

**ЕКАТЕРИНА АЛЕКСАНДРОВНА ЕЛПАЕВА**

младший научный сотрудник лаборатории молекулярной вирусологии и геномной инженерии, НИИ гриппа Минздрава России (Санкт-Петербург, Российская Федерация)  
*elpaevak@gmail.com*

**МАРИЯ МИХАЙЛОВНА ПИСАРЕВА**

кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной вирусологии и геномной инженерии, НИИ гриппа Минздрава России (Санкт-Петербург, Российская Федерация)  
*pisareva@influenza.spb.ru*

**ОЛЕСЯ ЕВГЕНЬЕВНА НИКИТИНА**

кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отделения экспериментальных научных исследований, НИИ гриппа Минздрава России (Санкт-Петербург, Российская Федерация)  
*nikitina@influenza.spb.ru*

**СВЕТЛАНА НИКОЛАЕВНА КИЖЛО**

зав. отделением, Центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями (Санкт-Петербург, Российская Федерация)  
*skizhlo@yandex.ru*

**МИХАИЛ ПАВЛОВИЧ ГРУДИНИН**

кандидат биологических наук, зав. лабораторией молекулярной вирусологии и геномной инженерии, НИИ гриппа Минздрава России (Санкт-Петербург, Российская Федерация)  
*grudinin@influenza.spb.ru*

**ОЛЬГА ПЕТРОВНА ДУДАНОВА**

доктор медицинских наук, профессор, зав. кафедрой пропедевтики внутренних болезней медицинского факультета, Петрозаводский государственный университет (Петрозаводск, Российская Федерация)  
*odudanova@gmail.com*

## РОЛЬ МУТАНТНЫХ ФОРМ ВИРУСА ГЕПАТИТА В В ПРОГРЕССИРУЮЩЕМ ТЕЧЕНИИ ХРОНИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА В

Целью исследования явилось определение распространенности генотипов вируса гепатита В, циркулирующих в Северо-Западном регионе России (Санкт-Петербурге, Ленинградской области и Республике Карелия), выявление мутаций, ответственных за развитие устойчивости к аналогам нуклеозидов/нуклеотидов, а также preS/S-мутаций, влияющих на синтез HBsAg и течение хронического гепатита В. Обследовано 579 больных ХГВ на наличие ВГВ в крови и/или ткани печени, генотип определен у 226 больных, секвенирование фрагмента гена полимеразы выполнено у 49 пациентов, особенности клинического течения ХГВ изучены у 67 больных – у 26 с HBsAg и у 41 – с серологическими признаками preS/S-мутаций. Вирусная ДНК выявлена у 323 (55,8 %) больных ХГВ, генотип D обнаружен у 183 (81,0 %), генотип А – у 37 (16,4 %) и микст D+A – у 6 (2,7 %) пациентов. Среди 49 пациентов первичные, вторичные и паттерн-мутации устойчивости к аналогам нуклеозидов выявлены у 14 (28,6 %) пациентов, данные мутации вызывали рецидив HBV-инфекции. PreS/S-мутации, ответственные за исчезновение HBsAg, выявлены у 2 (4,1 %) пациентов. PreS/S-мутантная вирусная инфекция при длительном течении ХГВ (>20 лет) вызывала прогрессирование некротически-воспалительного и фибротического процессов в печени и трансформацию гепатита в цирроз печени. Оценка генетической структуры вируса гепатита В имеет важное значение для диагностики, противовирусного лечения и прогнозирования клинического течения хронического гепатита В.

Ключевые слова: вирус гепатита В, генотипы, мутации лекарственной резистентности, preS/S-мутации, хронический гепатит В, секвенирование

Хронический гепатит В является одной из глобальных проблем мирового здравоохранения. В мире вирусом гепатита В (ВГВ) инфицированы около 350 миллионов человек, и около миллиона носителей вируса ежегодно умирает от печеноч-

ной недостаточности, цирроза печени и гепатоцеллюлярной карциномы. Основные успехи в лечении хронического гепатита В (ХГВ) связаны с развитием знаний о молекулярно-биологических особенностях вируса [5], [8], [13]. Одним из на-

иболее важных факторов, влияющих на тяжесть течения болезни и эффективность противовирусного лечения, является генотип вируса и структура его генома, которая подвержена постоянным изменениям в результате мутаций [16].

В настоящее время выделяют десять генотипов ВГВ – А–J генотипы [6], [7], [12], [17]. Отмечается зависимость частоты носительства ВГВ, частоты хронизации гепатита, путей передачи вируса, клинического течения ХГВ и эффективности противовирусной терапии (ПВТ) от генотипов вируса [6]. Информации в литературе о распространенности различных генотипов ВГВ на территории Российской Федерации недостаточно, и данная проблема требует дальнейшего изучения [1], [2], [3], [4].

Генетическая гетерогенность вирусной популяции у пациента обусловлена двумя ключевыми факторами: противостоением вируса иммунной системе хозяина и воздействием ПВТ. Так, под воздействием иммунного прессинга формируются *preC/C* и *preS/S*-мутации, приводящие к снижению и/или прекращению синтеза вирусных антигенов (HBeAg, HBsAg), а под влиянием противовирусных препаратов – аналогов нуклеозидов/нуклеотидов (АН) – происходит возникновение мутаций в гене полимеразы и развивается лекарственная резистентность. В связи с этим чрезвычайную важность для верификации гепатита В, определения клинического течения заболевания и назначения своевременного лечения представляют данные о структуре генома ВГВ.

В последовательности полимеразы ВГВ содержится YMDD-мотив, замены в котором играют основную роль в формировании устойчивости вируса к АН – ламивудину (ЛАМ), адефовиру (АДФ), энтекавиру (ЭТВ), телбивудину (ТБВ). Устойчивость к ламивудину связана с мутациями, приводящими к заменам в полимеразном белке M204V, L180M и др., устойчивость к адефовиру – к заменам N236T, A181V, к энтекавиру – I169T, M250V, T184G, S202I, к телбивудину – M204I/V [14], [15]. Данные изменения генетической структуры вируса не только снижают эффективность лекарственного контроля репликации вируса, но могут усиливать резистентность и изменять клиническое течение ХГВ.

Поскольку геном ВГВ имеет перекрывающиеся рамки считывания, мутации в полимеразном гене могут изменять свойства поверхностных белков. *PreS/S*-мутации, возникающие самостоятельно или сочетающиеся с полимеразными мутациями, также способны влиять на серологические и клинические особенности ХГВ. Они приводят к изменению структуры HBsAg, снижению или прекращению его секреции из гепатоцита, что, с одной стороны, затрудняет этиологическую верификацию ХГВ, а с другой – способствует развитию окислительного стресса, воспалению, ядерному увеличению числа цирку-

лярно замкнутых вирусных ДНК, развитию мутаций и раковой трансформации гепатоцитов на поздних стадиях ХГВ [9], [10], [11]. Клиническое значение *preS/S*-мутаций ВГВ остается неясным, в связи с чем данная проблема требует всестороннего изучения.

Целью исследования явилось определение распространенности генотипов ВГВ, циркулирующих в России на территории Санкт-Петербурга (СПб), Ленинградской области (ЛО) и Республики Карелия (РК) в период 2008–2013 годов, выявление мутаций, ответственных за развитие устойчивости к АН, а также *preS/S*-мутаций, влияющих на синтез HBsAg и течение ХГВ.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследовано 579 больных ХГВ (512 – из СПб и ЛО, 67 – из РК) в период с 2008 по 2013 год. Вирусные антигены HBsAg и HBeAg и антитела к вирусу гепатита В – AbHBs, AbHBe, AbHBs-cIgM, AbHBs-cIgG – исследовались методом иммуноферментного анализа с помощью тест-систем производства ЗАО «Вектор-Бест». Выявление ДНК ВГВ и определение вирусной нагрузки из образцов плазмы крови и биоптатов печени проводились методом ПЦР с использованием наборов реагентов «АмплиПрайм РИБО-преп», «АмплиСенс HBV-Монитор-FRT» и «АмплиСенс HBV» (ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Россия).

Амплификацию фрагмента генома ВГВ для генотипирования проводили с помощью типоспецифичных праймеров методом, разработанным в НИИ гриппа [3]. Анализ и очистку продуктов ПЦР для секвенирования проводили электрофорезом в 2 %-ном агарозном геле с добавлением бромида этидия (ЦНИИ эпидемиологии, РФ). ДНК из агарозного геля выделяли коммерческим набором QiaQuick Gel Extraction Kit (Qiagen, Германия). Секвенирование для определения нуклеотидной последовательности фрагмента гена полимеразы проводили методом Сэнжера при помощи набора реагентов ABI prism® BigDye™ Terminator v3.1 Kit с использованием оригинальных праймеров на приборе ABI PRISM 3100 («Applied Biosystems», США) [4]. Анализ последовательностей и построение выравниваний проводили с помощью программы Vector NTI 10 Advance (Invitrogen, США).

Особенности клинического течения ХГВ изучены у 67 пациентов с ХГВ. Оценивались печеночные тесты: уровень аланинаминотрансферазы (АЛАТ), аспартатаминотрансферазы (АСАТ), альбумина, гамма-глобулинов, IgA, IgM, IgG, щелочной фосфатазы (ЩФ). Определялся индекс гистологической активности (ИГА) по Knodell с оценкой паренхиматозного повреждения (ПП) (1–4 балла), портального воспаления (ПВ) (1–4 балла), перипортальных некрозов (ПН) (1–10 баллов) и фиброз (Ф) по Metavir (0–4 балла).

Протокол исследования выполнялся согласно Хельсинкской декларации, от всех пациентов было получено информированное согласие на исследование. Оценивались t-критерий Стьюдента, тест Манна – Уитни, статистическая обработка данных выполнялась с помощью пакета Statistica 6.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Среди обследованных 579 пациентов хроническим гепатитом ВГВ был выявлен у 323 (55,8 %). У пациентов из СПб и ЛО ВГВ был определен у 256 (50 %) человек, кроме этого были выявлены случаи инфицирования несколькими гепатовирусами: у 21 (4 %) пациента – сочетанное инфицирование ВГВ и вирусом гепатита С, у 5 (1 %) – ВГВ и вирусом гепатита D. Уровень вирусной нагрузки у этих пациентов был преимущественно низкий: менее  $10^4$  копий/мл у 161 (62,9 %) больного,  $10^4$ – $10^6$  – у 29 (11,3 %) и лишь у 40 (15,6 %) он составлял более  $10^6$  копий/мл. У пациентов из Карелии ВГВ был обнаружен у всех 67 (100 %) пациентов: у 26 – в сыворотке крови и ткани печени, вирусная нагрузка у них составила  $2,9 \pm 0,8 \times 10^4$  копий/мл, у 41 пациента – только в ткани печени.

Генотип ВГВ был определен у 226 (70,0 %) пациентов: у 203 (79,3 %) из СПб и ЛО и у 23 (34,3 %) из РК (табл. 1). Наиболее распространенным в СПб и ЛО оказался ВГВ генотипа D (у 163 (80,2 %) больных), для которого характерна более низкая вирусная нагрузка. В Карелии также преобладал ВГВ генотипа D – у 20 (87,0 %) пациентов. В целом доля генотипа D в структуре больных ХГВ составила 81,0 %, доля генотипа А была существенно ниже – 16,4 %.

Таблица 1

Распределение генотипов вируса гепатита В среди больных ХГВ в Санкт-Петербурге, Ленинградской области и Республике Карелия

Генотип / Регион	D		A		A+D		ни A, ни D		Всего, чел.
	чел.	%	чел.	%	чел.	%	чел.	%	
Санкт-Петербург и Ленинградская область	163	80,2	35	17,2	5	2,5	0	0	203
Республика Карелия	20	87,0	2	8,7	1	4,3	0	0	23
Всего	183	81,0	37	16,4	6	2,7	0	0	226

Для определения мутаций устойчивости к АН методом секвенирования по Сенжеру у 49 человек (30 из СПб и ЛО, 19 – из РК) была определена нуклеотидная последовательность фрагмента гена полимеразы. Полученные последовательности гена и предсказанные последовательности полимеразного и поверхностных белков сравнены с референсными из международной базы данных GenBank.

Мутация устойчивости rtM204I/V (rt – reverse transcriptase) была обнаружена лишь у одного человека. Интересно отметить, что у этого пациента было зарегистрировано изменение аминокислотной последовательности под воздействием терапии ламивудином. В 2006 году ему была проведена трансплантация печени с неverifiedированным гепатитом, с 2007 года был выявлен HBsAg, в связи с чем он последовательно получал ламивудин и телбивудин. После приема в течение года ламивудина были выявлены замены rtM204I и rtN236K, еще через шесть месяцев лечения ламивудином были обнаружены замены rtM204V, rtL80I, rtL180M, rtA181V и rtN236K, после 14 месяцев лечения телбивудином были определены замены rtM204V, rtV173L, rtL180M, rtA181C. С 2012 года пациент получал 1 мг энтекавира, в результате чего выявлялась волнообразная вирусная нагрузка снизилась до уровня менее 300 копий/мл. У других 13 пациентов также были выявлены первичные (приводящие к развитию лекарственной устойчивости) и вторичные (компенсаторные) мутации устойчивости к АН и паттерн-мутации устойчивости к противовирусным препаратам (табл. 2). Всего различные мутации в гене полимеразы были выявлены у 14 (28,5 %) пациентов.

Таблица 2

Первичные и вторичные мутации гена полимеразы, потенциально ответственные за устойчивость к противовирусным препаратам

Аминокислотные замены	Санкт-Петербург	Республика Карелия	Устойчивость к АН	
Первичные мутации	L80I	1	ЛАМ	
	L80V	1		
	V173L	2		
	L180M	3	ЛАМ/ЭТВ	
	A181V	1	A181TVS ЛАМ/ТБВ	
	A181C	2		
	A181S			
M204I	1	1	ЛАМ	
M204V	3		ЛАМ/ТБВ/ ЭТВ	
N236K	6	3	N236T АДФ	
Вторичные мутации	V84G	1	2	АДФ
	R192H	1		ЛАМ
	Q215H	4	1	ЛАМ/ АДФ
	Q215S		1	
	Q215R	1		
	Q215P	1		
I233N	3		АДФ/ТБВ	
Паттерн-мутации	M204I+N236K	1		ЛАМ
	M204V+L80I+L180M+ +A181V+N236K	1		ЛАМ
	M204V+V173L+L180M+ +A181C	2		ЛАМ
	A181S+Q215H		1	ЛАМ
	L80V+N236K		1	ЛАМ/АДФ
Итого, n	35	11		

Проведенный анализ S-гена показал, что мутации в полимеразе влияют и на поверхностный белок (табл. 3). Так, обнаруженные замены в 173, 181 и 204 положениях обратной транскриптазы приводили к замене аминокислоты в 164, 172/173 и 195/196 положениях S-белка соответственно. Данные мутации были выявлены у 2 (4,1 %) пациентов, которые и определили у них снижение концентрации HBsAg до недектируемого уровня.

**Таблица 3**  
Изменения в последовательности белка S под действием мутаций устойчивости

Полимераза (обратная транскриптаза)	Поверхностный белок (S)
rtM204I	sW196L
rtM204V	sW196L+sI195M
rtM204V	sI195M
rtV173L	sE164D
rtA181V	sL173F
rtA181S	sW172C
rtA181C	sL173V+sW172C

С целью определения роли preS/S-мутаций в развитии печеночно-клеточного воспаления и фиброза и влияния длительности такой инфекции на активность ХГВ были сформированы три группы больных. В I группу вошли пациенты с HBsAg-положительным ХГВ с вирусемией с уровнем вирусной нагрузки  $2,9 \pm 0,8 \times 10^4$  копий/мл

( $1,2-4,4 \times 10^4$  копий/мл), мужчин было 13 (50,0 %), женщин – 13 (50,0 %), возраст –  $39,7 \pm 6,3$  года, срок заболевания –  $12,9 \pm 5,5$  года (табл. 4). Во II группу вошли пациенты с признаками preS/S-мутантного ВГВ с HBsAg-негативным ХГВ, сопоставимые с больными I группы по половому составу (мужчин – 15 (53,6 %), женщин – 13 (46,4 %)), возрастному составу ( $40,5 \pm 7,3$  года) и по срокам заболевания ( $13,5 \pm 4,8$  года). В III группу вошли пациенты с HBsAg-негативным ХГВ, но более старшего возраста ( $51,8 \pm 3,7$  года), с достоверно более давним заболеванием ( $25,2 \pm 5,3$  года) и давно произошедшей сероконверсией по HBsAg, чтобы оценить влияние длительности существования preS/S-мутантного ВГВ на прогрессирование ХГВ.

У пациентов II группы с preS/S-мутантным ВГВ по сравнению с пациентами I группы несмотря на отсутствие вирусемии выявлялась тенденция к увеличению маркеров печеночно-клеточного повреждения и воспаления: увеличивались уровни АЛАТ, Ig A, M, G, возрастал ИГА и фиброз. По мере увеличения длительности ХГВ и возраста у пациентов III группы происходил достоверный рост активности АЛАТ, АСАТ, появлялись признаки внутрипеченочного холестаза – увеличивалась ЩФ, прогрессировала печеночно-клеточная недостаточность – уменьшался уровень альбумина, протромбина, увеличивались показатели мезенхимально-воспалительного

**Таблица 4**  
Клинико-лабораторные, гистологические и вирусологические показатели у больных ХГВ с HBsAg-емией и с preS/S-мутантным ВГВ без HBsAg с разным возрастом и длительностью заболевания (M $\pm$ m)

Показатели	I группа HBsAg(+), n=26	II группа HBsAg(-), n=28	III группа HBsAg(-), n=13
Мужчины, n (%)	13 (50,0 %)	15 (53,6 %)	6 (46,2 %)
Женщины, n (%)	13 (50,0 %)	13 (46,4 %)	7 (53,8 %)
Возраст, годы	$39,7 \pm 6,3$	$40,5 \pm 7,3$	$51,8 \pm 3,7^*, **$
Длительность HBV-инфекции, годы	$12,9 \pm 5,5$	$13,5 \pm 4,8$	$25,2 \pm 5,3^*, **$
Вирусная нагрузка, $n \times 10^4$ копий/мл	$2,9 \pm 0,8$	0	0
АЛАТ, МЕ/л	$53,1 \pm 24,9$	$82,6 \pm 50,8$	$118,0 \pm 40,2^*$
АСАТ, МЕ/л	$40,0 \pm 16,7$	$66,7 \pm 25,3$	$86,5 \pm 26,2^*$
Билирубин, мкмоль/л	$35,4 \pm 15,1$	$21,1 \pm 18,0$	$43,3 \pm 35,0$
Альбумин, г/л	$43,5 \pm 2,1$	$41,1 \pm 2,2$	$36,4 \pm 3,2^*, **$
Гамма-глобулины, г/л	$13,3 \pm 1,8$	$13,0 \pm 2,1$	$17,6 \pm 3,0^*, **$
ЩФ, Ед/л	$124,1 \pm 37,9$	$151,7 \pm 66,1$	$195,9 \pm 49,6^*$
Протромбин, %	$84,7 \pm 2,5$	$82,1 \pm 2,8$	$78,2 \pm 2,9^*$
IgA, г/л	$2,3 \pm 0,7$	$2,6 \pm 1,3$	$3,3 \pm 2,3$
IgM, г/л	$2,2 \pm 0,4$	$2,4 \pm 2,0$	$3,9 \pm 2,7$
IgG, г/л	$15,8 \pm 1,8$	$14,1 \pm 2,1$	$19,7 \pm 2,4^*, **$
ИГА, баллы	$6,1 \pm 1,6$	$6,8 \pm 1,5$	$10,2 \pm 2,3^*$
ПП, баллы	$2,5 \pm 1,3$	$2,7 \pm 1,1$	$3,0 \pm 0,6^*$
ПВ, баллы	$2,2 \pm 1,1$	$2,3 \pm 0,9$	$3,0 \pm 1,3$
ПН, баллы	$1,5 \pm 1,0$	$2,0 \pm 1,2$	$3,8 \pm 1,2^*, **$
Фиброз, баллы	$1,1 \pm 0,6$	$1,6 \pm 1,1$	$2,9 \pm 1,2^*, **$

Примечание. \* – разница достоверна с I группой, \*\* – разница достоверна со II группой.

процесса – уровень гамма-глобулинов, Ig, воспалительная инфильтрация портальных трактов и перипортальные некрозы. Такая отрицательная динамика печеночных тестов и гистологической картины заболевания свидетельствовала о формировании на фоне хронического гепатита цирроза печени.

## ВЫВОДЫ

1. Среди больных хроническим гепатитом В в Санкт-Петербурге, Ленинградской области и Республике Карелия преобладает инфицированность вирусом гепатита В генотипа D (81,0 %), который склонен к развитию мутаций в различных участках генома под действием аналогов нуклеозидов и иммунного прессинга. Генотип А встречается реже: в Санкт-Петербурге и Ленинградской области – у 17,2 % пациентов, в Карелии – у 8,7 %.

2. Первичные, вторичные и паттерн-мутации устойчивости к аналогам нуклеозидов выявлены при секвенировании гена полимеразы у 14

(28,6 %) из 49 обследованных пациентов. Данные мутации снижают эффективность противовирусной терапии и способствуют прогрессированию хронического гепатита.

3. PreS/S-мутации обнаружены у 2 (4,1 %) из 49 больных, данные мутации снижают синтез HBsAg, репликативную активность вируса, затрудняя верификацию вирусного гепатита В и способствуя развитию вакцинускользающих штаммов вируса.

4. PreS/S-мутантные варианты вируса гепатита В вызывают умеренно выраженное, но неуклонно прогрессирующее течение некротически-воспалительного и фибротического процессов в печени, приводя через 20–30 лет к трансформации хронического гепатита в цирроз печени.

5. Оценка генетической структуры вируса гепатита В имеет важное значение для диагностики, определения схем противовирусного лечения и прогнозирования клинического течения хронического гепатита В.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Генотипическая характеристика вируса гепатита В у хронически инфицированных больных / Е. А. Елпаева, Е. А. Порещкова, М. М. Писарева и др. // Дальневосточный журнал инфекционной патологии. 2009. № 15. С. 56–59.
2. Дуданова О. П., Киселев О. И. Хронический гепатит В: диагностика и особенности клинического течения: Монография. Петрозаводск: Изд-во ПетрГУ, 2013. 112 с.
3. Морозов В. М. Молекулярно-генетическая характеристика вариантов вируса гепатита В, циркулирующих в Санкт-Петербурге и Якутии: Дисс. ... канд. биол. наук. СПб., 2003. 127 с.
4. Писарева М. М. Молекулярно-биологические особенности вируса гепатита В дикой и мутантной форм в трех регионах Российской Федерации: Дисс. ... канд. биол. наук. СПб., 2007. 110 с.
5. Dan dri M., L o s a r n i n i S. New insight in the pathobiology of hepatitis B virus infection // Gut. 2012. Vol. 1. P. 6–17.
6. Genetic diversity of hepatitis B virus strains derived worldwide: genotypes, subgenotypes, and HBsAg subtypes / H. Norder, A. M. Courouche, P. Coursahet et al. // Intervirology. 2004. Vol. 47 (6). P. 289–309.
7. Genotype H: a new Amerindian genotype of hepatitis B virus revealed in Central America / P. Arauz-Ruiz, H. Norder, B. H. Robertson, L. O. Magnus // J. Gen. Virol. 2002. Vol. 83 (8). P. 2059–2073.
8. Gerlich W. H. Medical virology of hepatitis B: how it began and where we are now // Virol. J. 2013. Vol. 10. P. 239.
9. Hepatitis B virus pre-S deletion mutations are a risk factor for hepatocellular carcinoma: a matched nested case-control study / Z. L. Fang, C. A. Sabin, B. Q. Dong et al. // J. Gen. Virol. 2008. Vol. 89. P. 2882–2890.
10. High prevalence and mapping of pre-S deletion in hepatitis B virus carriers with progressive liver diseases / B. F. Chen, C. J. Liu, G. M. Jow et al. // Gastroenterology. 2006. Vol. 130. P. 1153–1168.
11. Impact of Hepatitis B Virus (HBV) PreS/S Genomic Variability on HBV Surface Antigen and HBV DNA Serum Levels / T. Pollicino, G. Amadeo, A. Restuccia et al. // Hepatology. 2012. Vol. 56. P. 434–443.
12. Као J. H. Molecular epidemiology of hepatitis B virus // Korean J. Intern. Med. 2011. Vol. 26 (3). P. 255–261.
13. Куо А., Гиш Р. Chronic hepatitis B infection // Clin. Liver Dis. 2012. Vol. 16 (2). P. 347–369.
14. L o c a r n i n i S., M a s o n W. S. Cellular and virological mechanisms of HBV drug resistance // J. Hepatol. 2006. Vol. 44 (2). P. 422–431.
15. Nomenclature for antiviral-resistant human hepatitis B virus mutations in the polymerase region / L. J. Stuyver, S. A. Locarnini, A. Lok et al. // Hepatology. 2001. Vol. 33 (3). P. 751–757.
16. Shi Y. H. Correlation between hepatitis B virus genotypes and clinical outcomes // Jpn. J. Infect. Dis. 2012. Vol. 65 (6). P. 476–482.
17. Typing hepatitis B virus by homology in nucleotide sequence: comparison of surface antigen subtypes / H. Okamoto, F. Tsuda, H. Sakugawa et al. // J. Gen. Virol. 1988. Vol. 69 (10). P. 2575–2583.

**Elpaeva E. A.**, Influenza Research Institute (St. Petersburg, Russian Federation)  
**Pisareva M. M.**, Influenza Research Institute (St. Petersburg, Russian Federation)  
**Nikitina O. E.**, Influenza Research Institute (St. Petersburg, Russian Federation)  
**Kizhlo S. N.**, SPID and Infection Disease Centre (St. Petersburg, Russian Federation)  
**Grudin M. P.**, Influenza Research Institute (St. Petersburg, Russian Federation)  
**Dudanova O. P.**, Petrozavodsk State University (Petrozavodsk, Russian Federation)

## ROLE OF HEPATITIS B VIRUS MUTANT FORMS IN PROGRESSIVE COURSE OF CHRONIC HEPATITIS B

The aim of the study was to determine the prevalence of HBV genotypes in the North-West of Russia (St. Petersburg, Leningrad region, and Republic of Karelia), to identify mutations responsible for resistance to nucleotide/nucleoside analogs (AN), preS/S-

mutations, canceling the HBsAg synthesis, and to detect the preS/S-mutations influence on the CHB course. HBV was analysed in plasma and/or in the liver biopsy materials of 579 patients with CHB; the genetic type was revealed in 226 patients; sequence analysis of polymerase gen was performed in 49 patients; peculiarities of CHB clinical course were studied in 67 patients: in 26 with HBsAg and in 41 patients with serological marker of preS/S-mutations. Viral DNA was detected in 323 (55,8 %) CHB patients, D genotype was revealed in 183 (81,0 %), A genotype – in 37 (16,4 %) and mixed D+A – in 6 (2,7 %) patients. Primary, secondary and pattern-mutations of resistance to drugs (nucleotide/nucleoside analogs) were detected in 14 (28,6 %) from 49 patients. These mutations caused the HBV-infection relapse. PreS/S-mutations, responsible for the HBsAg disappearance, were revealed in 2 (4,1 %) patients. PreS/S-mutation viral infection caused progressive liver necroinflammation, fibrosis, and transformation of CHB in liver cirrhosis after more than 20 years of clinical course. The estimation of the viral genetic structure has special significance for diagnosis, antiviral treatment, and prognosis of chronic hepatitis B clinical course.

Key words: hepatitis B virus, genotypes, drug resistance mutations, preS/S-mutations, chronic hepatitis B, sequencing

#### REFERENCES

1. Genotypic characteristics of hepatitis B virus in chronically infected patients [Genotipicheskaya kharakteristika virusa gepatita B u khronicheskii infitsirovannykh bol'nykh] / E. A. Elpaeva, E. A. Poretskova, M. M. Pisareva i dr. *Dal'nevostochnyy zhurnal infektsionnoy patologii* [Far Eastern Journal of Infectious Pathology]. 2009. № 15. P. 56–59.
2. D u d a n o v a O. P., K i s e l e v O. I. *Khronicheskiy gepatit B: diagnostika i osobennosti klinicheskogo techeniya: Monografiya* [Chronic hepatitis B: diagnosis and peculiarities of clinical course: monography]. Petrosavodsk, PetrSU Publ., 2013. 112 p.
3. M o r o z o v V. M. *Molekulyarno-geneticheskaya kharakteristika variantov virusa gepatita B, tsirkuliruyushchikh v Sankt-Peterburge i Yakutii: Diss. ... kand. boil. nauk* [Molecular and genetic characteristic of hepatitis B virus variants circulating in St. Petersburg and Yakutia: PhD biol. sci. diss.]. St. Petersburg, 2003. 127 p.
4. P i s a r e v a M. M. *Molekulyarno-biologicheskie osobennosti virusa gepatita B dikoy i mutantnoy form v trekh regionakh Rossiyskoy Federatsii: Diss. ... kand. boil. nauk* [Molecular and biological peculiarities of wild and mutant hepatitis B virus in three Russian Federation regions: PhD. biol. sci. diss.]. St. Petersburg, 2007. 110 p.
5. D a n d r i M., L o c a r n i n i S. New insight in the pathobiology of hepatitis B virus infection // *Gut*. 2012. Vol. 1. P. 6–17.
6. Genetic diversity of hepatitis B virus strains derived worldwide: genotypes, subgenotypes, and HBsAg subtypes / H. Norder, A. M. Courouce, P. Coursahet et al. // *Intervirology*. 2004. Vol. 47 (6). P. 289–309.
7. Genotype H: a new Amerindian genotype of hepatitis B virus revealed in Central America / P. Arauz-Ruiz, H. Norder, B. H. Robertson, L. O. Magnus // *J. Gen. Virol.* 2002. Vol. 83 (8). P. 2059–2073.
8. G e r l i c h W. H. Medical virology of hepatitis B: how it began and where we are now // *Virol. J.* 2013. Vol. 10. P. 239.
9. Hepatitis B virus pre-S deletion mutations are a risk factor for hepatocellular carcinoma: a matched nested case-control study / Z. L. Fang, C. A. Sabin, B. Q. Dong et al. // *J. Gen. Virol.* 2008. Vol. 89. P. 2882–2890.
10. High prevalence and mapping of pre-S deletion in hepatitis B virus carriers with progressive liver diseases / B. F. Chen, C. J. Liu, G. M. Jow et al. // *Gastroenterology*. 2006. Vol. 130. P. 1153–1168.
11. Impact of Hepatitis B Virus (HBV) PreS/S Genomic Variability on HBV Surface Antigen and HBV DNA Serum Levels / T. Pollicino, G. Amaddeo, A. Restuccia et al. // *Hepatology*. 2012. Vol. 56. P. 434–443.
12. K a o J. H. Molecular epidemiology of hepatitis B virus // *Korean J. Intern. Med.* 2011. Vol. 26 (3). P. 255–261.
13. K u o A., G i s h R. Chronic hepatitis B infection // *Clin. Liver Dis.* 2012. Vol. 16 (2). P. 347–369.
14. Locarnini S., Mason W. S. Cellular and virological mechanisms of HBV drug resistance // *J. Hepatol.* 2006. Vol. 44 (2). P. 422–431.
15. Nomenclature for antiviral-resistant human hepatitis B virus mutations in the polymerase region / L. J. Stuyver, S. A. Locarnini, A. Lok et al. // *Hepatology*. 2001. Vol. 33 (3). P. 751–7.
16. S h i Y. H. Correlation between hepatitis B virus genotypes and clinical outcomes // *Jpn. J. Infect. Dis.* 2012. Vol. 65 (6). P. 476–482.
17. Typing hepatitis B virus by homology in nucleotide sequence: comparison of surface antigen subtypes / H. Okamoto, F. Tsuda, H. Sakugawa et al. // *J. Gen. Virol.* 1988. Vol. 69 (10). P. 2575–2583.

Поступила в редакцию 19.05.2014