuals involved in the research:

For the research we used the blood samples kept at -70°C degree in the given clinics on which the written consent was received beforehand about the usage of their scientific studies. In addition, for the research we used the blood samples of the patients who addressed our clinics and started treatment for chronic hepatitis C, as well as the samples of the individuals who were diagnosed with HCV infection during the period.

Modern antiretroviral therapy (HAART) significantly reduced morbidity and mortality in HIV patients. However, HCV infection still remains as the main reason of death in this population. As it

is known, the side effect of antiviral therapy of hepatitis C is detected more in the individuals co-infected with HIV/HCV compared with HCV mono – infected individuals and the recovery percentage is significantly decreased and consists of 27-40%, in the first genotypes (G1) it is 14-29%.

In consideration of high cost treatment and the abovementioned information, it is important to detect the serological markers that are related to low recovery effect before starting the treatment for hepatitis C or at the initial stage of treatment. Through this way, we can save the patient from unwanted side effect of treatment and wasted costs.

Little information is found in literature about host's factors which increase the effect of hepatitis C antiviral treatment. There are specific data about HCV mono –infected individuals where the level of serum IP-10 is higher in non – responsive patients than in responsive ones in which the eradication of virus was carried out. This issue has not been studied in the case of co – infected patients and in the patients with new, acute HCV infection.

By considering the above, for the purpose of observation, in our research we used four target and one control group:

1. Chronic HCV mono infected individuals, who are started antiviral therapy (n=85);
2. Acute HCV mono infected individuals (n=11);
3. HIV/HCV co-infected individuals, who are started antiviral therapy (n=57);
4. HIV/HCV co-infected individuals, with acute HCV (n=7);
5. Healthy, non-infected volunteers (n=18).

Above mentioned study was conducted for 2 years. The subjects included in the study had compensated liver disease and were negative for HBsAg.

For all subjects included in the study were performed HCV and IL28B genotyping. HCV viral load, IP-10 level and ALT measurement were performed monthly during the follow-up period. Liver fibrosis was measured using non-invasive, rapid and reproducible method – transient elastography. All patients were interviewed to collect demographic and epidemiological information.

Laboratory methods:

HCV antibody screening. HCV antibodies were assayed by a third-generation test – Ortho HCV 3.0 ELISA (Ortho Clinical Diagnostic, USA).

Qualitative detection of HCV RNA was performed using COBAS AMPLICOR HCV Test, v2.0 (Roche Diagnostics, Germany) which has a lower detection limit of <50 IU/ml;

HCV viral load was measured using COBAS TaqMan HCV 2.0 Test (Roche Diagnostics, Germany) which has a lower detection limit of <10 IU/ml.

HCV genotyping. HCV genotyping was performed by reverse hybridization line probe assay using Versant HCV Genotyping v.2 kit (Siemens, Belgium).

IL28b single nucleotide polymorphisms in rs 12979860 were genotyped using real-time PCR methods (Sacace, Italy).

IP-10 measurement was performed by ELISA test kit- Human IP-10 (Invitrogen, Camarilo CA).

Liver fibrosis staging. Liver fibrosis was measured using non-invasive, rapid and reproducible method – transient elastography by FibroScan (Echosens, France). The median value per patient was expressed in kilopascal (kPa) units and evaluated by METAVIR score.

All laboratory assays were performed in accordance with the manufacturer's instructions.

Results

Study 1

A total of 7,600 HCV seronegative blood donors and 3,600 HCV seronegative IDUs were screened for recent HCV infection. Among them 7 (0.09%) blood donors and 10 (0.28%) IDUs tested positive for HCV RNA and were classified as having recent HCV infection.

17 patients with recent HCV infection were detected. Among them majority were men (88.2%) and their median age was 31 years. Twelve patients (including 2 blood donors) were infected through IDU (70.6%), one patient acquired HCV via sexual contact and the mode of transmission could not be determined in four patients (23.5%). Overall, 59% of patients were infected with an HCV

genotype 1 virus. Overall, 4 (23.5%) patients spontaneously cleared the virus by the end of the 24 week follow-up.

Two variants of symptomatic disease were identified. In 3 patients the disease was clinically manifested by jaundice and other clinical symptoms; while 1 patient only had other clinical symptoms without jaundice. Symptoms occurred after 4-8 weeks of follow-up. All 4 symptomatic patients had elevated levels of ALT, with median peak value of 1218 IU/l (range: 410-2050). Bilirubin was elevated in all 4 patients, ranging between 3.6-8.0 mg/dl at peak levels in patients with jaundice, and reaching 1.8 mg/dl in patient with other clinical symptoms only. All of these subjects experienced anti-HCV seroconversion after a median of 6 weeks (range: 3-10). Of these 4 patients, 2 spontaneously cleared the virus. One patient, carrying genotype 1b HCV, cleared the virus by week 12. In another patient with genotype 2a/2c virus plasma HCV RNA became negative at week 24.

Three distinct clinical and laboratory variants of asymptomatic disease were identified in 13 patients. The first group consisted of 9 patients with elevated levels of ALT (the peak median ALT value was 957 IU/l [range: 220-1685]). Three patients had slightly elevated levels of bilirubin not exceeding 2 mg/dl. All of these 9 patients experienced anti-HCV seroconversion and developed chronic disease.

Two asymptomatic patients seroconverted and developed chronic disease without elevation of ALT or bilirubin over the follow-up period. So, these two patients developed chronic HCV infection without any clinical or laboratory evidence of hepatitis during the observation period. The median time to seroconversion among 11 asymptomatic patients was 6 weeks (range: 3-18).

Two asymptomatic patients cleared the virus without anti-HCV seroconversion and without ALT elevation. One of these patients cleared the virus by week 2 (G 1b) and another by week 4 (G 3a). Both patients remained negative for plasma HCV RNA and anti-HCV at the week 24 evaluation. Thus these two cases can be described as transitory HCV viremia.

Analysis of HCV viral load dynamics showed that patients with transitory viremia had lower initial levels of viral load – 3.68 log₁₀ IU/ml in patient 1, who cleared the virus by week 2, and 3.92 log₁₀ IU/ml in patient 2 who cleared the virus by week 4. Among the other two patients who cleared the virus, the initial viral load was 4.27 log₁₀ IU/ml in patient 3 and 4.14 log₁₀ IU/ml in patient 4. Patient 3 and 4 achieved peak viral load at week 4 with 6.14 log₁₀ IU/ml and 5.87 log₁₀ IU/ml respectively. Patients with persistent infection had a slower pace of increase in the viral load, with

peak median value registered at week 8 – 6.10 log₁₀ IU/ml. A total of 9 patients with chronic infection had viral load values of at least 6 log₁₀ IU/ml over the follow-up.

Study 2

For detection of symptomatic acute HCV we investigate 451 HIV infected individuals with negative for anti HCV antibodies (129MSM and 322 IDUs). Among them 26 individuals tested positive for HCV RNA and were classified as having recent HCV infection.

In consideration of the specification (MSM and IDUs) of the groups selected for research, the absolute majority with acute HCV infection are men (99.9%) whose average age is 32. Out of them the source of infection of 9 patients is the consumption of drugs through injection (34, 6%), 17 patients got HCV through sexual ways (65, 4%). 38.5% of individuals infected with acute HCV have HCV G-1. 26,9% of patients have G-2 and 34.6% G-3. Based on a 36 week observation it can be said that self-recovery occurred in 7 out of 26 patients (26.9%), the remaining 19 (73.1%) patients developed chronic hepatitis C. According to HCV genetic types, the virus clearance was distributed in the following way: Elimination took place in two patients out of ten patients with 1b genotype – 20%. Out of seven patients with 2a/2c, two of them were cured – 28.6%. Virus self-clearance occurred in 33.3% of patients out of 9 patients with 3a genotype. Based on the above results it can be said that neither of genotypes included any advantage in spontaneous recovery from HCV.

It is noteworthy that during the process of our research the clearance from virus in one case was fixed not only within 6 months from the detection but on the 27th week of observation. As for the host's genetic factor, five were cured out of seven patients with IL28b C/C genotype – 71.4%, clearance occurred in two out of 9 patients with C/T genotypes – 22.2% and the patients with T/T genotype developed chronic hepatitis C.

Study 3

All HIV infected patients were negative for anti-HCV antibodies and for serum HCV RNA when they were enrolled in the study. Total 15 cases of OCI were found in our study. HCV-RNA was detected in PBMCs specimens among 2 subjects (2%) from 98 HIV infected individuals without evidence of liver disease (group 1), 4 subjects (12%) from 34 HIV infected patients with cryptogenic liver disease (group 2), and 9 subjects (31%) from 29 HIV/HBV co-infected patients (group 3). HCV genotypes were determined for 13 of 15 OCI subjects resulting following genotype distribution: 6 (46%) – 1b, 3 (23%) - 2a/2c and 5 (38%) – 3a. Two samples failed to be genotyped

due to extremely low HCV viral load. Fibrosis stage was evaluated in 152 patients, remaining patients failed due to overweight. Fibrosis stage distribution showed that in OCI negative patients main liver fibrosis score was F1, when OCI positive patients had F2 or more fibrosis score.

Study 4

In the research were totally involved 178 individuals divided into 5 groups whose average age is 38 ± 8 , Body Mass Index $25.6 \pm 4 \text{ kg/m}^2$.

Research participants' initial HCV median viral load was 900,000 Iu/ml (35,000 – 4,000,000). Initial median variable of serum IP – 10 in co – infected ($380 \pm 320\text{pg/ml}$) and mono – infected ($395 \pm 310 \text{ pg/ml}$) patients was more or less similar and in control group of healthy patients ($95 \pm 90\text{pg/ml}$) – significantly low. SVR was achieved in 58% (82/142) out of 142 patients under treatment, in 48% (35/73) out of G1 patients and in 68% (47/69) out of G2-3 patients., the serum IP-10 level of the patients who were on HAART was lower than the patients ($330 \pm 110\text{pg/ml}$ vs $650 \pm 80\text{pg/ml}$) who weren't not on HAART. And the patients who had effective HAART treatment (HIV RNA non determinable), their IP-10 level was increasingly low than the patients with determinable HIV RNA ($325 \pm 120\text{pg/ml}$ vs $480 \pm 130\text{pg/ml}$).

Within our research it was determined that in 60 out of 142 patients under treatment with whom SVR could not be achieved, the IP-10 level in serum was higher than in the 82 patients with whom SVR was achieved ($n=60, 500 \pm 300\text{pg/ml}$ vs $n=82, 290 \pm 100\text{pg/ml}$). The analysis inside the relapsers' group ($n=60$) showed that there is no significant difference ($n=34, 480 \pm 180\text{pg/ml}$ vs $n=26, 500 \pm 190\text{pg/ml}$) detected between non responsive patients (NR) ($n=34$) and relapsers (REL) ($n=26$) with regard to IP-10 level.

Within our research it was emphasized that the patients with low level of fibrosis and ALT, had the IP=10 level of serum significantly low too compared with the patients of high level of fibrosis and ALT. In addition, there was detected the regularity associated with viral load: the patients who had high HCV viral load ($>10\text{E}+6\text{IU/mL}$; $n=68$), the IP-10 level in serum was higher than the patients with low viral load ($<10\text{E}+6\text{IU/mL}$; $n=74$; $440 \pm 90\text{pg/ml}$ vs $320 \pm 110\text{pg/ml}$).

For Ip-10 we calculated the ultimate rate which is the predictor of SVR, the average variable (cutoff) of this rate was determined by 400pg/ml. With the use of this variable of cutoff (400pg/ml), we can suppose in 91% accuracy whether the virus elimination occurs or not if we get relapse.

Univariate and multivariate research analysis of the parameters associated with SVR showed that from the parameters received before treatment, only the initial HCV viral load indicator and IP-10 concentration in blood are in correlation with SVR. Among these two indicators, IP-10 is the predictor of the effect of the most powerful treatment.

Among all the parameters received before treatment after IL28B, Ip-10 level of serum is the predictor of the most powerful effect of treatment the sensitivity of which is 91% and specificity – 85%.

In our research, determining the IP-10 level in blood serum in both HCV monoinfected and HCV/HIV co – infected patients during acute HCV infection showed that the patients who cleared the virus, the IP-10 level was significantly low than with the patients who developed chronic HCV infection ($n=8/18; 380 \pm 60\text{pg/ml}$ vs $n=10/18 520 \pm 90\text{pg/ml}$).

Thus, during both chronic HCV infection and acute HCV infection, IP-10 level correlates to IL28B genotype. Based on this, in the patients with both mono and co-infection, IP-10 is considered as an important serological marker with high probability of cure from hepatitis C.

Discussion of the results:

Study 1

We report the results of a unique study that followed patients with recent HCV infection after the early days of infection. We were able to identify these cases among seronegative persons using qualitative PCR, which was further confirmed by quantification of HCV RNA in plasma. Our study described two very unusual trajectories of acute HCV infection which may be more common than have been appreciated in clinical studies.

The first is the case of transitory viremia, when 2 patients, positive for HCV RNA, spontaneously cleared the virus without developing any clinical symptoms, without ALT elevation and most surprisingly without anti-HCV seroconversion. In our study, one patient remained viremic for up to 2 weeks of follow-up, and another patient – for up to 4 weeks of follow-up. The duration of viremia in both studies was short, and therefore identification of these cases was possible only through special design applied in both studies. It is not surprising that cases of transitory HCV viremia have not been frequently identified since the majority of studies only use recent anti-HCV seroconversion and ALT elevation as key criteria for defining acute HCV infection. Given the

above mentioned difficulties related to identification of transitory viremia, it remains unknown how frequent transitory viremia and what are its clinical and public health implications or whether such patients have any immunity to subsequent HCV.

The other interesting form of acute HCV identified in our study was the two asymptomatic patients with recent infection who progressed to chronic hepatitis C without elevation of ALT. Both patients experienced seroconversion within the 24 weeks of follow-up. ALT elevation, as an evidence of clinical hepatitis, occurs shortly after the increase in the plasma HCV RNA levels. Although asymptomatic acute HCV infection is associated with lower levels of ALT compared to symptomatic disease, elevation of ALT is normally expected in established infection regardless of the initial clinical presentation. We could not identify a published description of a similar case with chronic infection and anti-HCV seroconversion, without ALT elevation.

With regard to other clinical forms of disease, 4 patients had symptomatic disease, including 3 patients who became jaundiced, and two of them spontaneously cleared the virus. Symptomatic disease, especially the occurrence of jaundice, has been shown to be associated with higher rates of spontaneous clearance of HCV. There were 9 asymptomatic patients with elevated levels of ALT and anti-HCV seroconversion, none of whom cleared the virus. This is not entirely surprising, given that asymptomatic disease without elevated biochemical markers of hepatitis has been associated with the lowest rate of spontaneous clearance, i.e. about 10%.

Overall the spontaneous viral clearance rate in our study was 23.5%, which is similar to the rate of 26% estimated in a large systematic review. Higher rates of viral clearance of more than 40% were reported more recently from Brazil and Egypt. However, substantial proportion of the population of these cohorts were symptomatic women. Both symptomatic disease and female sex have been associated with a more favorable outcome of acute HCV infection, including higher clearance rates.

We found similar patterns of viral load dynamics of the subjects in our study as other studies have reported. Patients with spontaneous clearance, excluding cases of transitory viremia, and those with persistent infection had similar peak levels of viral load, but the slope of increase in viral load early in the course of infection was higher among patients who cleared the infection. Our study identified another very important public health challenge – the safety of blood and blood products when donors have only been screened serologically. The national program on blood safety in Georgia was implemented in 1997 and currently ensures screening of all donated blood for HIV, HBV, HCV and syphilis. Implementation of this program resulted in a significant reduction of transfusion transmitted infections (TTI). However, as seen in our study the program failed to detect 7 blood

donors with recent HCV due to the fact that the national program relies only on antibody detection against this infection. Since the late 1990s nucleic acid testing (NAT) of donated blood became a gold standard in high income countries, which minimized the residual risks of transmission of viral agents. Our study provides evidence that justifies the introduction of NAT testing of blood donors in Georgia. This is particularly important for HCV taking into consideration its high prevalence in the country and longer seronegative window period than HIV.

In addition to NAT testing donor selection remains a key strategy for achieving the safety of the blood supply. The majority of blood donors in Georgia are commercial donors, who are at higher risk of HCV and other TTIs. In our study, of 7 blood donors with recent HCV infection 2 were IDUs. During the study interview they disclosed a recent history of sharing of injecting paraphernalia, but they did not report this fact before donating blood. Efforts are needed to increase voluntary donations and implement effective screening algorithm that accurately identifies blood donors with high risk behaviors.

Study 2

The design developed within the research enabled us to reveal the cases of acute hepatitis C in anti HCV seronegative individuals infected with HIV with high risk behavior toward hepatitis C and observe them for nine months. By using the qualitative RT PCR method, we have revealed acute HCV infection in HCV seronegative individuals and RNA was calculated by using RT quantitative PCR reaction.

As a result of our research the following results have been reported:

In research 2 as well as in the first research, there has not been detected any correlation between spontaneous recovery and HCV genetic types. In the patients co -infected with HIV/HCV and those who were cured from acute HCV there was approximately equal percentage distribution that differs from the results received by some group of researchers. In G-3, during acute HCV they got higher percent of recovery.

According to a current number of literary data, during acute hepatitis C, the virus eradication occurs within the period of 6 months. After six months, the disappearance of the virus is described in the papers of some researchers which are a rarity. It's worth noting that during the process of our research, clearance from the virus in one case was fixed not within the period of 6 months from its detection but on the 27th week of observation. It is interesting whether the late clearance is associated with HIV co-infection. This issue requires further study.

In our research, in HIV/HCV co-infected, symptomatic patients, clearance from HCV virus consisted of 26.9% totally. The received percentage of cure is significantly low if we compare it to the percentage of recovery of symptomatic HCV mono-infected patients described in literature.

The research proved that the host's genetic factor, particularly, IL28B genotype plays an important role in the eradication of the virus. In seven out of 26 acute cases where the virus elimination took place, the majority, particularly, five patients had C/C genotype (71.4%) and two patients – C/T genotype. The result received in our research is similar to the results received by other researchers and shows that IL28B C/C genotype is an important predictor of recovery for both mono – infected and co – infected patients.

Study 3

Our data revealed the occurrence of occult HCV infection in HIV infected patients. No single HCV genotype was predominant in the present study and was consistent with the prevalence of HCV genotypes in the country. Liver fibrosis was found more frequently and the fibrosis score was significantly higher in OCI patients versus negative ones, suggesting that undiagnosed OCI might impact on the liver damage. The study demonstrated that testing only for HCV antibody fails to identify the true prevalence of HCV co-infection among HIV infected patients. We propose that in the absence of liver biopsy specimens, analysis of PBMC sample for HCV-RNA would be informative for detection of occult HCV infection.

Study 4

As a result of our research the following results have been reported:

Prior to starting antiviral treatment, against hepatitis C, the level of IP-10 of serum in the patients who reached SVR after treatment is much lower than the initial index of IP-10 in Non – responders and relapsers for both HCV mono and HIV/HCV co – infected patients.

Prior to starting antiviral treatment, the level of IP-10 between non-responder patients and relapsers does not differ significantly.

The patients with low level of fibrosis and ALT also had significantly low IP-10 level of serum in comparison with the patients with high level of fibrosis and ALT.

The patients with high HCV viral load had IP-10 level in serum higher than the patients with low viral load.

For IP-10 we calculated the ultimate indicator which is the predictor of SVR, the average variable (cutoff) of this indicator was determined by 400pg/ml. By using this variable of cutoff (400pg/ml), with high probability, approximately by 91% we can assume whether the elimination from the virus occurs if we receive relapse.

During acute HCV infection, IP-10 level in blood serum in both HCV mono-infected and HCV/HIV co-infected patients is significantly low in whom cleared the virus, than in the patients who developed chronic HCV infection.

During both chronic HCV and acute HCV infection, level of IP-10 correlates to IL28B genotype and is associated with the effect of the disease.

Conclusions:

Study 1

- In seronegative blood donors, the prevalence of HCV infection consists of 0.1% and in IDUs – 0.3% consequently.
- During acute/new HCV infection chronization occurs in 76%. (In symptomatic patients – 50%, in asymptomatic patients – 84%).
- During the course of acute/new HCV infection, viral replication kinetics and concentration are in correlation with the disease outcome.
- Symptomatic duration of acute/new HCV infection, young age and females are correlated to the disease outcome.
- Genotype of hepatitis C virus does not impact on the course of acute/new HCV infection and its outcome.
- Two cases of Transient viremia revealed during our research give us the reason to suppose that the given fact may be more frequent than it is described in literature.

Study 2

- In the individuals infected with HIV with high risk for seronegative, symptomatic HCV infection was detected high incidence of acute HCV infection – 5.76% (MSM-13, 25; IDUs-2, 8%).
- In both mono-infected and HIV infected patients, the genotype of C hepatitis virus does not impact on the course of acute/new HCV infection and its outcome.

- During acute HCV infection, in rare cases, elimination may take place not within the period of six months but in longer period of time.
- In the HIV/HCV individuals with symptomatic acute C hepatitis as well as the in the mono-infected individuals with acute C hepatitis, IL28B C/C genotype has high prognostic value of self-treatment compared with C/T and T/T genotypes.
- In the individuals with symptomatic HIV/HCV co-infection, the spontaneous recovery percentage from acute HCV infection is significantly low than in the patients with HCV mono-infection.

Study 3

- In different groups of patients infected with HIV there is occult HCV infection which are not visible on peripheral blood serum or plasma HCV anti bodies or during the examination of virus for RNA.
- HCV genotype does not make any influence on OCI cases.
- In OCI patients, the level of liver fibrosis is higher than in the patients without OCI.

Study 4

- Low concentration of IP-10 of serum as well as IL28B C/C genotype is the positive prognostic marker for the recovery from HCV infection in both HCV mono-infected patients and HCV/HIV co-infected patients.
- Because of the simplicity of the analysis and low value, the immune – ferment method for determining IP10 may somewhat replace IL28B genotyping high technological and expensive method.

Recommendations:

- When making a decision about the treatment for acute hepatitis C, for both patients with mono and HIV/HCV co-infection, it is recommended to consider the following factors: age, gender, viral kinetics, virus concentration, form of the course of the disease (symptomatic/asymptomatic) and prognostic value of the host's genetic (IL28B) and/or serological (IP-10) markers.
- In order to reveal occult HCV infection, in case of inaccessibility of liver biopsy, examination of PBMCs samples for HCV RNA is an alternative, informational and easy performing diagnostic method.

- Today, testing of donors of blood and blood products for HCV infection considers examination only for anti bodies. In consideration of seronegative window period, it is recommended that the given algorithm should be added by NAT testing with so called “pool” method. This will avoid us the expensiveness of the examination and ensure high protection quality.
- For the reduction of the number of donors with high risk behavior it is preferable to be carried out optional/free stimulation and promotion of voluntary donation.