

Е. Н. Яговдик-Тележная<sup>1</sup>, С. П. Лукашик<sup>1</sup>, И. А. Грибок<sup>1</sup>,  
И. А. Карпов<sup>1</sup>, Т. Н. Светогор<sup>2</sup>

## ПРАКТИЧЕСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ НЕКОТОРЫХ ТЕОРЕТИЧЕСКИХ АСПЕКТОВ ВИРУСА ГЕПАТИТА В

УО «Белорусский государственный медицинский университет»<sup>1</sup>,  
ГУ «Минский городской центр гигиены и эпидемиологии»<sup>2</sup>

*Хронический вирусный гепатит В имеет широкое распространение как в мире, так и в Республике Беларусь. К сожалению, течение заболевания можно спрогнозировать, т. к. в исходе заболевания часто развивается цирроз печени, с возможностью появления гепатоцеллюлярной карциномы.*

*В настоящее время ведется много различных исследований генома ВГВ, а так же ряда происходящих в нем мутаций, в связи с влиянием их на качество проведения вакцинации против ВГВ, на результативность проводимой этиотропной терапии, т. к. выявление резистентности к противовирусным препаратам позволяет скорректировать терапию ВГВ-инфекции до её инициации.*

**Ключевые слова:** вирусный гепатит В, вакцинация, мутации HBV, противовирусная терапия.

**E. N. Jahoudzik-Tsialezhnaja, S. P. Lukashik, I. A. Gribok,  
I. A. Karpov, T. N. Svetogor**

### THE PRACTICAL APPLICATION OF SOME THEORETICAL ASPECTS. HBV-INFECTION

*Chronic viral hepatitis B is widespread both in the world and in the Republic of Belarus. Unfortunately, the disease can be predicted as in the outcome of the disease often develops cirrhosis of the liver, with the possibility of occurrence of hepatocellular carcinoma. Currently, many different HBV genome research, as well as several of the mutations, in connection with the impact on the quality of vaccination against HBV, the effectiveness of antiviral therapy, because identification of resistance to antiviral drugs to adjust therapy of HBV-infection before her initiation.*

**Key words:** viral hepatitis B, mutations of HBV, vaccination, antiviral therapy.

**В** вирусом гепатита В (HBV) в мире инфицировано около 350–400 млн человек [1]. Однако, частота встречаемости данной инфекции в разных регионах различна. Республика Беларусь (РБ) относится к регионам с умеренным эпидемиологическим показателем распространённости HBV-инфекции (2–7% населения, что позволяет говорить о риске инфицирования на протяжении жизни от 20% до 60%).

В 2011 году в Республике Беларусь (РБ) зарегистрировано 6788 случаев парентеральных вирусных гепатитов (ПВГ), в Минске количество случаев с аналогичной патологией составило 1410. В результате показатель заболеваемости по РБ составил 71,46 сл. на 100 тысяч населения, по г. Минску – 75,88 сл. на 100 тысяч населения. Таким образом, в г. Минске уровень суммарной заболеваемости всеми формами ПВГ превышал республиканский показатель в 1,06 раза ( $p < 0.05$ ), что, вероятно, обусловлено лучшей диагностикой и более частой реализацией факторов передачи вирусов парентеральных гепатитов.

По данным диспансерного учёта в г. Минске, в территориальных организациях здравоохранения состояло 11965 пациентов с ПВГ, по состоянию на 20.01.2012 г. Показатель болезненности ПВГ, составил 636,57 сл. на 100 тысяч населения, что характе-

ризует инфекцию как широко распространённую среди населения г. Минска.

Естественное течение данной инфекции предполагает трансформацию процесса в цирроз 15–40% случаев и/или гепатоцеллюлярную карциному в 5–15% случаев [2]. Ежегодно в мире от цирроза или рака печени ассоциированного с HBV погибает около 1 млн пациентов.

С 2011 года начат учёт этиологии цирроза. В этиологической структуре цирроза наибольший удельный вес 48,7% принадлежит вирусу гепатита С (ВГС). (Причиной хронического поражения печени, приведшего к трансформации процесса в цирроз, в 11,5% случаев признан вирус гепатита В, из которых 1% принадлежит к инфицированию ВГВ/ВГД.)

За 10 лет в Беларуси число ежегодных случаев гепатоцеллюлярного рака (ГЦР) увеличилось в 2,7 раза: с 63 (2001 г.) до 173 (2010 г.).

Практическая гепатология в настоящее время столкнулась с рядом вопросов лечения HBV-инфекции ответы, на которые, вероятно, возможно найти, в том числе и изучая особенности строения вируса.

Вирусный геном HBV представлен неполной двойной ДНК (полная минус-цепь и неполная плюс-цепь). В отличие от других ДНК-содержащих вирусов репли-

## Обзоры и лекции

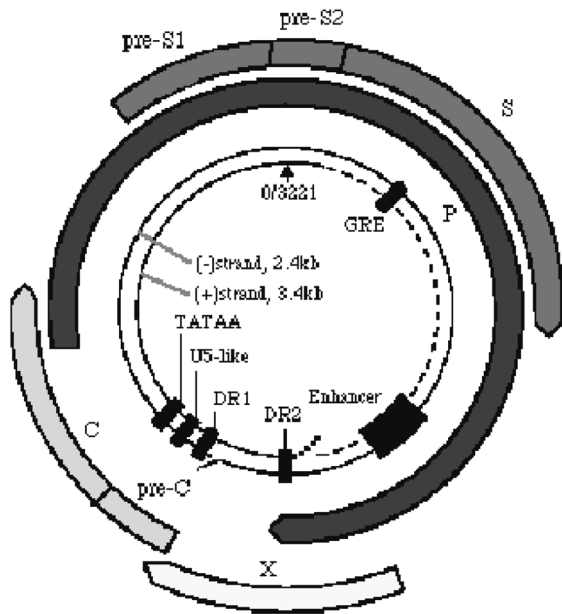


Схема строения генома вируса гепатита В

кация ДНК HBV протекает ассиметрично, посредством обратной транскриптазы, что и обуславливает высокую частоту мутаций генома HBV. Она значи-

тельно выше, чем у других ДНК-содержащих вирусов (почти в 100 раз), но существенно ниже в сравнении с РНК-содержащими вирусами.

В строении генома вируса гепатита В выделяют следующие гены: P, S, C, X.

Ген P кодирует белок, имеющий ферментативную активность (РНК-зависимая ДНК-полимераза).

Ген S кодирует белок оболочки вируса – HBsAg. Перед ним находятся две зоны: pre-S1 и pre-S2. Область pre-S1 кодирует белок, прикрепляющийся к рецептору IgA на поверхности гепатоцита, который помогает проникнуть вирусу в клетку. В области гена pre-S2 закодирована информация об участке связывания с полимеризованным альбуминовым рецептором, который так же находится на гепатоците.

Ген C, кодирует белок нуклеокапсида – HBcAg. Перед геном C расположена зона pre-Core, благодаря которому синтезируется белок, который является регуляторным или сигнальным в синтезе ядерного антигена.

Ген X кодирует белок, который активирует экспрессию всех генов вируса гепатита В.

Сравнение последовательностей нуклеотидов HBV позволило выделить 8 генотипов вируса (A-H). В по-

Таблица 1

| Генотип вируса | Географическое распространение                             | Мутации   | Чувствительность к противовирусной терапии |
|----------------|--|---|--|
| A              | Африка, Европа   | <ul style="list-style-type: none"> <li>Не обнаружена способность к pre-Core стоп-код [4];</li> <li>Более высокая частота мутаций, обуславливающая резистентность к ламивудину и адефовиру [5, 6]</li> </ul> | Интерферон                                 |
| B              | Япония, Индонезия, Вьетнам, страны Азии                    |   | Интерферон                                 |
| C              | Азия, Китай, Индонезия, Филиппины                          |   | Аналоги нуклеозидов                        |
| D              | Средний Восток, Россия, Балтика, Индия, Индонезия, Океания | <ul style="list-style-type: none"> <li>Более высокая частота мутаций, обуславливающая резистентность к ламивудину и адефовиру [5, 6].</li> </ul>  | Аналоги нуклеозидов                        |
| E              | Африка   |   | Аналоги нуклеозидов                        |
| F              | Америка, Аляска  |   | Аналоги нуклеозидов                        |
| G              | Франция, Германия  |   | Аналоги нуклеозидов                        |
| H              | Мексика  |   | Аналоги нуклеозидов                        |

Таблица 2. Известные HBV мутации и их вероятные биомолекулярные последствия

| №  | Зона мутации | Эффект   | Клиническая значимость  |
|----|--------------|--|---|
| 1. | S-ген        | Исчезновение группо-специфической детерминанты «а»   | а. Ускользание от диагностики<br>б. Ускользание от вакцины  |
| 2. | Pre-Sген     | <ul style="list-style-type: none"> <li>Потеря В и Т клеточных эпитопов (нарушается процесс распознавания антигена)</li> <li>Потеря Pre-S2 промотерного региона;</li> <li>Потеря Pre-S2 startcodoma.</li> </ul> | Нарушение нейтрализации вируса antiHBs  |
| 3. | Pre-C/C ген  | <ul style="list-style-type: none"> <li>Ингибция синтеза антигена HBe;</li> <li>Отрицательные тесты на антиген HBe.</li> </ul>  | Тяжёлые формы гепатита  |
| 4. | C-ген        | Утрата Т клеточных эпитопов  | <ul style="list-style-type: none"> <li>Фульминантный гепатит</li> </ul>   |
| 5. | P-ген        | Устойчивость к аналогам нуклеозидов или нуклеотидов  | Устойчивость к: <ul style="list-style-type: none"> <li>ламивудину,</li> <li>телбивудину,</li> <li>адефовиру,</li> <li>энтекавиру</li> </ul> |
| 6. | X-ген        | Подавление антипролиферативных и апоптотических механизмов   | Развитие печёночно-клеточной карциномы  |

следние годы активно обсуждается девятый генотип I выявленный в ряде стран Азии [3]. До недавнего времени генотипирование вируса имело исключительно эпидемиологический характер и ассоциировалось с различием географического распространения. В настоящее время установлено, что принадлежность вируса к тому или иному генотипу обуславливает особенности клинического течения, способность мутировать, а значит, и ускользать от противовирусной терапии см. табл. 1.

Приведенные данные имеют клинический интерес, так как многочисленные возможные мутации вируса приводят к особенностям течения, диагностики HBV-инфекции и требуют коррекции проводимой терапии (см. табл. 2).

## 1. Мутации в S-гене

### 1.1. *Diagnosis escape*

Скрининг обследования для исключения HBV-инфекции в настоящее время врачами понимается как тестирование на наличие HBsAg методом ИФА. При получении отрицательного результата, пациент считается здоровым. Однако это не всегда соответствует истине, так как мутации в S-гене приводят к тому, что в крови HBsAg может не определяться. Поэтому при получении отрицательного результата на HBsAg, необходимо исследовать кровь пациента на наличие anti-HBcorIgG.

В случае отрицательного результата – дальнейшее исследование может быть прекращено, а пациент должен считаться не инфицированным HBV. При обнаружении в крови anti-HBcorIgG необходимо тестирование крови методом ИФА на наличие HBeAg, anti-HBe и anti-HBcorIgM, а методом ПЦР – на факт репликации вируса. Наличие вирусной репликации (положительное ПЦР) позволяет рассматривать эту ситуацию как инфицирование мутантным штаммом HBV. Дальнейшая тактика врача в отношении данного пациента должна состоять в постановке его на диспансерный учёт к врачу инфекционисту и разработки индивидуальной стратегии наблюдения и лечения.

### 1.2. *Vaccineescape*

В основе вакцинальной защиты лежит выработка протективных антител (anti-HBs) в ответ на введение в составе вакцины антигена (HBsAg) в организм пациента. При мутации S-гена исчезает группоспецифическая детерминанта «а» антигена HBsAg (аминокислоты 121–149) против которой и направлены anti-HBs. Это приводит к невозможности распознавания антителами (anti-HBs) антигена (HBsAg).

## 2. Мутации Pre-S гена

Существует мнение, что мутации Pre-S гена ассоциированы с частотой развития гепатоцеллюлярной карциномы. Так Chien-WeiSu с соавторами установили связь повышения риска рецидива ГЦК у оперированных пациентов с делециями в Pre-S гене [7].

LishuaiQu с соавторами выявили связь риска развития ГЦК у пациентов моложе 40 лет в Китае с мутациями Pre-S гена [8].

## 3. Мутации в доменах обратной транскриптазы

Как видно из таблицы 2, лишь мутации гена полимеразы приводят к развитию резистентности к противовирусным препаратам. Фермент, кодируемый геном-HBV-полимеразой, состоит из:

- четырёх функциональных домена (терминальный протеин, спейсер, pol/rt, RHaseH);
- семи каталитических субдоменов (A-G).

Большинство возможных мутаций, определяющих развитие лекарственной резистентности к противовирусным препаратам, возникает в доменах B, C, D (рис. 1).

Многочисленные мутации HBV могут накапливаться в связи с:

- 1) усилением репликации;
- 2) ускользанием от иммунного ответа («viralesscape»);
- 3) проведением противовирусной терапией.

### Усиление репликации

Частота спонтанных мутаций HBV составляет  $1,4-3,2 \times 10^{-5}$  нуклеотидных замен на участок за цикл [9, 10]. Частота мутаций генома хотя и значительно ниже, чем среди РНК-содержащих вирусов, однако почти в 100 раз выше, чем среди других ДНК-содержащих вирусов. При высокой скорости репликации вируса (как минимум  $10^{11}$  вирионов в день), возможно появление  $10^{10}$  вновь произошедших точечных мутаций. Поскольку общая длина генома составляет 3,2 kb, все возможные одноосновные мутации могут произойти за одни сутки [11]. Отсутствие механизмов коррекции ошибок вирусной репликации (например, обратная транскрипция) делает возможным указанные изменения генома. Это может привести к появлению лекарственно-резистентных штаммов в популяции вирусов, пациентов с ХГВ, не получавших этиотропного лечения нуклеозидными аналогами.

Ламивудин-резистентные и энтекавир-резистентные штаммы HBV обнаружены у пациентов, не получавших указанные лекарственные препараты.

### Устойчивость к существующим противовирусным препаратам

Процесс формирования резистентности проходит ряд этапов. Вначале формируется генотипическая резистентность – это мутации в геноме HBV, обуславливающие резистентность к противовирусным препаратам.

### Резистентность

Далее происходит вирусологический рецидив, что характеризуется повышением уровня PCRHBVDNA сыворотки крови минимум на  $1 \log_{10}$  от наименьшего уровня вирусной нагрузки достигнутой в процессе

□ **Обзоры и лекции**

|   |         |                              |       |                     |         |           |            |         |
|---|---------|------------------------------|-------|---------------------|---------|-----------|------------|---------|
| терминальный протейн  | Стейсер | pol/rt                       |       |                     |         |           | RHaseH     |         |
| 1   | 183     | 349(rt1)                     |       |                     |         |           | 692(rt344) | 845     |
|   |         |                              |       |                     |         |           |            |         |
|   |         | I(G)                         | II(F) | A                   | B       | C         | D          | E       |
|   |         | 24-36                        | 37-47 | 24-36               | 159-182 | 200-210   | 230-241    | 247-257 |
|   |         | к ламивудину                 |       | rtL180M             |         |           |            |         |
|   |         | Резистентность к телбивудину |       |                     |         | rtM204I   |            |         |
|   |         | Резистентность к энтекавиру  |       | rtI169T/<br>rtS184G |         | rtS202G/I |            | rtM250V |
|   |         | Резистентность к тенофовиру  |       |                     |         | rtA194T?  |            |         |
|   |         | Резистентность к адефовиру   |       | itA181T/V           |         | irtN236T  |            |         |
| ? необходимо подтверждение по результатам долгосрочных исследований |         |                              |       |                     |         |           |            |         |

Рисунок 1. Мутаций, определяющие развитие лекарственной резистентности

лечения, определённое дважды с интервалом 1 месяц. Вслед за вирусологическим рецидивом развивается биохимический прорыв, характеризующийся повышением уровня АЛТ на фоне роста вирусной нагрузки. Указанные изменения уровня вирусной нагрузки и АЛТ обуславливают замену пациенту с ХГВ одного противовирусного препарата на другой, к которому, к сожалению, с течением времени развивается также генетическая резистентность, а затем виру-

сологический и биохимический прорывы. Указанное состояние резистентности к двум и более противовирусным препаратам получило название перекрёстной резистентности.

Инфицирование пациента, изначально, может произойти не диким штаммом вируса, а вирусом уже подвергшимся воздействию нуклеозидными аналогами. Исходя из этого стартовая терапия далеко не всегда может проводится ламивудином.

Таблица 3. **Перекрёстная резистентность ВГВ**

| Мутации HBV                     | Противовирусные препараты |             |           |          |           |
|---------------------------------|---------------------------|-------------|-----------|----------|-----------|
|                                 | Lamivudine                | Telbivudine | Entecavir | Adefovir | Tenofovir |
| Wild-type                       | S                         | S           | S         | S        | S         |
| M204I                           | R                         | R           | I         | S        | S         |
| M204V                           | R                         | S           | I         | S        | S         |
| L180M+M204V                     | R                         | R           | I         | S        | S         |
| A181T/V                         | R                         | S           | S         | R        | S         |
| N236T                           | S                         | S           | S         | R        | I         |
| A181T/V+N236T                   | R                         | R           | S         | R        | I/R       |
| L180M+M204V/I±I169T±V173L±M250V | R                         | R           | R         | S        | S         |
| L180M+M204V/I±T184G±S202I/G     | R                         | R           | R         | S        | S         |

R – резистентность к препарату; S – чувствительность к препарату; I – сниженная чувствительность к препарату

**Противовирусная терапия**

**Стратегия противовирусной терапии HBV-инфекции – подавление репликации HBV до максимально низких концентраций максимально долго и минимизация риска формирования лекарственной мультирезистентности вируса.**

Накопленный опыт терапии больных с HBV-инфекцией и повышение чувствительности лабора-

торных тестов, позволяющих диагностировать факт активной репликации вируса, к сожалению, указывают на то, что полная эрадикация ВГВ остаётся практически невозможной. Этим обусловлена рекомендация проведения терапии нуклеозидными аналогами неограниченно долго. Лимитированный срок лечения в течение 12 месяцев правомочен лишь для терапии препаратами пегилированных интерферонов.



Таблица 4. Характеристика противовирусных препаратов

| Препарат    | Противовирусная активность | Генетический барьер резистентности | Показатель резистентности |
|-------------|----------------------------|------------------------------------|---------------------------|
| Lamivudine  | ++                         | +                                  | +++                       |
| Telbivudine | +++                        | +                                  | ++                        |
| Entecavir   | +++                        | +++                                | +                         |
| Adefovir    | +                          | ++                                 | ++                        |
| Tenofovir   | +++                        | +++                                | +                         |

+++ – высокий уровень;  
 ++ – промежуточный уровень;  
 + – низкий уровень.

Основными критериями целесообразности инициации терапии являются:

- уровень вирусной нагрузки (более  $10^4$  коп/мл),
- стадия заболевания (HBV-инфекция на стадии цирроза печени или продвинутого фиброза (стадии III-IV)),
- наличие биохимической активности.

Для снижения риска развития резистентности целесообразно использовать нуклеозидные аналоги с высокой противовирусной активностью и с высоким генетическим барьером к развитию резистентности.

Вопросы точечных мутаций и формирования резистентности HBV имеют не только теоретическое, но и большое практическое значение. Поэтому в следующей статье планируется рассмотреть стратегию и тактику противовирусной терапии на различных стадиях HBV-инфекции.

### Выводы

1. До начала терапии целесообразно определение генотипа вируса гепатита В, так как это позволит выбрать группу максимально эффективных противовирусных препаратов.

2. Установление наличия мутаций вируса, обуславливающих резистентность к противовирусным препаратам, до начала противовирусной терапии обосновано, так как возможно инфицирование уже мутированным вирусом.

3. Перед началом вакцинации целесообразно тестирование для уточнения серологического статуса пациента: HBsAg, anti-HBcorIgG.

а. При выявлении HBsAg – вакцинация не проводится, пациент направляется на обследование для установления стадии процесса и установления наличия репликативной активности вируса и целесообразности противовирусной терапии.

б. При выявлении anti-HBcorIgG в отсутствии HBsAg – пациент направляется на обследование для исключения инфицирования мутантным штаммом ВГВ (зона мутации S-ген). Это состояние характеризуется отсутствием HBsAg при положительной PCRHBVDNA, а также наличии anti-HBcorIgG, antiHBs.

4. В процессе лечения при повышении уровня PCRHBVDNA сыворотки крови минимум на  $1\log_{10}$  от наименьшего уровня вирусной нагрузки достигнутой

в процессе лечения (тестирование проводится дважды с интервалом 1 месяц) выставляется диагноз вирусологический рецидив.

### Литература

1. Custer, B., Sullivan S. D., Hazlet T. K., Iloeje U., Veenstra D. L., Kowdley K. V. Global epidemiology of hepatitis B virus // J. Clin. Gastroenterol. – 2004. – N 38 (Suppl. 10). – P. 158–168.
2. McMahon, B. J. Epidemiology and natural history of hepatitis B // Semin. Liver Dis. – 2005. – Vol. 25 (Suppl. 1). – P. 3–8.
3. Tran, T. T. H., Trinh T. N., Abe K. New complex recombinant genotype of hepatitis B virus identified in Vietnam. // Journal of virology. – 2008. – Vol. 82, N 11. – P. 5657–5663.
4. Grandjacques, C, Pradat P, Stuyver L. et al Rapid detection of genotypes and mutation in the pre-core promoter and the pre-core region of hepatitis B virus genome: correlation with viral persistence and disease severity // J. Hepatol. – 2000. – N 33(3). – P. 430–439.
5. Schildgen, O., Sirma H, Funk A, et al. Variant of hepatitis B virus with primary resistance to adefovir. N. Engl J med 2006; 354:1807–12.
6. Kobavashi, M, Suzuki F, Akuta N. et al. Response to long-term lamivudine treatment in patients infected with hepatitis B virus genotypes A, B and C. J Med Virol 2006; 78: 1276–83.
7. Su C.-W. et al. The Influence of Hepatitis B Viral Load and Pre-S Deletion Mutations on Post-Operative Recurrence of Hepatocellular Carcinoma and the Tertiary Preventive Effects by Anti-Viral Therapy. // PloS one. – 2013. – Vol. 8, N 6. – P. e66457.
8. Qu L. et al. Pre-S deletion and complex mutations of hepatitis B virus related to young age hepatocellular carcinoma in Qidong, China. // PloS one. – 2013. – Vol. 8, N 3. – P. e59583
9. Okamoto, H., Imai M., Kametani M., Nakamura T., Mayumi M., Genomic heterogeneity of hepatitis B virus in 54-year-old woman who contracted the infection through mother-to-fetal transmission. Jpn J Exp Med 1987; 57: 231–36.
10. Girones, R, Miller RH, Mutation rate of the hepadnavirus genome. Virology 1989; 170: 595–97.
11. Nowak, M. A., Bonhoeffer S., Hill A. M., Boehme R., Thomas H. C., McDade H. Viral dynamics in hepatitis B virus infection. Proc Natl Acad Sci USA 1996; 93: 4398–402.
12. Jardi, R, Rodriguez-Frias F, Schaper M, et al. Hepatitis B virus polymerase variants associated with entecavir drugs resistance in treatment-naïve patients. J Viral Hepat 2007; 14:835–40.

Поступила 19.03.2014 г.