

4/2007

СУЧАСНІ ІНФЕКЦІЇ

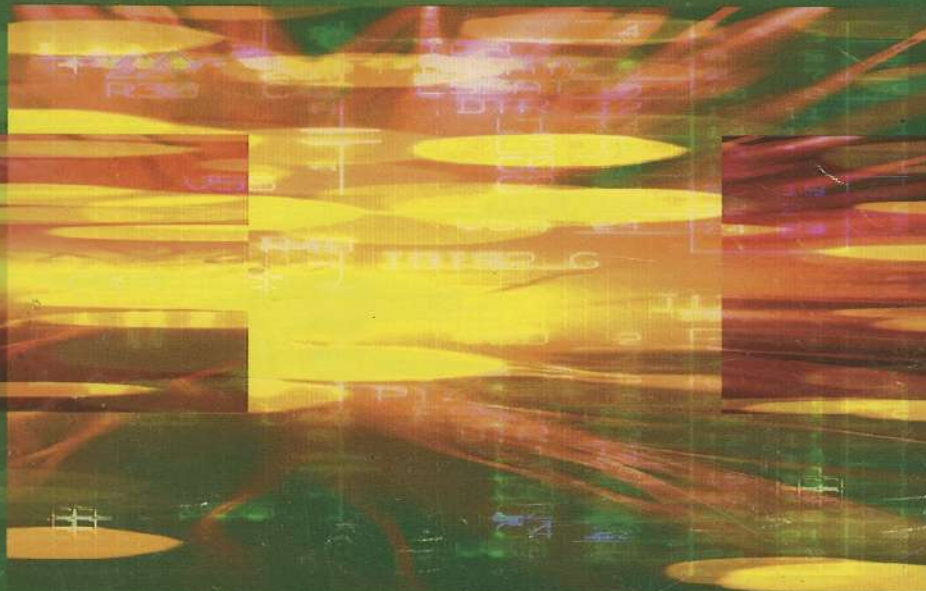
На допомогу практичному лікарю

МОЗ повідомляє

Оригінальні дослідження

Випадки з практики

Огляди, лекції



ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

УДК:616.36-002-002:578.891-085

МУТАЦІЇ ВІРУСУ ГЕПАТИТУ В ТА ЇХ КЛІНІЧНЕ ЗНАЧЕННЯ

М.Ч. КОРЧИНСЬКИЙ

Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця, м. Київ

ключові слова:

гепатит В, мутантні штами, діагностика, лікування

Гепатит В (ГВ) становить значну проблему для охорони здоров'я всього світу. Згідно з оцінками експертів ВООЗ, збудником цієї хвороби інфіковано майже 400 мільйонів людей. Від захворювань печінки, спричинених вірусом гепатиту В (HBV), у світі щороку помирає від 1,5 до 2 млн. хворих, серед них лише від гепатоцелюлярної карциноми (ГЦК) — 500 000-600 000 чоловік (5 місце серед летальності від злоякісних пухлин). Наслідки HBV-інфекції серед усіх причин смерті займають 10 місце у світі [7, 16, 23]. У Росії поширеність HBV-інфекції є середньою у світі й коливається від 2 до 7%. Тільки у 2004 році вперше зареєстровані 89555 так званих "носіїв" HBV, тоді як випадків гострого ГВ у Росії було 14976. Сумарні збитки від гострого ГВ і "носіїв" HBV-інфекції у Росії за 2003 рік становили 1377380000 рублів. В Україні носіями вірусу є близько 1 млн. осіб. Кожного року реєструється 188 тисяч хворих на хронічний гепатит (ХГ) та цироз печінки (ЦП), з них щорічно гине 6 тисяч. HBsAg та anti HBsAg в Україні знаходять серед донорів крові відповідно в 1,4 і 13,9%, медичних працівників — у 5,4 і 26,8%, внутрішньовенних наркоманів — у 15,05 та 50,55% [1,5, 6, 9].

Властивості збудника хвороби цікавлять учених з моменту його відкриття. Проте найбільшу увагу було звернено на цей вірус

лише після розробки методів генної інженерії, що дозволили визначити склад та послідовність нуклеотидів геному різних ізолятів вірусу гепатиту В. Це, в свою чергу, надало змогу знайти його мутантні штами та розпочати вивчення їх епідеміологічного та клінічного значення [6, 7, 11, 12, 18,21].

У циклі відтворення HBV є етап зворотної транскрипції з утворенням РНК-прегеному, що є головною причиною його генетичної неоднорідності та гетерогенності порівняно з іншими ДНК-вірусами. Число мутацій становить приблизно 2 104 нуклеотидних основ /місце/рік, що більше ніж у 10 разів перевищує частоту мутацій інших ДНК-вірусів. Ідентифіковані віруси гепатиту В, що мають мутації у всіх генах збудника. Більшість із них не викликають змін властивостей вірусу, складу його антигенів і, відповідно, перебігу інфекційного процесу. Разом з тим, знайдено кілька мутантних штамів, що мають чітку асоціацію з такими змінами. Закріплюються лише ті мутації, які сприяють можливостям вірусу до персистенції чи активної реплікації [6, 22].

Мутації ДНК HBV можуть призводити до:

- модифікації, елімінації або створення нових епітопів, що впливають на імунну відповідь організму на HBV;
- зміни безпосередньої дії білків вірусу на інфіковані гепатоцити чи інші кліти-

ни людини, в тому числі й на клітини імунної системи;

- зміни реплікації ДНК ВГВ, складання вірусних частинок і секреції вірусних білків [4,6, 10,22].

Мутації гена S, що кодує білки HBsAg і поділяється на три ділянки: власне ген S, пре-S 1 та пре-S 2, є найменш вивченими. Ген пре-S 1 відповідає за синтез провідної антигенної детермінанти "а", що визначає видову специфічність HBV. У деяких країнах Західної Африки до 1% населення інфіковані HBV з мутаціями в ділянці пре-S 1. У них, відповідно, в сироватках крові за допомогою звичайних тест-систем не виявляється HBsAg, хоча присутні ДНК HBV й антитіла до HBcAg. Відповідно для профілактики ГВ у контактних осіб не ефективні специфічний γ -глобулін та вакцина. Загалом, до 2% випадків неефективного щеплення проти ГВ пов'язують саме з подальшим інфікуванням такими мутантними "HBsAg-негативними" штамами вірусу [1-4, 6, 7].

Заміна гліцину на аргінін у позиції 145 "а" детермінанти HBsAg унаслідок мутації гена пре-S виявилась достатньою, щоб були неефективними специфічна вакцина, імуноглобулін і стандартні тест-системи для діагностики HBsAg. У таких хворих описані випадки фульмінантного гепатиту. Подібні мутаційні зміни HBV були зареєстровані і в США, Італії та інших країнах. Описаний випадок появи мутантного, HBsAg-негативного штаму з подальшим розвитком гострого ГВ у дитини, яка інфікувалась "диким" HBsAg -позитивним штамом від матері під час пологів, незважаючи на вчасне щеплення після народження. Виявили заміщення аргініну гліцином у ДНК-регіоні, що кодує детермінанту "а" HBsAg. Це виявилось достатнім для відсутності імунної відповіді у дитини. Такі точкоподібні мутації отримали назву "мутацій втечі" [1, 6, 7, 9, 19]. У хворих на ХГВ виявлені штами HBV з мутаціями у гені S, які не стосувалися детермінанти "а" [7,19].

Раніше вважалося, що зникнення з крові HBsAg і поява антитіл до нього є надійним маркером одужання від ГВ та найбільш важливою ознакою ефективності протівірусної терапії хворих на ХГВ [1, 2, 8, 9]. Але надалі були описані випадки інфікування препара-

тами крові, що містили лише HBsAb і HBcAb Ig G. Встановлено, що у таких хворих у клітинах крові, в печінці та деяких інших тканинах можна знайти ДНК HBV, а гістологічні зміни можуть бути ідентичними таким у HBsAg-позитивних хворих. За появи несприятливих факторів (зловживання алкоголем, імуносупресія) інколи відбувається реактивація хвороби з появою ДНК збудника в плазмі крові [1, 6, 19, 23]. У хворого, який вважався звільненим від HBV і мав "надійний" імунний захист (HBsAg - , HBcAb Ig G + , HBeAb Ig G + , HBsAb Ig G +), з біоптату печінки виділили ДНК вірусу, яка мала численні мутації всіх генів - S, C, P та X [6,19]. HBsAg-негативні штами HBV, що виникають унаслідок S-генних мутацій, можуть бути причиною більш тяжкого клінічного перебігу інфекції та її частішої хронізації, скорішого розвитку ЦП і ГЦК, нечутливості до протівірусних препаратів [1, 3, 4,19].

Крім групоспецифічної детермінанти HBsAg "а", існують субтипові детермінанти d, y, w, r, k, t, g, x, f. Відповідно класифікують 9 основних (ayw1, ayw2, ayw3, ayw4, ayz, adrq-, adrq +, adw2, adw4) та 5 додаткових, більш рідких (awr, adrw, adyr, adyw, adywr) субтипів HBsAg. Постійно окремі субтипи HBsAg HBV зустрічаються тільки в певних регіонах: зонах "Y", "D", "R" та у змішаній. В Україні та Росії частота виявлення субтипів HBsAg з детермінантою ay складає 65-95%, у Литві та Молдові - 72-84% (зона "Y") [5-7]. Мутаційна зміна детермінанти "а" в кожному з субтипів робить HBV "незнайомим" для традиційної діагностики та специфічної профілактики. Відомості щодо ефективності протівірусної терапії хворих на ХГВ, що спричинюється такими мутантними штамами, поки що поодинокі та суперечливі [13,15, 19, 22].

Загальновідомий факт пригнічення реплікації HBV при коінфекції чи суперінфекції HCV, які супроводжуються зникненням з крові не тільки HBeAg, а, з часом, і ДНК HBV та навіть HBsAg. Єдиними маркерами наявної інфекції у таких хворих можуть бути тільки HBcor Ab Ig G, хоча низькі концентрації ДНК HBV присутні в біоптатах печінки, в деяких клітинах крові, кісткового мозку. Інколи в крові відсутні й HBcorAb Ig G, а ДНК збудника в тканині

печінки й антитіла до HBsAg у сироватці крові є єдиними маркерами інфекції. Вважається, що одним із механізмів такої взаємодії HCV та HBV можуть бути мутації геному останнього. Вони відбуваються не тільки в ділянці pre-C а й у pre-S 1 та pre-S 2, що призводить до ухилення збудника від імунної відповіді та більш швидкої інтеграції геномів вірусу і гепатоцитів. Це може бути однією з причин більшої частоти і більш раннього розвитку цирозу печінки, ГЦК в осіб з одночасним перебігом HCV та HBV — хронічних інфекцій порівняно з відповідними моноінфекціями [1, 2, 19, 23].

Таким чином, відрізняють дві основні причини відсутності HBsAg в крові: зазначена вище мутація гена, що кодує його синтез (тоді, зазвичай, наявність інфекції підтверджується позитивною ДНК HBV у плазмі крові), або дуже низька реплікація вірусу з дуже малим вмістом не тільки HBsAg, що не знаходять за допомогою звичайних тест-систем ІФА чи ІХА, а й ДНК HBV, яку не виділяють за допомогою ПЛР. Останній випадок найчастіше спричинюється одночасними хронічними вірусними інфекціями, що значно пригнічують реплікацію HBV (найчастіше — HCV, але інколи й HDV, HIV) [1, 17, 19, 23].

Отже, відсутність HbsAg не свідчить про відсутність ХГВ! При позитивних anti-Hbcor Ig G (загальних anti-Hbcor) і негативному HbsAg слід визначити DNA HBV за допомогою ПЛР. Позитивний результат буде свідчити на користь ХГВ (HbsAg-негативного, "прихованого"). Можливість такої форми гепатиту врахована й в останніх рекомендаціях експертів ВОЗ щодо класифікації ХГВ (2005 рік).

У нашій клініці протягом 1998 - 2006 років при обстеженні 384 дорослих хворих на ХГВ моноінфекцію HBV діагностовано лише у 61 (15,9%), ХГВ + ХГД — у 6 (1,6%), ХГВ + ХГС — у 48 (12,5%), ще у 9 (2,3%) — ХГВ + ХГГ (рис. 1). Спостерігали тільки дорослих хворих, не інфікованих ВІЛ, які не вживали наркотичні речовини.

Але й серед таких хворих, як свідчать дані рис. 1, мікст-інфекція HBV зустрічалась частіше (у 16,4%), ніж моноінфекція. При останній жодного випадку HBsAg-негативного ХГВ не було, як і у 6 хворих на

ХГВ + ХГД. Водночас серед 48 хворих на ХГВ + ХГС у 19 звичайними методами ІФА не знаходили HBsAg (39,6%). З них лише у 4 його знайшли на межі визначення за допомогою імунохемілюмінесцентного аналізу (ІХЛА), у 1000 разів більш чутливого за ІФА 3 покоління. У всіх випадках серологічними маркерами такого HBsAg-негативного ХГВ (Occult HBV infection) були HBcor Ab Ig G, в 11 — ще й HBeAb Ig G (у них же у плазмі крові знаходили і ДНК HBV за допомогою ПЛР). У 8 хворих на ХГВ + ХГС єдиним маркером HBV-інфекції у крові були HBcor Ab Ig G, а ДНК HBV за допомогою ПЛР знайшли тільки у біоптатах печінки. ХГ у них відрізнявся низькою або мінімальною активністю запалення, але значним і прогресуючим фіброзом печінки. Водночас серед 56 хворих з гострим ГВ на тлі ХГС були лише 4 випадки HBsAg-негативної HBV-інфекції (7,1%). Порівняння кількості хворих з позитивними маркерами ГВ у крові при гострому ГВ, ХГВ + ХГС, ХГВ (моноінфекція) та гострому ГВ на тлі ХГС наведено на рис. 2. Як свідчать його дані, HBsAg-негативний ГВ спостерігався при хронічній HCV + HBV інфекції (у 19 хворих, 39,6%) порівняно з гострою HBV-інфекцією на тлі ХГС (у 4 хворих, 7,1%) й, особливо, ХГВ — моноінфекцією (позитивний HBsAg у 100% хворих) достовірніше (P відповідно <0,02 та <0,001).

До мутацій гена Р, що кодує полімеразу HBV (її властиві ензиматичні функції ДНК-полімерази, рибонуклеази і зворотної транскриптази), найчастіше призводить лікування ламівудином. Більшість мутацій гена Р є летальними для збудника і припиняють його розмноження. Але деякі, насамперед так звана YMDD-мутація, залишають вірус життєздатним, не чутливим до ламівудину, що призводить до рецидиву хвороби й інколи навіть до фатальної печінкової недостатності [2, 8, 9, 17, 18, 22].

Досліджені 4 форми мутацій Р-гена, що викликають резистентність до ламівудину: L180M + M240V (спостерігають у 60%), V173L + L180M + M204V, M204I та L180M + L180M. Всі ці форми містять M240V або M204I, тобто мутації, що зачіпають ділянку YMDD. Мутації гена Р типу YMDD виникають у 16 - 20% хворих протягом вже 1 року лікування ламівудином (найчастіше — через

Класифікація хронічної HBV-інфекції залежно від спектра її маркерів

Таблиця

Маркери HBV	HBsAg	HBsAb	HBcAb	HBeAg	HBeAb	HBV DNA
Хронічна реплікативна інфекція						
HBeAg - позитивні хворі	+	-	+	+	-	+
HBeAg - негативні хворі**	+	-	+	-	+	+
Прихована (Occult) HBV - інфекція	-	-	+	-	+	(+)*
Імунотолерантна (інтегративна) HBV - інфекція	+	-	+	-	+	-

* визначається тільки методами ПАР

** *pre core* мутантні штами HBV

6 місяців) і проявляються появою ДНК HBV у плазмі крові, підвищенням активності АлАТ [18,19, 22, 23].

У нашій клініці при лікуванні 37 хворих на ХГВ ламівудином по 100 мг щоденно внутрішньо протягом року ознаки таких мутацій фіксували у 7 (18,9%), тоді як у 24 хворих на ХГВ, за якими проводилось тільки спостереження, таких ознак не було взагалі. Мутації виникали переважно у хворих на HBeAg-негативний ХГВ (у 6 з 30, або у 20%) й супроводжувались подальшою більшою активністю запалення у печінці й гіршою чутливістю до наступного лікування. Так, через 2 роки після відміни ламівудину 5 із них був призначений біциклол по 25 мг внутрішньо тричі на добу, який через 6 місяців лікування у жодному випадку не дав зниження вірусемії (згідно з даними Real Time PCR). Водночас біциклол у тій же дозі протягом також часу отримали 6 хворих на ХГВ, яких до цього не лікували ламівудином. Достовірне (щонайменше, у 10 разів порівняно з початковим рівнем) зниження вірусемії отримали у 2 із них, а зменшення активності АлАТ та АсАТ — ще у 3. Отже, не дивно, що ентекавір (Baraclude) рекомен-

дують призначати хворим, які раніше не лікувались ламівудином, у дозі 0,5 мг на добу, а хворим, які цей препарат вже отримували, у дозі 1 мг на добу [14, 15, 18].

У багатьох країнах досліджували профіль перехресної резистентності різних противірусних агентів щодо кожної з 4 поширених YMDD-мутацій, що спричинюють резистентність до ламівудину. Вивчали L-нуклеозиди (ламівудин, емтрицитабін, телбівудин, L-dC, L-Da і клебудин), ациклічні фосфатні нуклеозиди (адефовір, тенофовір, аламіфовір), ентекавір і діоксолан гуанозину (DXG). Усі форми резистентності до ламівудину також виявились сполученими з висо-

ким ступенем нечутливості до всіх L-нуклеозидів. А от ациклічні фосфатні нуклеозиди в усіх випадках зберігали ефективність щодо всіх із 4 типів YMDD-мутацій. Ентекавір і DXG розташувались між цими крайніми рівнями резистентності. Таким чином, за наявності резистентності до ламівудину, жоден з L-нуклеозидів неспроможний ефективно пригнічувати вірусемію. Водночас, хоча всі мутантні штами HBV, резистентні до ламівудину, продемонстрували резистентність і до ентекавіру, останній ефективно пригнічував вірусемію у HBeAg-позитивних пацієнтів, нечутливих до ламівудину. Знайдено 2 мутації (M259V й T184G + S202I), що обумовили нечутливість до ентекавіру. Вона розвинулась лише у хворих, резистентних до лікування ламівудином [18, 22].

Найчастішими є мутації в ділянці pre-C гена, що кодує HBeAg [7, 11, 21, 22]. HBeAg знаходиться в ядрі HBV, існують щонайменше 3 його серотипи. Він складається з білків, розчинних у сироватці крові хворого, тому його там можна знайти за допомогою поширених методів діагностики (імуноферментного чи імунохроматографічного). HBeAg має зв'язок з ДНК-

полімеразою. Це дає змогу вважати його антигеном інфекційності. Наявність HBeAg у крові свідчить про активне розмноження вірусу, реплікативну (імуноактивну) фазу ГВ [3, 6, 9, 23]. Але в осіб молодого віку, інфікованих під час або в перші 3 роки після народження, HBeAg знаходять у крові на тлі нормальних показників активності АЛАТ й АсАТ. У них відсутні гістологічні ознаки активного запалення в печінці (найчастіше за рівня вірусемії 10^4 копій ДНК/мл у ПЛР), що свідчить про імунотолерантну стадію ХГВ. Етіотропне лікування таких хворих існуючими засобами не ефективно, призводить до небажаних наслідків та ускладнень. Водночас у деяких країнах Середземного моря, Середнього Сходу й Південно-Східної Азії від 30 до 80% хворих на ХГВ в імуноактивній стадії хвороби не мають HBeAg у крові (переважно особи старшого віку, з підвищеними показниками активності АЛАТ й АсАТ, рівнями вірусемії >math>10^5</math> копій ДНК/мл у крові й гістологічними ознаками активного запалення в печінці). Серед населення Європи та Північної Америки HBeAg у сироватці крові немає тільки у 10-40% хворих на ХГВ. Подібні відмінності можуть бути зумовлені цілою низкою факторів, таких, наприклад, як шлях інфікування, вік інфікованих, їх стать, імунологічний статус, тривалість HBV-інфекції [6, 11, 12, 17, 23].

Найчастіше подібні відмінності зумовлені мутацією, коли відбувається заміна гуаніна на аденін у нуклеотиді 83 пре-сог ділянки С-гена. Це призводить до утворення блокуючого кодону в положенні 83 і припинення синтезу HBeAg [4, 7, 10, 12].

Згідно з дослідженнями, проведеними у нашій клініці (рис. 2), серед 61 дорослого хворого на HBV-інфекцію HBeAg-негативний ХГВ був у 48 (78,7%), а серед 48 хворих на мікст-гепатит ГС + ГВ — у 44 (91,6%, $P < 0,02$). Водночас серед 9 хворих з мікст-гепатитом ХГВ + ХГГ HBeAg-негативний був у 7 хворих (77,8%). Можливо, HGV-інфекція не має такого мутагенного впливу на HBV порівняно з HCV-інфекцією. У всіх 6 випадках ХГД + ХГВ був виключно HBeAg-негативний ХГВ, що характеризувався низькою реплікативною активністю (переважно 10^3 копій/мл DNA HBV у плазмі крові).

Існує певний зв'язок, що наразі інтенсивно вивчається, між генотипом HBV і частотою та типом мутації в пре-сог ділянці С-гена. Всього відомо 8 генотипів HBV: А, В, С, D, Е, F, G та Н. Кожен із генотипів виділяють тільки від населення окремих регіонів. Наявність того чи іншого генотипу може впливати на перебіг інфекції, її наслідки та ефективність лікування. Генотипи В та С переважають в Азії, генотип А — у Північній Америці і Західній Європі, генотип D — у регіоні Середземного моря, в Південній Європі та в Європейській частині Росії. Генотип Е найчастіше зустрічається в Африці, генотип F — у Центральній та Південній Америці. У Західній Європі генотипи А виявляють у 54%, D — у 19%, С — у 12%, G — в 11%, В — у 3%, Е — лише в 1% хворих. У зразках крові, вивчених в Україні, генотип D знаходили в 97,8%, тоді як генотип А — лише у 22%. Виявлений певний зв'язок мутацій гена С у різних генотипів HBV з сероконверсією HBeAg на HBeAb. Встановлено, що серед штамів генотипів В, С, Е мутації були в промоутері серцевини чи у кодоні 28 pre-C, або водночас в обох місцях. Мутації ж в інших ділянках pre-C були серед штамів генотипів А і D. Існують повідомлення, що мутація, яка призводить до зникнення з сироватки крові HBeAg, найбільш характерна для генотипу D HBV і рідко пов'язана з генотипом А вірусу. Генотип С, порівняно з іншими, має також більш значну частоту мутацій в соге-ділянці геному HBV. При цьому відбувається подвійна заміна нуклеотидів (аденіну на тимідин у позиції 1762 й гуаніну на аденін у позиції 1764) в головній ділянці соге promoter (BCP) С-гена, що також призводить до утворення стоп-кодону та припинення синтезу HBeAg [6, 7, 11, 16, 21].

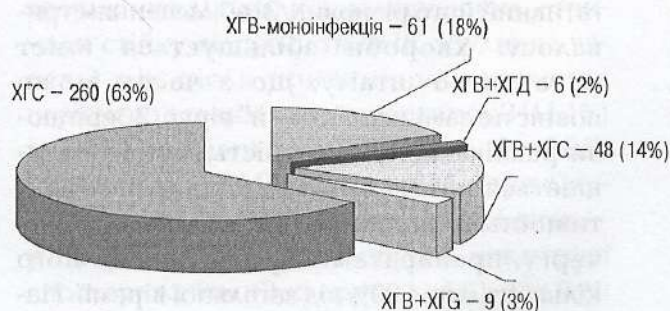


Рис. 1. Розподіл 384 хворих на хронічні вірусні гепатити залежно від їх етіології в клініці інфекційних хвороб НМУ (1998-2006 рр.)

Точкоподібні мутації можуть відбуватися й в інших локусах генів С та рге-С. Білок "е" є продуктом трансляції ділянок рге-сог і С генів HBV. Йому властива імунomodуюча функція. Він містить епітоп для В- і Т-клітин, тому мутаційні зміни, що відбуваються в зазначених ділянках генів HBV, не тільки призводять до утворення нових варіантів вірусу, а й змінюють імунну відповідь на збудник, перебіг та наслідки хвороби [1, 2, 4, 5, 8]. Такі мутантні, HBeAg-негативні різновиди HBV більш легко звільняються від нагляду імунної системи людини і спричиняють тяжкий клінічний перебіг гострого ГВ аж до розвитку фульмінантної форми або прискорюють розвиток ЦП і ГЦК. Так, поява HBeAg-негативних штамів вірусу призводить до розвитку цирозу печінки у 60 % дорослих хворих на ХГВ протягом 6 років [23]. Наявність різних генотипів HBV у різних регіонах світу, можливо, пояснює, чому в деяких країнах (Ізраїль, Японія, Китай) HBeAg-негативний мутант HBV спричиняє фульмінантний ВГВ, тоді як в інших країнах (США, Франція) такої залежності немає [4, 6, 10, 11].

При обстеженні 34 хворих на фульмінантний ГВ у нашій клініці протягом 1999-2002 років HBeAg був позитивний лише у 16 (47,1%). Водночас серед 84 обстежених хворих на тяжкий гострий ВГ HBeAg був позитивний у 51 (60,1%), що вірогідно частіше ($P < 0,03$). Легкий і середньої тяжкості перебіг гострого ГВ у 128 обстежених у той же час хворих характеризувався наявністю HBeAg лише у 49 випадках (38,4%). Отримані дані слід оцінювати з урахуванням того, що в одних і тих же хворих на ГВ одночасно можуть співіснувати "дикий" HBeAg-позитивний штам HBV і мутантний, HBeAg-негативний його різновид. Зі збільшенням тривалості хвороби збільшується вміст мутантного штаму, що з часом може повністю замінити "дикий" вірус. Зберігаючи реплікативну активність, мутант залишається патогенним і впливає на ефективність етіотропного лікування (в першу чергу, препаратами α_2 -ІФН), якщо його кількість сягає 20% від загальної віремії. Наявність таких рге-С мутантів у хворих на ХГВ у пізніх стадіях хвороби супроводжується зниженням Т-клітинної імунної

відповіді на вірус і свідчить, що елімінація збудника внаслідок лікування інтерфероном не буде досягнута [1, 8, 12, 13, 15-17].

Дорослі хворі на HBeAg-негативний ХВГВ мають тенденцію мати більш низький рівень вмісту ДНК HBV у плазмі крові і більш високу вірогідність хвилеподібного перебігу хвороби, яка характеризується періодично або постійно підвищеним рівнем активності АЛАТ у сироватках крові [17, 21, 23].

Описані випадки захворювання на хронічний ГВ, спричинений штамами вірусу з одночасними мутаціями в С- та Р-генах. У таких випадках у крові були відсутні HBsAb (як Ig M, так і Ig G), HBeAb, HBeAg, були позитивними тільки HBsAg та ДНК HBV. У нашій клініці таких випадків не було. Описані випадки і гострого ВГВ з такими ж маркерами в крові й відповідними мутаціями генів вірусу [1, 9, 19, 21]. Припускають, що подібні мутанти HBV здатні до реверсії в "дикі" варіанти вірусу. Загалом можлива реверсія більшості мутантних штамів HBV у "дикі", у тому разі й під впливом противірусних препаратів, а також співіснування одночасно "диких" і мутантних штамів в організмі. Це пояснює віддалені рецидиви хвороби у хворих на ГВ, які "одужали" чи були "вилікувані". Цим же пояснюються і рецидиви під час етіотропного лікування, а також більш часте виникнення резистентності до аналогів нуклеозидів за попередньої її наявності до одного з них [17, 22, 23].

Можливо, мутації у ділянці Х-геному HBV, що кодує HBxAg, у хворих на ХГВ мають відношення до канцерогенезу. Мутації Х-гена, при яких частково або повністю випадає Х-регіон, призводять не тільки до припинення синтезу Х-антигену HBV, а й до суттєвого зменшення синтезу інших антигенів вірусу та його реплікації. У таких хворих єдиними маркерами HBV-інфекції можуть бути HBsAb та ДНК вірусу. Існує припущення, що такі мутанти HBV можуть зустрічатися частіше, ніж мутанти рге-С, S-регіонів. Мутації в рге-С та Х-генах дозволяють вірусу уникати імунної відповіді й елімінації з організму [4, 6, 7, 9, 11, 21, 22].

Мутації генів HBV мають найбільше значення для ефективності противірусної терапії. При їх вивченні дійшли висновку, що

більшість нелетальних для вірусу мутацій сприяють досягненню їм стійкості до дії противірусних препаратів [10, 11, 18, 21, 22].

Більшість досліджень порівняної ефективності противірусної терапії стосуються лікування хворих на HBeAg-негативний ХГВ, спричинений мутантними штамми HBV.

Однак відомості щодо більшої ефективності ламівудину в лікуванні хворих на HBeAg-негативний ХГВ, ніж на HBeAg-позитивний досить суперечливі [2, 9, 16, 17]. Незначна кількість (всього 7) HBeAg-позитивних хворих на ХГВ, що отримували протягом року лікування ламівудином у нашій клініці порівняно з HBeAg-негативними (30), не дала змогу на вірогідні висновки.

Водночас лікування препаратами α_2 -ІФН (особливо пегільованими) більш ефективне у хворих на HBeAg-позитивний, ніж на HBeAg-негативний ХГВ. Але це вірно лише за умови низької вірусемії і високої (більше 3 норм) активності АлАТ [14, 16-18, 23]. Наявність HBeAg-негативного штаму HBV вважається фактором, що зменшує ефективність лікування як звичайними, так і пегільованими препаратами α_2 -інтерферону (ПЕГ α_2 -ІФН) [12, 13, 16-18, 20]. Але останні мають доведену, значно більшу ефективність у лікуванні хворих на HBeAg-негативний ХГВ, ніж відомі прості препарати інтерферону та аналоги нуклеозидів (у першу чергу — ламівудин) [13, 17, 18, 23]. Комбіноване ж лікування ламівудином та ПЕГ α_2 -ІФН не виявило переваг перед монотерапією останніми, водночас будучи достовірно ефективніше за лікування одним тільки ламівудином. Тому на разі лікуванням вибору хворих на HBeAg-негативний ХГВ у реплікативній фазі поки що є застосування саме пегільованих препаратів $\alpha_{2\beta}$ -ІФН або $\alpha_{2\alpha}$ -ІФН [8, 13, 16, 17, 23].

Про важливе значення генетичної будови HBV для прогнозування наслідків противірусного лікування свідчать дані попередніх досліджень щодо більшої ефективності комбінованого застосування пегільованого $\alpha_{2\beta}$ -ІФН і ламівудину порівняно з монотерапією кожним із них лише у хворих з D-генотипом вірусу порівняно з С- та В-генотипами. Водночас мутації, що призводять до зникнення HBeAg, найбільш притаманні саме цьому генотипу. Подібні попередні дані от-

римані й щодо ефективності комбінованого лікування препаратами α_2 -ІФН та адефовіром [15, 20]. Це особливо важливо для України, де, за попередніми дослідженнями, переважає саме D-генотип вірусу [5].

Монотерапія ламівудином (100 мг/добу per os щодня) дорослих хворих на ХГВ, спричинений мутантними, HBeAg-негативними штамми, протягом року дає стійку вірусологічну відповідь (відсутність ДНК HBV у плазмі крові) лише у 12-16% випадків. Сероконверсія HBsAg на HBsAb загалом буває лише у 6-11% хворих. Продовження термінів лікування до 2-3 років призводить лише до збільшення мутантних (YMDD) штамів HBV у 30-40% хворих, що супроводжується збільшенням як побічних явищ, так і рецидивів хвороби [15, 17, 23].

Фактично, терапія хворих на ХГВ, спричинений мутантними, HBeAg-негативними штамми вірусу, після невеликого лікування ламівудином є найскладнішою проблемою. Мова йде в таких випадках про наявність щонайменше двох мутацій — у генах Р (YMDD-мутація) та рге-С. Не дивно, що в таких випадках більш часто виникають й інші мутації і відповідна резистентність до інших аналогів нуклеозидів, ніж у хворих на HBeAg-позитивний ХГВ, що не лікувались ламівудином [14, 17, 18, 22, 23].

У нашій клініці протягом 1999-2003 років у 30 хворих на HBeAg-негативний ХГВ проведено вивчення лікування ламівудином у дозі 100 мг внутрішньо на добу протягом 1 року (монотерапія у 16 й у сполученні з аміксином — у 14 хворих). Порівняння кінцевих (особливо — віддалених) результатів з відповідними у групі з 18 хворих, що протягом 3-х років спостереження не отримували ніякої противірусної терапії, підтвердило низьку його ефективність. Лише у 5 (16,7%) хворих, що лікувались ламівудином, отримали стійку відсутність ДНК-збудника через 1 рік після припинення лікування порівняно з таким же результатом у 2 (11,1%) хворих, які його не отримували ($P=0,05$). Сероконверсія HBsAg на HBsAb при лікуванні ламівудином була ще більш рідкою — у 3 (10%) й вірогідно не частішою, ніж у групі спостереження (2 хворих, 11,1%) ($P=0,1$). Проблема полягає ще й у тому, що мутантні штамми HBV (YMDD), що виникли внаслідок лікування ламівудином, частіше стають

нечутливими й до деяких інших аналогів нуклеозидів — адефовіру й ентекавіру порівняно зі штамми вірусу в хворих, які не отримували цей препарат. Можливо, це не стосується тенофовіру, застосування якого в лікуванні рецидивів ХГВ після терапії ламівудином наразі вважають найбільш перспективним [2, 14, 23].

Цікаво, що після відміни ламівудину подальше призначення хворим на ХГВ адефовіру в дозі 10 мг/добу може призводити до появи в крові HBeAg та рецидивів хвороби. Тому у випадках появи мутантних штамів HBV на тлі лікування ламівудином найбільш доцільним виявилось додавання до нього адефовіру чи ентекавіру, але не пізніше 6 місяців від початку противірусної терапії. Наразі цариною монотерапії хворих на ХГВ вивченими аналогами нуклеозидів (у країнах ЄС — ламівудин та адефовір, у Сполучених Штатах — ще й ентекавір) все ж є хворі з HBeAg-позитивним ХВГВ (спричинений "дикими" штамми) у стадії цирозу печінки, після її пересадки, особливо наразі розвитку фульмінантного ГВ, у випадках непереносимості α_2 -ІФН та необхідності екстреної профілактики при вірогідному інфікуванні HBV [15, 18, 23].

Ентекавір (потенційний селективний інгібітор HBV-полімерази) виявився більш

ефективним, ніж ламівудин, при лікуванні протягом 96 тижнів лише хворих на HBeAg-позитивний ХГВ. Водночас не було хворих з мутантними, резистентними до ентекавіру штамми HBV через 2 роки від початку лікування ним. Водночас як у 10% хворих, які мали попередню резистентність до ламівудину, обумовлену появою мутантних штамів збудника, через 2 роки лікування ентекавіром, виникла резистентність і до цього препарату [2, 15, 22].

Адефовір у хворих на HBeAg-негативний ХВГВ не виявив переваг перед ламівудином, тоді як більше було ускладнень з боку нирок. Мутації A181V й (або) N236T, що призводили до резистентності до адефовіру в дозі 10 мг/добу *per os*, виникали через 2 роки лікування у 3%, через 3 роки — в 11%, через 4 роки — у 18%, через 5 років — у 28% хворих. Загалом, мутації, що спричинюють резистентність до препарату, при лікуванні адефовіром виникають пізніше, ніж при лікуванні ламівудином, але це не призводить до достовірно більшої кількості стійкої вірусологічної відповіді у хворих на HBeAg-негативний ХВГВ. Водночас у тих із них, хто мав попередню резистентність до ламівудину, значно скоріше (вже через 48 тижнів) й у значній кількості випадків (до 19%) виникали мутації HBV типу A181V/T й (або)

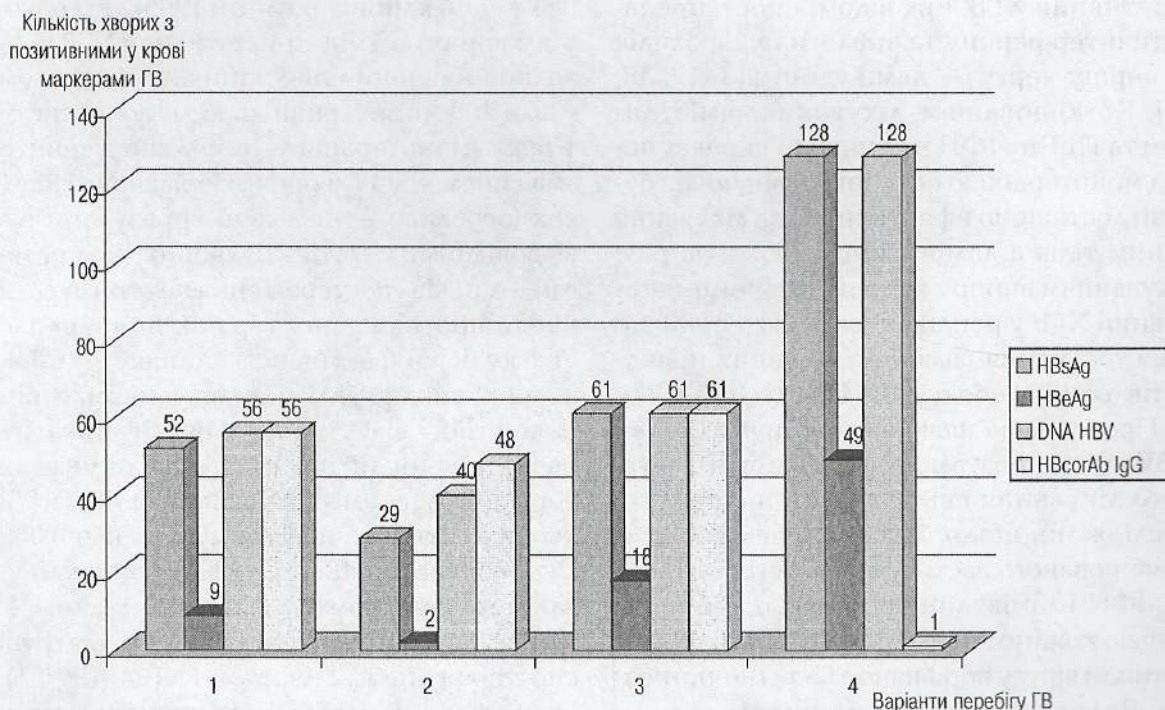


Рис. 2. Порівняння кількості хворих з різними маркерами ВГВ залежно від варіантів перебігу хвороби (1 — гострий ГВ+ХГС, 2 — ХГВ+ХГС, 3 — ХГВ, 4 — гострий ГВ)

N236T з виникненням резистентності до адефовіру. Тому існує висновок, що мутації у хворих, що отримували лікування ламівудином, на тлі лікування адефовіром значно частіші, і така послідовність лікування не раціональна. Навпаки, додавання адефовіру в дозі 10 мг/добу *per os* хворим до лікування ламівудином наразі виникнення резистентності до останнього є більш ефективним, супроводжується меншою кількістю появи мутантних, резистентних до адефовіру, штамів HBV. Послідовне ж застосування ламівудину й адефовіру є не доцільним. Розвиток мутацій, що спричинюють резистентність до адефовіру, достовірно частіше спостерігали у хворих з D-генотипом HBV [14, 16, 18, 23], що є особливо актуальним для України [5].

Комбінована терапія хворих на ХГВ не призводила до покращання вірусологічної відповіді й, відповідно, до зменшення мутантних, резистентних до нуклеозидів штамів HBV при застосуванні сполучень ламівудин + телбівудин або ламівудин + адефовір порівняно з монотерапією кожним із препаратів. Лише комбіноване лікування адефовіром по 10 мг/добу у сполученні з емцитрабіном по 200 мг/добу протягом 48 тижнів виявилось більш ефективним, ніж монотерапія кожним з препаратів, але тільки у хворих на HBeAg-позитивний ХГВ [18].

Враховуючи зростаюче значення HBeAg-негативних штамів HBV у розвитку більш тяжких і прогностично не сприятливіших уражень печінки порівняно з класичним HBeAg-позитивним штамом, все більш актуальним стає розробка нових та дослідження ефективності відомих противірусних засобів, які потенційно можуть дати змогу більш успішно боротися не тільки з "дикими", а й з мутантними вірусами. Серед них наразі заслуговують на увагу телбівудин, тенофовір, емтрицитрабін, клевудин, а також препарат подвійної (прямої противірусної та імуностимулюючої) дії — α_1 -тимозин (задаксин) [2, 14, 20].

Більш ефективним, ніж ламівудин, у лікуванні хворих на HBeAg-негативний ХГВ виявився α_1 -тимозин. Він навіть давав більш часту стійку вірусологічну відповідь у цих хворих, ніж монотерапія препаратами звичайного α_2 -ІФН [8, 20].

Додавання α_1 -тимозину до лікування "проблемних" хворих на HBeAg-негативний ХГВ з рецидивами на тлі лікування як ламівудином, так й, особливо, α_2 -ІФН, також суттєво покращувало безпосередню ефективність терапії та її віддалені наслідки. Комбіноване лікування α_1 -тимозином і ламівудином достовірно рідше спричинювало появу мутантних YMDD штамів HBV та рецидивів хвороби, ніж монотерапія ламівудином. Аналогічні відомості отримані щодо комбінованого лікування α_1 -тимозином та пегільованим α_2 -ІФН, а також адефовіром та α_1 -тимозином [2, 8, 20].

При лікуванні хворих на ХГВ, спричинений мутантними, HBeAg-негативними штамми вірусу, аналогом L-нуклеозидів клевудином у дозі 30 мг/добу протягом 24 тижнів отримані кращі результати, ніж при лікуванні ламівудином чи адефовіром. Не було зафіксовано виникнення резистентності до препарату. Так само більш ефективним виявилось і лікування телбівудином, ніж ламівудином хворих як на HBeAg-негативний, так і на HBeAg-позитивний ХВГВ протягом 76 тижнів зі значно рідшою резистентністю до телбівудину [18, 23].

Порівняння ефективності лікування протягом 18 місяців ВІА-інфікованих хворих на ХГВ, спричинений мутантними, ламівудин-резистентними штамми HBV, адефовіром й тенофовіром, продемонстрували більшу ефективність останнього без виникнення резистентності до препарату. Водночас монотерапія тенофовіром у дозі 245 мг/добу виявилась такою ж ефективною, як і комбіноване лікування цим препаратом і ламівудином протягом 24 місяців [18].

Отримані нами результати свідчать про досить незначну (15,9%) питому вагу HBV-моноінфекції серед дорослих хворих на ХВГ порівняно з ХГС (у 59% — моноінфекція). Виявлена досить висока частка мікст-інфекцій з HBV (усього — 16,4%) зі значним переважанням ВГВ + ВГС (12,5%). Саме при останньому варіанті нами підтверджена наявність значної кількості мутантних штамів HBV: HBeAg-негативних (92,8% порівняно з 78,8% при HBV-моноінфекції) та HBeAg-негативних (39,6% тільки при мікст-інфекції з HCV),

що становить значну проблему для специфічної діагностики й лікування. Отримано вірогідно значне переважання HBeAg-негативного ХГВ (78,7%) порівняно з HBeAg-позитивною хронічною HBV-моноінфекцією (21,3%, $P < 0,01$) в обстежених у нашій клініці хворих. Це певною мірою обумовило й відомі проблеми їх противірусного лікування з застосуванням ламівудину. Проведене нами вивчення лікування ламівудином у дозі 100 мг внутрішньо на добу протягом 1 року 30 хворих на HBeAg-негативний ХГВ підтвердило низьку його ефективність (лише 16,7% стійкої відсутності ДНК збудника порівняно з таким же результатом в 11,1% хворих, що протягом 3 років спостереження не отримували ніякої противірусної терапії). Більш ефективним є лікування таких хворих препаратами ПЕГ ІФН α_2 і задаксином, але воно надто дороге й можливе не у всіх хворих (некомпенсований ЦП). Інші ж нуклеозидні аналоги, досить вивчені у США та Європі (адефовір, ентекавір, тенофовір, телбівудин), на жаль, наразі в Україні не зареєстровані.

Таким чином, навіть ще не досить вивчені мутації генів HBV, вже мають важливе значення для клініцистів та епідеміологів. По-перше, справжню поширеність HBV-інфекції не можна вивчати, досліджуючи кров лише на HBsAg і навіть на HBcAb. Дослідження тільки на ці маркери HBV недостатньо при обстеженні донорської крові, вагітних, при вирішенні питання про доцільність вакцинації проти ГВ. У таких

випадках необхідне також визначення ДНК HBV у плазмі крові. Для специфічної профілактики ГВ більшу перспективу мають комбіновані вакцини, що викликають утворення антитіл не тільки до HBsAg, а й до інших антигенів вірусу. Хворі на ХГС обов'язково мають бути обстежені не тільки на HBsAg та HBcAb, а й на HBeAb у сироватці крові та на ДНК HBV у плазмі крові чи у біоптаті печінки для виключення мікстинфекції (прихованого, "occult" ХГВ). Застосування більш чутливих, ніж ІФА, методів визначення HBsAg чи HBeAb Ig G (ІХЛА) у таких хворих не раціональне й економічно не виправдане. Випадки резистентності до етіотропних препаратів пов'язані з виникненням мутацій генів HBV. Вірогідність такої резистентності вища у тих хворих, які вже не чутливі до одного з нуклеозидів. Для вирішення питання про доцільність та характер противірусної терапії має значення не тільки кількісне визначення ДНК HBV в плазмі крові за допомогою, наприклад, Real Time PCR, а й визначення мутантних, HBsAg-негативних, а також YMDD — штамів вірусу. Для вирішення питання про доцільність комбінованої (ламівудин чи адефовір у сполученні між собою чи із задаксином, з препаратами пегільованого α_2 -ІФН) або монотерапії цими ж препаратами, можливо, раціональним є визначати в хворих і генотип HBV (хоча б А чи D). Таке ж визначення може виявитися доцільним і для прогнозування наслідків ГВ, що давно вже застосовується при ВГС.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Абдурахманов Д.Т. Клиническое значение и трудности диагностики латентной HBV-инфекции // Вирусные гепатиты: достижения и перспективы. Информационный бюллетень. — 2002. — №1 (14). — С. 11 — 16.
2. Бурневич Э.З. 40 конференция Европейского общества по изучению печени // Гепатологический форум. — 2005. — №2. — С. 28-32.
3. Возианова Ж.И. Инфекционные и паразитарные болезни. — К.: Здоров'я, 2000 — С. 637-638.
4. Майер К.-П. Гепатит и последствия гепатита: Практич. рук.: Пер. с нем. — 2-е изд., перераб. и доп. — М.: ГЭОТАР-МЕД, 2004. — 720 с.
5. Малий В.П., Тимкович М.А. Вплив фенотипічних властивостей вірусу гепатиту В на перебіг гострої та хронічної HBV-інфекції // Науковий вісник Ужгородського національного університету. — Серія "Медицина". — 2007. — № 30. — С. 66 — 69.
6. Парентеральні вірусні гепатити: Навчальний посібник / За ред. І.В. Дзюблик — К.: Олпрінт, 2005. — 168 с.
7. Порохницький В.Г. Вірусні гепатити від А до SEN. — К.: Оранта, 2006. — 192 с.
8. Фадеенко Г.Д., Фролова — Романюк Э.Ю. Перспективы лечения хронического вирусного гепатита В // Сучасна гастроентерологія. — 2004. — №6 (20) — С.21 — 24.
9. Хронический вирусный гепатит / Под ред. В.В. Серова, З.Г. Апросиной. — М.: Медицина, 2004. — 384 с.
10. Шерлок Ш., Дули Дж. Заболевания печени и желчных путей: Практическое руководство. Пер. с англ. / Под ред. З.Г. Апросиной, Н.А. Мухина. — М.: Гэотар Медицина, 1999. — 864 с.
11. Chen C.H., Lee S.M., Hung C.H., Hu T.H., Wang J.H., Wang J.C., Lu S.N., Changchien C.S. Clinical significance and evolution of core promoter and precore mutations in HBeAg-positive patients with genotype HBV B and C: a longitudinal study // *Liver Int.*, 2007. — №6 (27). — P. 806-815.
12. Hou J., Schilling R., Janssen H.L., Hansen B.E., Heijtkink R., Sablon E., Williams R., Lau G.K., Shalm S.W., Naoumov N.V. Genetic characteristics of hepatitis B virus genotypes as a factor for interferon — induced HBeAg clearance // *J. Med. Virol.* — 2007. — 79 (8). — P. 1055 — 1063.
13. Hui A.Y., Chan H.L.-Y., Cheung A.Y.-K. and other. Systematic Review: Treatment of Chronic Hepatitis B Virus Infection by Pegylated Interferon // *Aliment Pharmacol Ther.* — 2005. — N 22 (6). — 519 — 528.
14. Keeffe E.B., Zeuzem S., Koff R.S., Dieterich D.T., Esteban-Mur R., Gane E.L., Jacobson I.M., Lim S.G., Naoumov N., Marcellin P., Piratvisuth T., Zoulim F. Report of an international workshop: Roadmap for management of patients receiving oral therapy for chronic hepatitis B // *Clin. Gastroenterol. Hepatol.*, 2007. — Aug; 5(8). — P. 890 — 897.
15. Lok A.S. The maze of treatment for hepatitis B // *N Engl J Med.* — 2005. — N 352. — P. 2743 — 2746.
16. Lok A.S., McMahon B.J. Chronic hepatitis B // update of recommendations // *Journal of Hepatology* — 2004. — № 39. — P. 857 — 861.
17. Piratvisuth T., Marcellin P., Lau G., et al. ALT flares and sustained ALT response in patients with HbeAg-negative chronic hepatitis B treated with peginterferon alfa-2a(40KD) plus lamivudine or lamivudine alone // *Journal of Hepatology.* — 2004. — № 40. — P. 656 — 668.
18. Pratt Daniel S. Hepatitis B — Current and Emerging Therapies. 56th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases Viral Hepatitis // *Journal of Hepatology*, 2005. — № 43. — P. 656 — 668.
19. Raimondo G., Pollicino T., Cacciola I., Squadrito G. Occult hepatitis B virus infection // *Journal of Hepatology.* — 2007. — № 46. — P. 160 — 170.
20. Saruc M., Ozden N., Turkel N., Ayhan S., Hock L.M., Tuzcuoglu I., Yuceyar H. Long-term outcomes of Thymosin- α_1 and Interferon $\alpha_{2\beta}$ combination therapy in patients with hepatitis B e antigen (HBeAg) negative chronic hepatitis B // *Journal of pharmaceutical sciences.* — July, 2003. — Vol. 92. — № 7. — P. 62 — 68.
21. Scaglioni P.P., Meglari M., Wands J.R. Characterization of hepatitis B virus core mutants that inhibit viral replication // *Virology.* — 2005. — Vol. 205. — P.461-468.
22. Shaw T., Bartholomeusz A., Locarnini S. HBV drug resistance: Mechanisms, detection and interpretation // *Journal of Hepatology.* — 2006. — № 44. — P. 593 — 606.
23. Thomas Howard C. Best practice in treatment of chronic hepatitis B: A summary of the European Viral Hepatitis Educational Initiative (EVHEI) // *Journal of Hepatology* — 2007. — № 47. — P. 588 — 597 // *Journal of Hepatology*, 2006. — № 44. — P. 593 — 606.

УДК: 616.36-002-002:578.891-085

Н.Ч. Корчинский

**МУТАЦИИ ВИРУСА ГЕПАТИТА В
И ИХ КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ**

В статье проведен анализ данных литературы о различных мутантных штаммах вируса гепатита В, в том числе и о HBeAg-отрицательных вариантах возбудителя. Обсуждаются причины мутаций, их разновидности, распространенность в мире. HBeAg-отрицательные мутантные штаммы HBV негативно влияют на клиническое течение болезни и ее исход, на результаты противовирусной терапии. Все более актуальными в наше время становятся разработки новых противовирусных препаратов для борьбы не только с классическими, но и мутантными штаммами HBV. Анализируются собственные данные о распространении и эффективности лечения HBeAg-отрицательного ХГВ.

UDC: 616.36-002-002:578.891-085

M. Ch. Korchinsky

**CLINICAL SIGNIFICANCE OF HEPATITIS B
VIRAL MUTANTS**

In this article we analyse literally facts about HBV mutants, just HBeAg-negative mutants. We describe causes of mutations, their variants, circulation in the world. HBeAg-negative mutants have adverse effect on the clinical current of liver diseases and their consequences. More and more urgent become working out of antiviral preparations for fight against not only classic strains of HBV but against mutant strains also. Own data of frequency and effective treatment of HBeAg-negative HBV is analysed.