

**ПРИЙМА**

Екатерина Николаевна

**ВЛИЯНИЕ ЭТИОТРОПНОЙ ТЕРАПИИ И МОЛЕКУЛЯРНОЙ  
ГЕТЕРОГЕННОСТИ ВИРУСА НА КЛИНИЧЕСКОЕ ТЕЧЕНИЕ ОСТРОГО  
ВИРУСНОГО ГЕПАТИТА В**

14.01.09 – инфекционные болезни

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Санкт-Петербург

2020

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Научный руководитель:**

**Эсауленко Елена Владимировна** – доктор медицинских наук, профессор

**Официальные оппоненты:**

**Горячева Лариса Георгиевна** – доктор медицинских наук Федерального государственного бюджетного учреждения «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства» руководитель отдела вирусных гепатитов и заболеваний печени.

**Михайлов Михаил Иванович** – член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Научно - исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова" Федерального агентства научных организации России, заведующий лабораторией вирусных гепатитов.

**Ведущая организация** – Федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего образования «Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации.

Защита диссертации состоится «\_\_» \_\_\_\_\_ 2020 г. в \_\_\_\_ часов на заседании диссертационного Совета Д208.090.02 при Первом Санкт-Петербургском Государственном медицинском университете имени академика И.П. Павлова (197022, Санкт-Петербург, ул. Рентгена 12, корп. 44, зал заседаний Ученого Совета, ауд.12, 6 этаж).

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 197022, г. Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6 – 8 и на сайте <http://www.1spbgmu.ru/ru>.

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 20\_\_ г.

Ученый секретарь

диссертационного совета Д.208.090.02

доктор медицинских наук, профессор

**Александров Альберт Леонидович**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность темы исследования

HBV-инфекция, являясь одной из приоритетных проблем глобального здравоохранения, может протекать как острое, так и хроническое заболевание [Жданов К.В. и др., 2018; Михайлов М. И., 2018; Ющук Н.Д и др., 2018; World Health Organization. Global hepatitis report, 2017;].

Тяжесть течения острого вирусного гепатита В (ОВГВ) варьирует от субклинических до тяжелых форм, которые хотя и встречаются редко, но в ряде случаев осложняясь печеночно-клеточной недостаточностью с формированием острой печёночной энцефалопатии (ОПЭ), приводят к летальному исходу в 1–4% случаев [Resolution WHA, 2010]. ОВГВ может протекать фульминантно, что требует экстренной трансплантации печени, без проведения которой, летальность может достигать 90% [Pannasie L., et al.,2012].

Исходом ОВГВ у 95-99% взрослых больных является полное выздоровление. В остальных случаях формируется хронизация инфекционного процесса, с последующим развитием (в течение 20–30 лет) в 20–30% случаев цирроза печени и/или гепатоцеллюлярной карциномы (ГЦК) [Горячева Л.Г. и др., 2015; Илунина Л.М. и др., 2015; Nebba G. et. al., 2012; Ott J.J. et. al., 2012]. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) хронический вирусный гепатит В (ХВГВ) занимает первое место среди всех причин смерти больных с патологией печени. За 2015 год большинство летальных исходов были обусловлены циррозом печени (720 тысяч случаев) и ГЦК (470 тысяч случаев) [World Health Organization. Global hepatitis report, 2017].

В настоящее время снижение заболеваемости ОВГВ достигнуто благодаря расширенному доступу к вакцинации [Михайлов М.И., и др., 2013; Шилова И.В., Горячева Л.Г., и др., 2019]. По статистическим данным Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, в Российской Федерации (РФ) охват вакцинацией детей до года в 2018 г. составил 97,4%, тогда как взрослых – 87,8% [Государственный доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2018 году», 2019]. В связи с чем случаи ОВГВ у взрослых продолжают регистрироваться повсеместно, во всех возрастных группах, с одинаковой частотой у мужчин и женщин [Шахгильдян И.В., Михайлов М.И., и др., 2003; Игнатьева М.Е., и др., 2017].

Разработка средств, направленных на подавление репликации вируса гепатита В (ВГВ) и его эрадикации, начата в начале 90-х годов. Первые из них были представлены интерферонами – альфа [Тгеро С.А. et. al., 2013]. В последнее десятилетие используются преимущественно нуклеоз(т)идные аналоги (НА), которые обладают высокой противовирусной активностью, безопасны и принимаются перорально. Этиотропная терапия использовалась и используется до настоящего времени в основном при ХВГВ, направлена на профилактику развития цирроза печени и ГЦК, что снижает смертность, но не приводит к выздоровлению [Grossi G. et. al., 2017].

Среди всех ДНК-содержащих вирусов, ВГВ является наиболее изменчивым, его длительная эволюция привела к появлению различных генотипов, субтипов и «мутантных» штаммов. В настоящее время известно о влиянии молекулярно – генетических характеристик вируса, как на течение заболевания, так и на эффективность терапии HBV- инфекции [Кожанова Т.В., и др.,2013; Елпаева, Е.А. и др, 2014; Герасимова В.В. и др., 2015; Зотова А.В., Слепцова С.С., Михайлов М.И., и др.,2017; Shen S. et. al., 2018; Wang T. et. al., 2018].

### **Степень разработанности темы исследования**

В мировой и отечественной литературе в последнее десятилетие большое внимание уделяется возможностям и проблемам этиотропной терапии ХВГВ: эффективности различных препаратов и длительности терапии с учетом молекулярно-генетической характеристики вируса [Захаров К.А., и др., 2018; Эсауленко, Е.В. и др., 2018; Wang T. et. al., 2018].

В современной научной литературе вопросы развития тяжелых форм при ОВГВ, включая факторы риска, определяющие степень тяжести заболевания, а также этиотропной терапии с использованием средств противовирусной терапии (ПВТ) обсуждаются достаточно редко. Вопрос о влиянии генотипов ВГВ и первичных мутаций в его геноме, способных привести к лекарственной резистентности, особенно при тяжелом течении заболевания, остается окончательно не решенным и требует дальнейшего изучения.

Таким образом, недостаточная изученность вопроса о влиянии гетерогенности ВГВ на клиническое течение заболевания и эффективность этиотропной терапии при ОВГВ предопределила цель и задачи настоящего диссертационного исследования

### **Цель исследования**

Оптимизировать тактику терапии острого вирусного гепатита В при тяжелом течении заболевания с учетом молекулярной гетерогенности вируса.

### **Задачи исследования**

1. На основании эпидемиологических и клинико-лабораторных данных оценить степень тяжести клинического течения ОВГВ у госпитализированных пациентов в период 2009 – 2017гг. и установить долю тяжелых форм заболевания.
2. Определить генетические варианты ВГВ, выделенного у пациентов с ОВГВ с тяжелым течением заболевания и установить их клиническую значимость.
3. Обосновать необходимость этиотропной терапии ОВГВ при тяжелом течении заболевания с использованием НА и определить влияние молекулярно-генетических характеристик вируса на эффективность.
4. Провести анализ результатов отдаленного обследования пациентов, перенесших ОВГВ в тяжелой форме, получивших этиотропную терапию и установить исход заболевания.

### **Гипотеза исследования**

Тяжесть течения ОВГВ варьирует от легкой до тяжелой с признаками, в ряде случаев, печеночной недостаточности (печеночная энцефалопатия, коагулопатия и других). Тяжелое течение заболевания, наряду с другими факторами, может быть обусловлено влиянием различных генотипов и субтипов вируса, а также наличия мутаций, в частности в pre-core/ core областях. Молекулярно - генетическое разнообразие ВГВ возможно оказывает влияние на эффективность этиотропной терапии и способствует развитию осложнений и/или переходу заболевания в хроническую форму, что требует дальнейшего анализа и статистической оценки для оптимизации терапии.

### **Научная новизна**

1. Впервые получены данные о молекулярно-генетической вариабельности ВГВ, циркулирующего на территории Санкт-Петербурга у пациентов с ОВГВ при тяжелом течении заболевания в период 2009 – 2017гг. и определена её клиническая значимость.
2. Получены новые данные, обосновывающие необходимость использования этиотропных средств в терапии ОВГВ при тяжелом течении заболевания, а также определена эффективность и безопасность их применения.
3. Впервые на основании сведений, полученных при отдаленном комплексном клинико-лабораторном и инструментальном обследовании пациентов, перенесших ОВГВ в тяжелой форме и получивших этиотропную терапию, проведена оценка исхода заболевания с подтверждением их выздоровления.

## **Теоретическая и практическая значимость работы**

Результаты проведенных исследований позволили получить объективную оценку клинической значимости генотипа/субтипа ВГВ и мутаций pre-core/core областях генома вируса при тяжёлом течении ОВГВ и эффективности этиотропной терапии.

Результаты исследования обосновывают необходимость оптимизации существующего терапевтического алгоритма ОВГВ при тяжелом течении, с включением препаратов из группы НА, для предотвращения развития осложнений и хронизации инфекционного процесса.

Основные положения и результаты исследования используются в практической работе СПб ГБУЗ «Клиническая инфекционная больница им. С.П. Боткина», СПб ГБУЗ «Городская поликлиника № 107», а также в педагогическом процессе кафедры инфекционных болезней взрослых и эпидемиологии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России, а также внесены в проект Федеральных клинических рекомендаций «Острый вирусный гепатит В у взрослых» (2019 год).

## **Методология и методы исследования**

В работе применена методология специального научного познания с использованием системного подхода, основанного на методах доказательной медицины. Продуктивно применены клинические, инструментальные, лабораторные методы оценки состояния пациента.

## **Основные положения, выносимые на защиту**

1. У пациентов, госпитализированных в Санкт-Петербурге в период 2009–2017гг., ОВГВ в большинстве случаев протекал в лёгкой (30,3%) и средней (25,4%) формах тяжести, доля тяжёлых форм составила 44,3%.

2. В Санкт-Петербурге 80,5% больных ОВГВ с тяжелым течением заболевания инфицированы ВГВ субтипа D2 и 30,0% – «мутантным» штаммом, оказывающим влияние на клиническое течение и эффективность терапии.

3. Использование средств этиотропной терапии при тяжёлом течении ОВГВ способствовало уменьшению продолжительности основных синдромов и осложнений заболевания, определяющих его тяжесть, а также длительности вiremии и сроков достижения сероконверсии по HBsAg.

4. В ходе длительного диспансерного наблюдения пациентов после окончания этиотропной терапии подтверждено их полное выздоровление – отсутствие фибротических изменений в печени, HBsAg и ДНК ВГВ в плазме крови.

### **Степень достоверности и апробация работы**

Степень достоверности результатов проведенного исследования определяется соответствием его дизайна критериям доказательной медицины, анализом репрезентативных выборок обследованных пациентов, достаточным объемом выполненных наблюдений с использованием современных методов исследования. Использованные статистические методы соответствуют поставленным задачам, а определённые положения, выводы и практические рекомендации аргументированы и вытекают из анализа полученных данных.

Результаты диссертационного исследования доложены на V Ежегодном Всероссийском Конгресса по инфекционным болезням 25-27 марта 2013 года, г. Москва; Конференции врачей Мариинской больницы 2013 года, г. Санкт-Петербург; Конференции молодых учёных «Перспективы развития медицинской науки и практики» 2014 года, Санкт-Петербург; VII Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням 2015 года г. Москва; XIX Международной медико-биологической конференции молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина человек и его здоровье» 2016 года, Санкт-Петербург.

По теме диссертационного исследования опубликовано 14 печатных работ, в том числе 3 в изданиях, рекомендованных Высшей Аттестационной Комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации.

### **Личный вклад автора**

Автор, совместно с научным руководителем, определила тему научного исследования, сформулировала цель и задачи. Диссертантом проведён подбор, клиническое обследование и наблюдение пациентов, формирование групп исследования, ретроспективный анализ медицинских карт стационарного больного. Автор самостоятельно подготовила обзор литературы, провела статистическую, графическую обработку полученных данных.

### **Объем и структура диссертации**

Диссертация изложена на 115 страницах компьютерного набора, состоит из введения, 5 глав (обзора литературы, описания материалов и методов, трёх глав результатов собственных исследований), заключения, выводов, практических

рекомендаций, перспектив дальнейшей разработки темы, списка литературы, включающего 42 отечественных и 119 зарубежных авторов. Работа иллюстрирована 25 таблицами и 16 рисунками

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **Материалы и методы исследования**

Исследование проведено в 2015–2019 гг. на кафедре инфекционных болезней взрослых и эпидемиологии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России, клинической базы кафедры – СПб ГБУЗ «Клиническая инфекционная больница им. С.П. Боткина».

Выполнен ретроспективный анализ медицинских карт стационарного больного с диагнозом ОВГВ и проспективное наблюдение пациентов, госпитализированных в СПб ГБУЗ «Клиническая инфекционная больница им. С.П. Боткина» в период 2009–2017 гг. – всего 185 пациентов.

Анамнез заболевания включал опрос, жалобы, длительность преджелтушного периода (при наличии синдрома желтухи).

Тяжесть состояния пациентов с ОВГВ оценивалась с учетом общепринятых критериев (показателя общего билирубина, выраженности желтухи и синдрома интоксикации) [Ющук Н.Д. и др., 2009]. Также учитывались изменения уровня протромбинового индекса (ПТИ) и белково-синтетической функции печени (общий белок, альбумины и гамма-глобулины).

Для подтверждения диагноза ОВГВ было проведено серологическое исследование методом иммуноферментного анализа (ИФА), с определением антигенов (HBsAg и HBeAg), антитела к ВГВ (HBsAb, HBeAb, HBcorIgM, HBcorIgG). Исследование проведено с использованием тест-систем производства ЗАО «Вектор-Бест» («ДС-ИФА-HBsAg», «ДС-ИФА-АНТИ-HBsAg», «ВектоHBeAg-антитела», Россия).

С целью выявления инфицирования другими вирусами гепатитов всем пациентам проведено дополнительное серологическое исследование сыворотки крови методом ИФА.

Молекулярно-биологическое исследование проводили с целью выделения ДНК ВГВ с последующим определением уровня вирусной нагрузки (ВН) методом обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени с использованием тест-систем «АмплиСенс HBV-FRT» (качественная детекция) и «АмплиСенс HBV-монитор-FRT» (количественная детекция). Обе тест-системы произведены ЦНИИЭ (Россия).

Определение генотипа и мутаций ВГВ проведено в лаборатории вирусных гепатитов и лаборатории иммунологии и вирусологии ВИЧ-инфекции Федерального бюджетного учреждения науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

Секвенирование ВГВ проводили на генетическом анализаторе ABI-PRISM 3100 ("Applied Biosystems" США) с определением генотипа/субтипа ВГВ в изолятах. Исследование проведено в соответствии с инструкцией к используемому набору реагентов (ABI PRISM<sup>®</sup> BigDye<sup>®</sup> Terminator v3.1. Applied Biosystems, США).

Выявляли мутации pre-core/core областей генома ВГВ: BCP A 1762/ G 1764 и T1762/A1724 и PC codon 28, с использованием коммерческой тест-системы INNO-LiPA HBV PreCore (США) согласно прилагаемой аннотации.

Для оценки эффективности и безопасности противовирусной терапии проведено проспективное наблюдение 40 пациентов (средний возраст 39,5±11,1года) с тяжёлым течением ОБГВ (основная группа), в схему терапии, которых были включены противовирусные препараты: энтекавир или телбивудин.

Выполнен ретроспективный анализ 40 пациентов, госпитализированных в период 2009–2012гг., с тяжёлым течением ОБГВ (средний возраст 39,5±12,1 лет.) сопоставимых по возрасту и полу, которым не проводилась этиотропная терапия (группа сравнения).

Схема терапии включала ежедневный приём препаратов в стандартных дозировках в соответствии с инструкциями фирмы - производителя. Длительность терапии – до наступления сероконверсии по HBsAg с последующей консолидирующей терапией в течение 6 месяцев.

Мониторинг результатов клинико-лабораторных показателей проводился перед стартом терапии (BL), далее через неделю (W1), W4, W12, W24, W32 и на момент окончания терапии – W48–W56.

После улучшения клинико-лабораторных показателей, пациенты были выписаны из отделения круглосуточного пребывания, продолжая лечение и наблюдение в условиях дневного стационара.

Для оценки отдалённых исходов заболевания у пациентов, получивших этиотропную терапию, ежегодно осуществлялось их обследование с последующим анализом клинико-лабораторных и инструментальных показателей на протяжении пяти лет. Анализ клинико-лабораторных показателей проведен в следующие сроки

наблюдения после окончания этиотропной терапии: 12–24 недели (визит 1), 36 недель (визит 2), 48 недель (визит 3) и 60 недель (визит 4).

Статистическая обработка полученных результатов проведена с использованием лицензионного пакета программ SPSS Statistica 2.0. Применялись универсальные методы статистической обработки данных, рассчитывались средние значения и стандартные ошибки среднего значения ( $M \pm m$ ). Оценку достоверности сравниваемых величин в независимых выборках определяли при помощи непараметрического критерия Манна-Уитни и критерия  $\chi^2$ . При достигнутом уровне значимости  $p < 0,05$  различия расценивались как достоверные.

Расчёт относительного риска (ОР) производился с использованием формулы:

$$RR = \frac{\frac{A}{A+B}}{\frac{C}{C+D}} = \frac{A \cdot (C + D)}{C \cdot (A + B)}$$

где А, В, С, D – количество наблюдений в ячейках таблицы сопряженности.

## РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

По данным формы федерального статистического наблюдения № 2 «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях» за период 2009–2017 гг. в Санкт-Петербурге общее число зарегистрированных случаев ОВГВ у взрослых составило 926. От общего числа зарегистрированных случаев, доля пациентов с тяжелым течением заболевания составила 8,8% ( $n=82$ ).

За указанный период наблюдения в СПб ГБУЗ «Клиническая инфекционная больница им. С.П. Боткина» было госпитализировано 185 пациентов (мужчин – 112, женщин – 73) в возрасте от 19 до 79 лет (средний возраст  $39,5 \pm 15,6$ ). Всем пациентам подтвержден диагноз ОВГВ. На основании общепринятых клинико-лабораторных критериев была установлена степень тяжести заболевания: легкая – 30,3% ( $n=56$ ), средняя – 25,4% ( $n=47$ ) и тяжелая – 44,3% ( $n=82$ ).

Известно, что клиническое течение ОВГВ (форма тяжести) зависит от многих факторов, в том числе возраста и пола пациента, сопутствующей патологии, биологических характеристик вируса (генотипа, мутаций и уровня ВН) и других. Нами выявлено, что фактором, ассоциированным с тяжелым течением ОВГВ является сопутствующая патология, а именно заболевания билиарного тракта. Уровень показателя относительного риска свидетельствовал о наличии прямой связи между данным фактором и тяжестью течения заболевания (ОР  $2,296 \pm 0,406$ ). Проведённый анализ показал, что пол и возраст пациентов не являлись факторами риска развития

тяжелых форм заболевания (ОР  $1,328 \pm 0,181$ , 95% ДИ  $0,932 - 1,891$  и ОР  $1,174 \pm 0,216$ , 95% ДИ  $0,770 - 1,791$  соответственно).

Анализ результатов молекулярно – генетического исследования ВГВ в образцах, полученных у пациентов с тяжелой формой ОВГВ выявил вирус двух генотипов: А и D. ВГВ генотипа D превалировал и был определен в 87,5% случаев ( $p=0,001$ ). Доминирование ВГВ генотипа D характерно для территории Северо-Западного федерального округа, что было доказано ранее, но исследования проведены у пациентов с ХВГВ. При дальнейшем изучении особенностей генетической структуры ВГВ установлена циркуляция трех субтипов генотипа D: субтипа D1 – в 5,0% случаев, субтипа D2 – в 80,0% и субтипа D3 – в 2,5%. ВГВ генотипа А встречался значительно реже – в 12,5% случаев и во всех случаях был представлен субтипом А2. При проведении сравнительной оценки ВН у пациентов, инфицированных ВГВ генотипов D и А достоверных различий не выявлено ( $2,01 \times 10^5$  ( $4,67 \times 10^5 / 3,78 \times 10^6$ ) и  $5,72 \times 10^5$  ( $7,4 \times 10^4 / 6,7 \times 10^6$ ) соответственно,  $p \geq 0,05$ ).

Таким образом, тяжелое форма заболевания может развиваться у пациентов при инфицировании ВГВ как генотипа D, так и А, а генотип/субтип вируса не является фактором, ассоциированным с тяжестью ОВГВ.

Установлено, что в 30,0% случаев из образцов плазмы крови пациентов с тяжелым течением заболевания выделен ВГВ с наличием pre-core/core мутации, в положении РС кодон 28 и ВСР (a1762/g1764) – далее «мутантный» штамм. Установлено, что у пациентов, инфицированных «мутантным» штаммом вируса, в два раза чаще развивался геморрагический синдром (90,9% и 46,0%, соответственно,  $p=0,004$ ), эритематозная сыпь (36,4% и 15,1%, соответственно,  $p=0,001$ ), а также более высокий уровень билирубина ( $334,0 \pm 26,9$  и  $260,0 \pm 3,2$  мкмоль/л, соответственно,  $p=0,004$ ).

Сравнительная оценка маркеров недостаточности белково-синтетической функции печени показала их достоверное снижение при наличии pre-core/core мутаций ВГВ: ПТИ ( $56,5(47,3/59,5)$  и  $64,0(58,0/68,5)$ , соответственно  $p=0,004$ ); общий белок ( $58,0(54,0/59,2)$  и  $61,0(59,0/63,0)$ , соответственно  $p=0,03$ ); альбумин ( $26,5(24,5/28,0)$  и  $30,0(28,5/31,5)$ , соответственно  $p=0,01$ ).

У пациентов, инфицированных «диким» штаммом ВГВ медиана ВН составила  $5,72 \times 10^5$  Ме/мл ( $7,40 \times 10^4 / 6,70 \times 10^5$  Ме/мл) и у пациентов с «мутантным» штаммом –  $5,41 \times 10^5$  Ме/мл ( $8,45 \times 10^4 / 3,81 \times 10^6$  Ме/мл). Достоверных различий не получено.

При тяжелом течении ОВГВ в 53,6% случаев заболевание осложнялось ОПЭ 1 степени – 14,6% и 2 степени – 32,0%. У пациентов, инфицированных, как

«мутантным», так и «диким» штаммами вируса встречаемость ОПЭ была сопоставима (58,3% и 60,7%, соответственно  $p \leq 0,05$ ).

Оценка клинико-лабораторных признаков у пациентов, осложненных ОПЭ выявила, что наличие мутаций вируса и уровень гипербилирубинемии могут расцениваться как возможные факторы неблагоприятного течения ОВГВ. Данное заключение подтверждено высоким уровнем показателя относительного риска ( $OR=0,265/1,253$ ).

Генотип вируса не влиял на развитие ОПЭ, которое встречалось с одинаковой частотой: при ВГВ генотипа D – 49,4%, генотипа A – 45,1%.

На следующем этапе исследования проведен сравнительный анализ эффективности и безопасности противовирусной терапии при тяжелом течении заболевания. Результаты обследования пациентов основной группы и группы сравнения, проведенного перед началом лечения, показали их сопоставимость.

При анализе клинико-лабораторных показателей, определенных на седьмые сутки (W1) наблюдения, установлено, что на фоне приёма НА активность синдрома цитолиза снизилась вдвое – АлАТ с  $2302,8 \pm 1189,0$  до  $1176,1 \pm 716,1$  МЕ/л ( $p \leq 0,05$ ). Определено достоверное снижение уровня общего билирубина с  $301,8 \pm 38,6$  мкмоль/л до  $241,9 \pm 29,4$  мкмоль/л, соответственно  $p \leq 0,05$ . У пациентов группы сравнения за тот же временной промежуток показатели оставались без динамики АлАТ ( $1988,0 \pm 995,7$  и  $1719,1 \pm 1045,1$  МЕ/л,  $p \geq 0,05$ ) и общего билирубина ( $289,6 \pm 39,4$  и  $271,3 \pm 48,3$  мкмоль/л,  $p \geq 0,05$ ).

Все пациенты хорошо переносили этиотропную терапию, не были выявлены нежелательные явления при приеме препаратов.

Мониторинг лабораторных показателей через месяц терапии (W4) показал снижение уровня общего билирубина до  $15,3 \pm 4,1$  мкмоль/л у пациентов основной группы и до  $115,6 \pm 3,8$  мкмоль/л у пациентов группы сравнения, ( $p=0,04$ ).

Активность АлАТ в основной группе, в отличие от группы сравнения, снизилась практически до референсных значений ( $43,6 \pm 18,7$  и  $224,6 \pm 102,3$  МЕ/л, соответственно,  $p \leq 0,01$ ). Активность АсАТ у пациентов основной группы была в два раза ниже, чем в группе сравнения ( $75,5 \pm 30,7$  и  $166,1 \pm 130,1$  МЕ/л, соответственно,  $p \leq 0,05$ ).

С целью определения эффективности терапии оценивались изменения уровня ВН в сравнении со стартовыми показателями. На старте терапии медиана ВН составила  $5,82 \times 10^5$  МЕ/мл ( $7,76 \times 10^3 / 9,06 \times 10^5$  МЕ/мл). К концу W4 определялось статистически достоверное ( $p=0,001$ ) снижение показателя до  $3,66 \times 10^4$  МЕ/мл ( $5,65 \times 10^3 / 4,99 \times 10^5$  МЕ/мл). У пациентов, инфицированных ВГВ генотипа A медиана ВН достоверно

снизилась с  $2,01 \times 10^5$  ( $4,67 \times 10^5/3,78 \times 10^6$ ) до  $3,91 \times 10^4$  ( $9,37 \times 10^3/5,32 \times 10^5$ ), а при генотипе D – с  $5,72 \times 10^5$  ( $7,4 \times 10^4/6,7 \times 10^6$ ) до  $3,15 \times 10^4$  ( $9,37 \times 10^3/5,32 \times 10^5$ ),  $p \geq 0,05$ . ВН снизилась в 10 раз за наблюдаемый период вне зависимости от генотипа вируса.

Через месяц терапии снижение ВН у пациентов с «мутантным» штаммом не произошло. Уровень вирусной нагрузки при обследовании пациентов на W4 составил  $4,13 \times 10^5$  МЕ/мл ( $5,99 \times 10^4/1,18 \times 10^6$  МЕ/мл), на старте терапии  $5,41 \times 10^5$  МЕ/мл ( $8,45 \times 10^4/3,81 \times 10^6$  МЕ/мл). При инфицировании «диким» штаммом ВН на W4 у пациентов составила  $3,22 \times 10^4$  МЕ/мл ( $6,45 \times 10^3/4,78 \times 10^5$  МЕ/мл), перед стартом терапии  $5,72 \times 10^5$  МЕ/мл ( $7,40 \times 10^4/6,70 \times 10^5$  МЕ/мл) соответственно. Снижение ВН составило 10 раз,  $p=0,005$ .

Темпы снижения активности маркеров цитолиза в первый месяц терапии были одинаковы вне зависимости генотипа ВГВ. Активность АлАТ составила при генотипе А – 21,0 (11,5/34,5) МЕ/л и при генотипе D – 22,0 (17,7/31,2) МЕ/л, ( $p \geq 0,05$ ). Активность АсАТ при генотипе А составила – 24,0 (24,0/57,0) МЕ/л и при генотипе D – 39,0 (31,7/51,2) МЕ/л ( $p \geq 0,05$ ).

К W4 активность АлАТ была в пределах референсных значений независимо от наличия/отсутствия мутаций ВГВ: с  $2020,0 \pm 1551,8$  МЕ/мл до  $43,2 \pm 10,1$  МЕ/мл при «мутантном штамме» и с  $2220,0 \pm 821,0$  МЕ/мл до  $39,2 \pm 9,7$  МЕ/мл, при «диком», соответственно,  $p \geq 0,005$ . Активность АсАТ снизилась при «мутантном» штамме с  $1484,5 \pm 591,5$  МЕ/мл до  $34,4 \pm 5,2$  МЕ/мл и при «диком» – с  $1532,0 \pm 246,0$  МЕ/мл до  $32,6 \pm 3,9$  МЕ/мл, соответственно,  $p < 0,005$ . Наличие мутаций не влияло на динамику снижения общего билирубина: при «мутантном» штамме с  $328,6 \pm 6$  мкмоль/л до  $20,4 \pm 16,3$  мкмоль/л и при «диком» – с  $263,1 \pm 15,2$  мкмоль/л до  $18,3 \pm 9,8$  мкмоль/л, соответственно,  $p < 0,005$  (Рисунок 1).

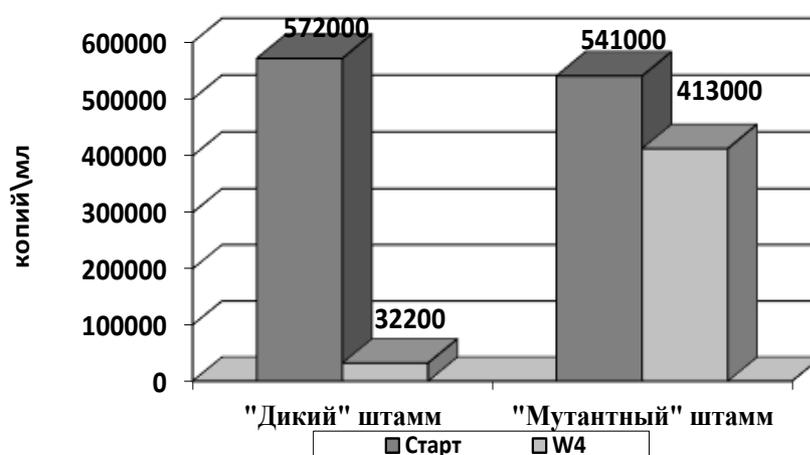


Рисунок 1 – Изменение уровня ВН в зависимости от наличия/отсутствия мутаций вируса

Таким образом, наличие мутаций ВГВ оказывало влияние на эффективность ПВТ, замедляя темпы снижения уровня ВН.

На фоне проводимой этиотропной терапии к W12 отмечалось достоверное снижение медианы ВН ( $p=0,04$ ) в 100 раз с  $3,66 \times 10^5$  МЕ/мл ( $5,65 \times 10^3 / 4,99 \times 10^5$  МЕ/мл) до  $1,23 \times 10^3$  МЕ/мл ( $1,12 \times 10^2 / 2,73 \times 10^3$  МЕ/мл). Уровень общего билирубина ( $17,8 \pm 3,1$  мкмоль/л) и активность АлАТ/АсАТ ( $33,2 \pm 10,1 / 34,4 \pm 5,2$  МЕ/л) оставались в пределах референсных значений.

На W24 терапии ДНК ВГВ в плазме крови не определялось независимо от генотипа вируса и наличия/отсутствия мутаций. Установлено, что у пациентов, инфицированных «мутантным» штаммом вируса ( $n=12$ ), сероконверсия по HBsAg произошла только у одного пациента (8,3%). У пациентов, инфицированных «диким» штаммом вируса сероконверсия была достигнута у 11 пациентов (39,3%), что показано на рисунке 2.

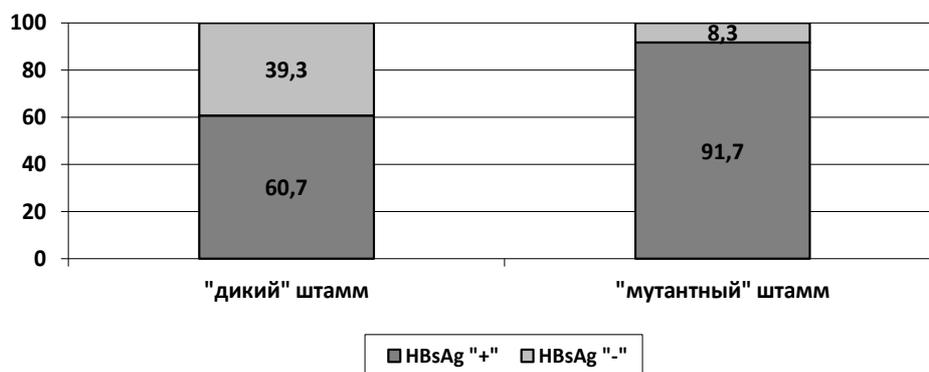


Рисунок 2 – Влияние мутаций ВГВ на сероконверсию по HBsAg на W24 ПВТ

При анализе биохимических показателей крови, установлено, что уровень билирубина и активность АлАТ/АсАТ сохранялись в пределах референсных значений.

На W32 терапии ДНК ВГВ в плазме крови пациентов не определялась. Сероконверсия по HBsAg произошла в 100% случаев. Анализ биохимических показателей показал референсные значения АлАТ  $30,4 \pm 2,8$  МЕ/мл, АсАТ  $27,4 \pm 1,6$  МЕ/мл и уровня билирубина –  $15,7 \pm 3,5$  мкмоль/л.

После сероконверсии по HBsAg на протяжении шести месяцев пациентам проведена консолидирующая терапия. Общая длительность терапии составила от 48 до 56 недель.

На момент окончания терапии пациентам проведено клинико-биохимическое обследование. У всех пациентов активность АлАТ и АсАТ была в пределах

нормальных значений  $-29,7 \pm 4,6$  МЕ/мл и  $15,3 \pm 1,4$  МЕ/мл. Уровень общего билирубина составил  $15,4 \pm 6,3$  мкмоль/л. У всех пациентов получен непосредственный вирусологический ответ, ДНК ВГВ в плазме крови не выявлено.

После окончания этиотропной терапии пациенты были вызваны для прохождения диспансерного обследования через 12 месяцев и далее ежегодно в течение пяти лет, с проведением клинического осмотра, лабораторного и инструментального исследований.

Диспансерное наблюдение за больными ОВГВ проведено с целью оценки эффективности этиотропной терапии и установления исхода заболевания (выздоровление – эрадикация ВГВ или переход в хроническую форму).

Первое обследование пациентов (визит 1) проведено через 12 месяцев после окончания этиотропной терапии. Далее периодичность составила один раз в год в течение четырех лет: визит 2 (36 месяцев), визит 3 (48 месяцев) и визит 4 (60 месяцев).

На всех визитах у пациентов в сыворотке крови при выявлении серологических маркеров ВГВ методом ИФА (HBsAg, HBeAg, анти- HBe) были получены отрицательные результаты. ДНК ВГВ в плазме крови отсутствовала в 100% случаев. Анти-HBs у всех пациентов были положительны.

Активность АлАТ/АсАТ, определяемая на всех визитах, была в пределах референсных значений.

При проведении ультразвукового исследования диффузные изменения в печени и увеличения ее размеров у обследованных выявлено не было. Спленомегалия – отсутствовала. При проведении эластометрии (визиты 2–4) у всех пациентов, отсутствовали признаки фибротических изменений в печени (F0 по шкале METAVIR).

Также нам удалось установить наличие прямой корреляционной связи между уровнем альбумина и сроком наблюдения ( $r=0,990$ ,  $p=0,01$ ). Концентрация альбумина, выявленный у пациентов на визите 1 составил  $38,8 \pm 10$  г/л – нижняя граница референсного значения, на визите 4 показатель увеличился до  $56,3 \pm 1,2$  г/л. Статистически значимая корреляционная связь определена между ПТИ и длительностью наблюдения ( $r=0,955$ ,  $p=0,04$ ). Уровень показателя, определенный на визите 2 составил  $87,0 \pm 1,6\%$ , а на визите 5 – повысился до  $98,1 \pm 1,3\%$ .

Таким образом, использование препаратов из группы НА способствовало достижению сероконверсии по HBsAg и отсутствию ДНК ВГВ в плазме крови у всех пациентов на протяжении пяти лет наблюдения после ее отмены, что свидетельствовало о их полном выздоровлении.

## ВЫВОДЫ

1. Определено, что у госпитализированных пациентов ОБГВ протекал преимущественно в лёгкой (30,3%) и средней (25,4%) формах, удельный вес тяжёлых составил 44,3%.
2. В Санкт-Петербурге в 2009-2017гг. у пациентов с тяжёлым течением ОБГВ, преимущественно циркулировал ВГВ генотипа D (87,5%), субтипа D2(80,0%) и A (12,5%). В 30,0% случаев в области pre-core/core генома вируса выявлены мутации (BCP A 1762/G1764 и PC codon 28). Установлено, что молекулярно-генетические особенности ВГВ не влияли на клиническое течение заболевания.
3. Использование НА в терапии ОБГВ при тяжелом течении приводило к быстрому купированию синдрома цитолиза, восстановлению белково-синтетической функции печени вне зависимости от генотипа вируса (генотип A или D).
4. Эффективность этиотропной терапии ОБГВ, вызванного «мутантным» и «диким» штаммами вируса не различалась и составляла 100%. Однако, мутации в области pre-core/core генома вируса замедляли темпы снижения вирусной нагрузки до неопределяемого уровня и сероконверсии по HBsAg на шесть недель.
5. Длительный мониторинг (пять лет наблюдения) клинико-лабораторных и инструментальных показателей у пациентов, перенесших ОБГВ в тяжелой форме и получивших средства этиотропной терапии, не выявил их отклонений от референсных значений и наличия фибротических изменений в печени.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При планировании объема мероприятий по оказанию специализированной медицинской помощи пациентам с тяжёлым течением ОБГВ рекомендовано проведение ПВТ с целью быстрого купирования синдрома цитолиза и восстановлению белково-синтетической функции печени, что предупредит развитие осложнений заболевания.
2. Дополнительно рекомендовано определение pre-core/core мутаций ВГВ влияющих на эффективность этиотропной терапии.
3. Необходимо учитывать сопутствующую патологию, как фактор риска развития тяжелого течения заболевания.
4. После отмены этиотропной терапии рекомендовано проведение диспансерного наблюдения с периодическими клинико-лабораторными и инструментальными обследованиями с целью оценки эффективности этиотропной терапии и

установления исхода заболевания (выздоровление – эрадикация ВГВ или переход в хроническую форму).

## **ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ**

Своевременное проведение этиотропной терапии способствует предотвращению развития осложнений, а также переход ОВГВ в хроническую форму, следовательно, значительно снизит риск развития цирроза печени и ГЦК. Определено, что мутации pre-core/core областей генома ВГВ, влияют на эффективность терапии, увеличивая длительность виремии и замедляя сероконверсию по HBsAg.

Перспективным является изучение влияния генотипов/субтипов и мутаций ВГВ на клиническое течение ОВГВ при лёгкой и средней тяжести. А также проведение анализа отдалённых исходов ОВГВ у пациентов, не получавших ПВТ с оценкой рисков развития тяжёлого течения историческим методом.

## **СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. Эсауленко, Е.В. Эпидемиологическая характеристика острого гепатита В в современных условиях. / Е.В. Эсауленко, Х.Д. Перадзе, И.В. Хомченко, Е.Н. Прийма // Труды Мариинской больницы. – 2013 г. №10. – С.80-81.
2. Прийма, Е.Н. Течение острого гепатита В в Санкт-Петербурге. / Е.Н. Прийма // Материалы LXXIV научно-практической конференции «Актуальные вопросы экспериментальной и клинической медицины». – Санкт-Петербург, 11 апреля 2013. – С. 134.
3. Прийма, Е.Н. Инновационный подход к терапии тяжёлых форм острого гепатита В / Е.Н. Прийма // Перспективы развития медицинской науки и практики. – 2014. – С. 86.
4. Эсауленко, Е.В. Эффективность применения противовирусной терапии при лечении тяжёлых форм острого гепатита В / Е.В. Эсауленко, Е.Н. Прийма, А.А. Сухорук, М.В. Понятишина, А.В. Кузьмин, И.В. Хомченко, А.А. Яковлев // Журнал инфектологии. – 2015. Т.7, № 4. – С. 51 – 57.
5. Прийма, Е.Н. Генотипическая характеристика гепатита В у пациентов с острым гепатитом / Е.Н. Прийма, М.В. Алексеева, Ю.В.Останкова, А.В. Семёнов, М.Ю. Чурина // Материалы межрегионального форума специалистов с заседанием профильной комиссии по специальности «Инфекционные болезни»

- Министерства Здравоохранения РФ «Актуальные вопросы инфекционной патологии Юга России». – Краснодар. – 2016. – С. 56.
6. Прийма, Е.Н. Оценка эффективности противовирусной терапии в зависимости от наличия мутаций вируса гепатита В. Материалы XIX Международной медико-биологической конференции молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина человек и его здоровье». – Санкт-Петербург. – 2016. – С. 465-467.
  7. Алексеева, М.В. Эпидемиологическая характеристика острого гепатита В в условиях вакцинопрофилактики. Материалы Всероссийской научно-практической конференции, посвященной 120-летию первой в России кафедры инфекционных болезней Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова. – Санкт-Петербург. – 2016. – С.22.
  8. **Эсауленко, Е.В. Фульминантный гепатит в реальной клинической практике / Е.В. Эсауленко, М.В. Алексеева, А.А. Сухорук, М.В. Понятишина, Е.Н. Прийма, А.Б. Бубочкин // Журнал инфекционные болезни. – 2017. Т. 15, №2 – С. 70-74.**
  9. Прийма, Е.Н. «Обоснование рациональности использования противовирусных средств в терапии острого гепатита В» / Е.Н. Прийма // Материалы VIII конференции молодых учёных с международным участием «Горизонты медицинской науки». – Москва. – 2017. Т. 2. – С. 105 – 107.
  10. Понятишина, М.В. Результаты изучения генетической variability вируса гепатита в субъектах северо-западного федерального округа / М.В. Понятишина, Е.Н. Прийма, М.В. Алексеева, А.В. Семёнов, Ю.В. Останкова, Е.В. Эсауленко // Материалы IV всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Социально-значимые и особо опасные заболевания». – Сочи. – 2017. – С. 59.
  11. Прийма Е.Н. Клинико-лабораторная характеристика тяжёлой формы острого гепатита В / Е.Н. Прийма, К.Е. Новак // Материалы X Ежегодного Всероссийского конгресса по инфекционным болезням с международным участием «Инфекционные болезни в современном мире: эволюция, текущие и будущие угрозы». 26-28 февраля, Москва. – 2018. – С.178-179.
  12. Прийма, Е.Н. Клинико-лабораторная характеристика острого гепатита В у женщин. / Е.Н. Прийма // Актуальные вопросы инфекционной патологии. Материалы III Межрегионального Форума специалистов совместно с заседанием профильной комиссии Министерства здравоохранения Российской Федерации. – Краснодар. – 2018. – С. 10-12.

Федерации, по специальности «Инфекционные болезни». – Санкт-Петербург, 25–26 апреля 2018. – С.80–81.

13. Прийма, Е.Н. Влияние мутаций в PRE-CORE области генома вируса гепатита В на эффективность терапии острого гепатита В / Е.Н. Прийма, М.В. Алексеева, Н.В. Иванова // *Материалы V Всероссийской междисциплинарной научно-практической конференции с международным участием «Социально-значимые и особо опасные инфекционные заболевания»*. – Сочи, 30 октября – 2 ноября 2018. – С.195–197.
14. **Прийма, Е.Н. Клиническая значимость молекулярно-генетического исследования генома вируса при остром вирусном гепатите В / К.Е. Новак, Е.В. Эсауленко, Н.В. Иванова, М.В. Алексеева // *Вестник Новгородского государственного университета*. – 2019. №1(113) – С.60 – 65.**

### СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- АлАТ – аланинаминотрансфераза  
 АсАТ – аспартатаминотрансфераза  
 ВГВ – вирус гепатита В  
 ВН – вирусная нагрузка  
 ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения  
 ГЦК – гепатоцеллюлярная карцинома  
 ДИ – доверительный интервал  
 ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота  
 ИФА – иммуноферментный анализ  
 НА – нуклеозидные аналоги  
 ИФН – интерферон  
 ОВГВ – Острый вирусный гепатит В  
 ОПЭ – острая печёночная энцефалопатия  
 ОПН – острая печеночная недостаточность  
 ОР – относительный риск  
 ПВТ – противовирусная терапия  
 ПТИ – протромбиновый индекс  
 ПЦР – полимеразная цепная реакция  
 РНК – рибонуклеиновая кислота  
 ФГДС – фиброгастродуоденоскопия  
 ХВГВ – хронический вирусный гепатит В  
 ЩФ – щелочная фосфатаза

- BCP – основной базальный промоутер  
F – степень фиброза по шкале METAVIR  
HBV – вирусный гепатит В  
W – неделя противовирусной терапии