

УДК 616.36-002

С.М.Азимова, Р.И.Одинаев

## СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КЛИНИЧЕСКОГО ТЕЧЕНИЯ HBeAg-ПОЗИТИВНОГО И HBeAg-НЕГАТИВНОГО ВАРИАНТА ХРОНИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА ВИРУСА “В” В ТАДЖИКИСТАНЕ

*ГУ «Институт гастроэнтерологии»**Министерства здравоохранения и социальной защиты населения Республики Таджикистан**(Представлено академиком АН Республики Таджикистан Г.К.Мироджовым 09.10.2014 г.)*

*Проведено сравнительное клинко-вирусологическое исследование больных хроническим гепатитом HBeAg-позитивного и HBeAg-негативного варианта хронического гепатита вируса В в Таджикистане. Впервые установлено, что в Таджикистане преобладает HBeAg-негативный вариант хронического гепатита вируса В и активность течения заболевания зависит от уровня ДНК и генотипа вируса.*

**Ключевые слова:** гепатит HBe-негативный – мутация вируса В – генотип вируса В.

Активное изучение генотипов вируса гепатита В (Hepatitis B virus - HBV) началось в конце 1980-х гг., после того как была установлена структура генотипов А, В, С и D [1]. В настоящее время известно восемь основных генотипов HBV, в соответствии с алфавитом обозначаемых буквами от А до Н [2, 3]. Генотипы HBV являются вариантами вируса, отличающимися друг от друга структурой генома не менее чем на 8% [1]. Дальнейшее таксономическое дробление предусматривает деление генотипов на субгенотипы, имеющие более 4, но менее 8% различий в структуре генома. Генотипы Е, G и Н не имеют субгенотипов [4].

Генотипам HBV свойственно относительно устойчивое географическое распределение [5-8]. В частности, в странах Юго-Восточной Азии и Японии абсолютно преобладают генотипы В и С, в странах Северной Европы наиболее часто встречается генотип А, в том числе субгенотип А2. Для средиземноморских стран типично инфицирование генотипом D, причём в Греции, Сербии и Италии распространённость этого генотипа среди инфицированных достигает 100%.

Анализ распространённости различных генотипов HBV в отдельных регионах России [7, 9], в частности, показал, что в Москве и Московской области преобладает генотип D (89.4%); генотипы А и В встречаются с частотой 6.5 и 0.4% соответственно. Однако необходимо учитывать, что наблюдающаяся активная миграция населения может обусловить появление в любой стране любого из известных генотипов HBV, что находит отражение в литературе последних лет [8-11].

В настоящее время существуют многочисленные публикации результатов исследований тех или иных клинически значимых особенностей генотипа В, потенциально ассоциирующихся с генотипом вируса [11-13]. Наибольший интерес с клинической точки зрения представляет анализ влияния

*Адрес для корреспонденции:* Азимова Саодат Мустафоевна. 734064, Республика Таджикистан, г. Душанбе, ул. Маяковского, 2, ГУ «Институт гастроэнтерологии» МЗ и СЗН РТ. E-mail: asaodat\_57@mail.ru

генотипа HBV на естественное течение различных форм HBV-инфекции и эффективность противовирусного лечения. В странах Азии и Японии изучение различных аспектов HBV-инфекции ведётся активнее, чем в европейских странах, что связано с большей распространённостью и актуальностью этой инфекции.

В последние годы проведено множество исследований, свидетельствующих о том, что на течение заболевания влияет не только генотип HBV, но и точечные мутации, при которых происходят изменения на уровне одного или двух азотистых оснований [14]. Указанное явление типично для HBV, поскольку репликация этого вируса осуществляется с высокой скоростью при участии фермента обратной транскриптазы, которая «склонна» делать ошибки в ходе построения ДНК [15]. В геноме HBV имеются участки, наиболее подверженные определенным мутациям. Это прежде всего области пресоре (мутация А 1896) и core promoter (мутация Т1762/А 1764). Кроме того, во многих работах было показано, что указанные мутации ассоциируются с тем или иным генотипом HBV.

Целью исследования данной работы было изучение клинических и молекулярно-генетических особенностей хронического вирусного гепатита В (ХГВ) дикой и мутантной форм.

#### **Методы исследования**

Обследовано 209 пациентов с ХГВ. Вирусные антигены HBsAg, HBeAg и антитела к вирусу гепатита В AbHBsAg, AbHBe, AbHBcorIgM, AbHBcorIgG исследовали методом гемагглютинации (Institute of Immunology Co., Ltd, Tokyo, Japan). Выявление ДНК проводили методом ПЦР, и для генотипирования HBV использовался метод, основанный на полиморфизме длин фрагментов рестрикции амплифицированных участков генома HBV (PCR-RFLP). Молекулярно-генетические исследования вируса проводились в Лаборатории молекулярной генетики и информатики Нагойского университета (Япония). Обследованные больные были разделены на 2 группы: I группа – с наличием «дикого» типа ВГВ: HBsAg-плюс, HBeAg-плюс, AbHBe-минус; II группа мутантного типа ВГВ-инфекции: HBsAg-плюс, HBeAg-минус, AbHBe-плюс.

#### **Результаты исследования**

Клиническое течение HBeAg-негативного гепатита отличалось значительными колебаниями уровня виремии и трансаминаз, чередованием периодов активности патологического процесса и клинико-биохимической ремиссии заболевания. Периоды ремиссии с нормальной активностью трансаминаз и низким уровнем HBV-ДНК ( $<10^5$  копий/мл) были длительными. Обострение порой протекало агрессивно, с развитием цирротических изменений печени. Иногда рецидив хронической HBV-инфекции по клинической картине напоминал острый гепатит В. Нами проведено сравнение клинико-лабораторных и морфологических характеристик больных HBeAg-негативным и HBeAg-позитивным ХГВ (всего 59 человек из 209 пациентов). Группа HBeAg-негативных больных ХГВ (37 человек) оказалась очень неоднородной по клинико-лабораторным проявлениям заболевания. Определение концентрации HBV-ДНК порогом чувствительности 0.7 мега-эквивалент/мл ( $\sim 10^5$  копий/мл) позволило заключить, что у большей части пациентов вирусная нагрузка оказалась меньше порога чувствительности данного метода. Следовательно, большая часть больных, считавшихся HBeAg-негативными, оказалась HBsAg-носителями (см.табл.).

Приведённые данные свидетельствуют о том, что патологический процесс больше выражен у больных HBeAg-негативным ХГВ, при этом уровень вiremии у них значительно ниже ( $P < 0.001$ ). Нам представилось интересным изучить связь между концентрацией HBV и активностью АлАТ у пациентов этих групп. У HBeAg-негативных больных выявлена прямая достоверная корреляционная зависимость между этими показателями ( $r_s = 0.748$ ;  $P < 0.001$ ), то есть высокая концентрация HBV-ДНК в сыворотке крови ассоциируется с выраженностью цитолиза.

Таблица

Клинико-лабораторные характеристики больных HBeAg-негативным и HBeAg-позитивным ХГВ

Показатель	Больные HBeAg-негативным ХГВ (n=37)	Больные HBeAg-позитивным ХГВ (n=22)	P
АлАТ, ед/л	291.13±99.75	162.57±99.0	0.03
АсАТ, ед/л	100.62±48.08	65±36.78	0.05
ЩФ, ед/л	180.62±55.40	145.66±50.496	0.099
Общий билирубин, мкмоль/л	16.025±9.280	17.95±5.29	0.5
Альбумин, г/л	49.08±11.4	44.75±2.76	0.2
Протромбиновый индекс, %	89.125±10.16	93±8.5	0.285
Тромбоциты, $10^9/l$	206.50±46.64	225.60±53.58	0.53
Гепатомегалия, %	35	0	0.02
HBV-ДНК (ПЦР), LOG	6.65±1.14	8.45±1.27	0.04
HBV-ДНК (метод гибридизации)	106.5±8.3	2969±1738	<0.001
Астенический синдром, %	78	9.09	<0.001
Внепеченочные проявления, %	6.25	0	0.4

В группе HBeAg-позитивных пациентов анализ показал слабую обратную зависимость между концентрацией HBV и активностью АлАТ ( $r_s = -0.365$ ;  $P = 0.147$ ). Данный факт свидетельствует о том, что вирусная нагрузка практически не влияет на выраженность цитолитического синдрома. HBeAg-негативный гепатит в большинстве случаев протекал доброкачественно и представляет собой фазу носительства хронической HBV-инфекции. Однако при истинном HBeAg-негативном гепатите течение заболевания агрессивное, сопровождается яркой клинической симптоматикой и высокой степенью гистологической активности [2]. У 19 (63%) больных диагностирован А-генотип HBV, у 8 (26%) - D-генотип и у 3 (10%) генотип оставался не уточненным из-за низкой вирусной нагрузки. Длительность заболевания при А-генотипе равнялась  $4.0 \pm 2.2$  годам, а при генотипе В -  $11.3 \pm 7$  лет. Несмотря на меньшую длительность болезни, среди больных с А-генотипом чаще выявлялся ХАГ высокой активности - в 45% случаев и цирроз печени (ЦП) - в 18%, а при В-генотипе высокая активность ХГ диагностирована лишь у 3-х больных (37%,  $P < 0.005$ ), а у больных ЦП - у одного больного ( $P < 0.001$ ). Среди больных HBeAg-негативном ХГ (генотип А) чаще встречался ХГ умеренной (31%) и высокой активности (21%) против 15% ( $P < 0.01$ ) и 25% ( $P < 0.01$ ) при HBeAg позитивном ХГ (генотип D). При HBeAg-негативном варианте А-генотипа у 21% больных диагностирован ЦП, а при HBeAg-позитивном варианте ЦП не диагностирован ни у одного больного ( $P < 0.05$ ). У 12 (63%) больных с генотипом А и у 4 (50%) больных с генотипом D отмечался HBeAg-негативный фенотип HBV. У больных ХГ, инфицированных А-генотипом, отмечалось более тяжёлое течение с формированием ЦП в 33% случаев, а при D-генотипе наблюдалось более легкое течение ХГ и прогрессирование ЦП лишь у одного больного. В первую группу с серологическим профилем «дикого» типа вируса вошли

14 больных, а во вторую группу с серологическим профилем мутантного типа 44 больных. У всех 14 больных диким типом выявлялась ДНК в плазме крови. Во II группе ДНК НВV выявлялась в крови у 29% больных. При анализе мутации в *preS<sub>2</sub>/core* области генома ВГВ выявлены мутации двух типов: - A1762G и G1764A в промоторе гена *core*, приводящие к уменьшению или прекращению репликации вирусного генома и мутации G1894 в *preS<sub>2</sub>*-области, которая приводит к синтезу короткого пептида из 28 аминокислот *preS<sub>2</sub>/core* – белка предшественника и прекращению синтеза НВеAg. Среди больных II группы чаще диагностировался ХАГ – у 20% и ЦП (30%), и то время как среди больных I группы высокой активности процесса не было ни в одном случае, и цирроз печени выявлялся реже – у 7% пациентов. Клинические и лабораторные показатели, такие как выраженность некротических и воспалительных изменений в печени, свидетельствовали о большей патогенности мутантного вируса.

### З а к л ю ч е н и е

Клиническое течение НВеAg-негативного гепатита отличалось значительными колебаниями уровня виремии и трансаминаз, чередованием периодов активности патологического процесса и клинико-биохимической ремиссии заболевания. Среди больных ХГ преобладает НВеAg-негативная форма ВГВ-инфекций, вызываемая мутациями в *preS<sub>2</sub>/core* области вируса гепатита и характеризующаяся прогрессирующим течением с частым формированием цирроза печени. Клиническая картина ХГ во многом определялась генотипом НВV. При этом выявлено, что у больных ХГ, инфицированных генотипом D, наблюдается более мягкое течение ХГ. В то же время у больных, инфицированных A-генотипом, наблюдалось более агрессивное течение ХГ и более ранние сроки формирования ЦП. Следовательно, полученные данные о влиянии генотипов НВV на естественное течение заболевания позволяют считать определение генотипов НВV весьма перспективным. Это обусловлено тем, что полученная информация может быть использована врачами для выделения пациентов в группы риска в зависимости от характера течения гепатита, а также для дальнейшей индивидуализации и оптимизации лечения. С учётом всего вышесказанного весьма важным представляется масштабное и системное изучение практического значения генотипов НВV в Таджикистане.

*Поступило 09.10.2014 г.*

### Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Okamoto H., Tsuda F., Sakugawa H. et al. Typing hepatitis B virus by homology in nucleotide sequence: comparison of surface antigen subtypes. – J. Gen. virol., 1988, v. 69, pp. 2575-2583.
2. Kramvis A, Kew M, Francois G. Hepatitis B virus genotypes. - Vaccine 2005, v.23, pp.2409-2423.
3. Miyakawa A., Mizokami M. Classifying hepatitis B virus genotypes. - Intervirology, 2003, v. 46, pp. 329-338.
4. Norder H., Courouge A.M., Coursaget P. et al. Genetic diversity of hepatitis B virus strains derived worldwide: genotypes, subgenotypes, and HBsAg subtypes. – Intervirology, 2004, v. 47, pp. 289-309.
5. Schafer S. Hepatitis B virus taxonomy and hepatitis B virus genotypes. – World. J. Gastroenterol., 2007, v.13 (1), pp. 14-21.
6. Schafer S. Hepatitis B virus genotypes in Europe. - Hepatology res., 2007, v. 37, pp. 520-526.

7. Орлов С.Г., Мязин А.Е., Чуланов Б.П. Распространенность генотипов вируса гепатита В среди лиц, хронически инфицированных вирусом гепатита В, в Москве и Московской области. – Мат-лы Российской научно-практ. конф. «Генодиагностика инфекционных болезней», 25-27 октября 2005г. - Сосновка, Новосибирская обл., с. 56-58.
8. Dal Molin G., Poli A., Croce L.S., et al. Hepatitis B virus genotypes, core promoter variants, and precore stop codon variants in patients infected chronically in North-Eastern Italy. – J. Med. Virol., 2006, v. 78, pp. 734-740.
9. Kidd-Ljunggren K., Muhre E., Blackberg J. Clinical and serological variation between patients infected with different hepatitis B virus genotypes. – J. Clin. Microbiol., 2004, v. 42(12), pp. 5837-5841.
10. Chan H.L., Hui A.Y. Genotype C hepatitis B virus infection is associated with an increased risk of hepatocellular carcinoma. – Gut. 2004, pp. 1494-1498.
11. Kobayashi M., Akuta N., Suzuki F., et al. Virological outcomes in patients infected chronically with hepatitis B virus genotype A in comparison with genotypes B and C. – J. Med. Virol., 2006, v. 78, pp. 60-67.
12. Wang L.W., Sun X.M., Gong Z.J. Effects of hepatitis B virus gene variations on disease development and anti-virus therapy in chronic hepatitis B patients. – J. Clin. Inter. Med., 2004, v. 31, pp. 617-620.
13. Chu C.M., Liaw Y.F. Genotype C hepatitis B virus infection is associated with a higher risk of reactivation of hepatitis B and progression to cirrhosis than genotype B: a longitudinal study of hepatitis B e antigen-positive patients with normal aminotransferase levels of baseline. – J. Hepatol., 2005, v. 43, pp. 411-417.
14. Hagiwara S., Kudo M., Minami Y. et al. Clinical significance of the genotype and core promoter / pre-core mutations in hepatitis B virus carriers. - Intervirology, 2006, v. 49, pp. 200-206.
15. Maeshiro T., Arakaki S., Watanabe T. et al. Different natural courses of chronic hepatitis B with genotypes B and C after the fourth decade of life. – World. J. Gastroenterol., 2007, v. 13(34), pp. 4560-4565.

С.М.Азимова, Р.И.Одинаев

## ТАВСИФИ МУҚОИСАВИИ РАВИШИ КЛИНИКИИ НВеAg-И МУСБӢ ВА НАМУДИ МАНФИИ НВеAg-И ГЕПАТИТИ МУЗМИНИ ВИРУСИ В ДАР ТОҶИКИСТОН

*МД “Паҷӯшишгоҳи гастроэнтерология”-и*

*Вазорати тандурустӣ ва ҳифзи иҷтимоии аҳолии Ҷумҳурии Тоҷикистон*

Тадқиқоти муқоисавии клиникӣ-вирусологии беморони гепатити музмини НВеAg- и мусбӣ ва намуди манфии НВеAg-и гепатити музмини вируси В дар Тоҷикистон гузаронида шуд. Аввалин маротиба муқаррар карда шуд, ки дар Тоҷикистон намуди манфии НВеAg-и гепатити музмини вируси В бартарият дошта, фаъолнокии ҷараёни беморӣ аз дараҷаи ДНК ва генотипи вирус вобаста аст.

**Калимаҳои калидӣ:** *гепатити манфии НВеAg – мутатсияи вируси В – генотипи вируси В.*

S.M.Azimova, R.I.Oдинаev

**COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF CLINICAL HBeAg-POSITIVE AND  
HBeAg-NEGATIVE VARIANT OF CHRONIC HEPATITIS VIRUS "B"  
IN TAJIKISTAN**

*Institute of Gastroenterology of the Ministry of Health and Social Protection of the Republic of Tajikistan*

A comparative clinical and virological patients with chronic hepatitis B HBeAg-positive and HBeAg-negative chronic hepatitis B virus variants was studied. In Tajikistan found that prevails HBeAg-negative chronic hepatitis B virus variant and in the course of the activity depends on the level of DNA and viral genotype.

**Key words:** *Hepatitis HBe-negative – mutation of the virus – genotype B.*