

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2016

УДК 616.36-002.1-022-06-078.33

Чуланов В.П.^{1,2}, Костыгова Е.Ю.¹, Костюшев Д.С.², Глебе Д.³, Шипулин Г.А.², Герлих В.³, Волчкова Е.В.¹

ДИНАМИКА УРОВНЕЙ ДНК HBV И HBsAg У БОЛЬНЫХ ОСТРЫМ ГЕПАТИТОМ В ПРИ МОНОИНФЕКЦИИ И КО-ИНФЕКЦИИ ДРУГИМИ ВИРУСАМИ ГЕПАТИТА

¹ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова», 119992, г. Москва; ²ФБУН «ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора», 111123, г. Москва; ³«Институт Медицинской Вирусологии», Университет Гиссена, Германия, 35392 г. Гиссен

Введение. Изменения уровней ДНК вируса гепатита В (HBV) и количественного содержания поверхностного антигена (HBsAg) при остром гепатите В, а также сопутствующей ко-инфекции другими вирусами гепатита до настоящего времени изучены недостаточно. **Материалы и методы.** У 21 пациента с острой моноинфекцией HBV и 27 пациентов с ко-инфекцией HBV + HCV и/или HDV были отобраны от трех до четырех образцов сыворотки крови с интервалом в 6–10 дней, изучена динамика вирусной нагрузки HBV и концентрации HBsAg. **Результаты.** Установлено, что логарифм концентрации ДНК HBV снижался от $4,0 \pm 0,65$ до $3,0 \pm 0,59$, до $2,5 \pm 0,47$, до $1,9 \pm 0,65$ (МЕ/мл, $M \pm s$), период полужизни ДНК HBV увеличивался от 1,6 сут в начале исследования до 4 сут к концу исследования. Снижение концентрации HBsAg происходило значительно медленнее: от 38 до 23, до 12, до $3,8$ мкг/мл. Период полужизни HBsAg составлял 8 сут в начале и 5,7 сут в конце исследования, однако у 11 пациентов наблюдалась быстрая элиминация HBsAg и исчезновение ДНК HBV. **Заключение.** Факт ко-инфицирования вирусом гепатита С (HCV) не оказывал значительного влияния на динамику ДНК HBV и уровни HBsAg. У пациентов, дополнительно инфицированных вирусом гепатита D (HDV), вирусная нагрузка HBV была достоверно ниже, а концентрация HBsAg достоверно выше, чем при острой моноинфекции HBV. Таким образом, при остром гепатите В элиминация ДНК HBV происходит значительно быстрее, чем элиминация HBsAg. Кроме того, при ко-инфекции HDV подавляет репликацию HBV, но и стимулирует экспрессию HBsAg. Полученные данные необходимо учитывать при трактовке результатов лабораторных исследований у больных острым гепатитом В как в раннем периоде, так и при последующем наблюдении.

Ключевые слова: вирус гепатита В; вирус гепатита С; вирус гепатита D; ко-инфекция; ДНК HBV; HBsAg.

Для цитирования: Чуланов В.П., Костыгова Е.Ю., Костюшев Д.С., Глебе Д., Шипулин Г.А., Герлих В., Волчкова Е.В.

Динамика уровней ДНК HBV и HBsAg у больных острым гепатитом В при моноинфекции и ко-инфекции другими вирусами гепатита. Эпидемиология и инфекционные болезни. 2016; 21 (2): 74–81. DOI : 10.17816/EID40885

Chulanov V.P.^{1,2}, Kostygova E.Yu.¹, Kostyushev D.², Glebe D.³, Shipulin G.A.², Gerlikh V.³, Volchkova E.V.¹

THE DYNAMICS OF HCV DNA AND HBsAg LEVELS IN ACUTE HEPATITIS B PATIENTS IN MONOINFECTION AND COINFECTION OF OTHER HEPATITIS VIRUSES

¹I. M. Sechenov First Moscow State Medical University, 8/2, Trubetskaya str., Moscow, 119992, Russian Federation; ²Central Research Institute of Epidemiology of Federal Service on Customers' Rights Protection and Human Well-Being Surveillance, 3a, Novogireevskaya, Moscow, 111123, Russian Federation; ³Institute of Medical Virology, University of Giessen, 23, Ludwigstraße, Giessen, 35392, Germany

Introduction Changes in the levels of DNA of hepatitis B virus (HBV) infection and the quantitative content of the surface antigen (HBsAg) in acute hepatitis B, as well as the concomitant co-infection of other hepatitis viruses have been insufficiently studied so far.

Materials and Methods In 21 patients with acute HBV mono-infection and 27 patients with co-infection of HBV + HCV and/or HDV three to four serum samples were withdrawn with interval of 6–10 days and the dynamics of HBV viral load and concentration of HBsAg was examined.

Results Logarithm of the concentration of DNA HBV was established to decrease from 4.0 ± 0.65 to 3.0 ± 0.59 , to 2.5 ± 0.47 , to 1.9 ± 0.65 (IU /ml, $M \pm s$), the half-life of DNA HBV was increased from 1.6 days at baseline to 4 days to the end of the study. The decline of the HBsAg concentration proceeded much slower: from 38 to 23, 12, 3.8 μ g/ml. Half-life period of HBsAg accounted of 8 days at the beginning and 5.7 days at the end of the study, however, in 11 patients there was observed rapid elimination of HBsAg and disappearance of HBV DNA.

Conclusion The fact of co-infection with hepatitis C virus (HCV) had no significant effect on the dynamics of HBV DNA and HBsAg levels. In patients infected with Hepatitis D virus (HDV) HBV viral load was significantly lower, and the concentration of HBsAg, by contrast, is significantly higher than in acute mono-infection with HBV. Thus, in acute hepatitis B DNA elimination occurs much faster than the elimination of HBsAg. In addition, in co-infection HDV inhibits replication of HBV, but at the same time stimulates the expression of HBsAg. The obtained data should be considered in the interpretation of laboratory tests in patients with acute hepatitis B, both in the earlier period, and at follow-up.

Key words: hepatitis B virus; hepatitis C virus; hepatitis D virus; co-infection; HBV DNA; HBsAg

For citation: Chulanov V.P., Kostygova E.Yu., Kostyushev D., Glebe D., Shipulin G.A., Gerlikh V., Volchkova E.V. The dynamics of HCV DNA and HBsAg levels in acute hepatitis B patients in mono-infection and co-infection of other hepatitis viruses. Epide-

Для корреспонденции: Чуланов Владимир Петрович, доктор мед. наук, руководитель Научно-консультативного клинико-диагностическо-го центра (НККДЦ), e-mail: vladimir.chulanov@pcr.ru.

miologiya i Infektsionnye Bolezni. (Epidemiology and Infectious Diseases, Russian journal) 2016; 21(2): 74-81. (In Russ.). DOI: 10.17816/EID40885

For correspondence: *Vladimir P. Chulanov, MD., PhD., DSci., head of the Center for Clinical Diagnostics and Research, head of the Reference Centre for Monitoring of Viral Hepatitis, Central Research Institute of Epidemiology of Clinical Diagnostics and Research. E-mail: vladimir.chulanov@pcr.ru*

Information about authors:

Chulanov V.P. <http://orcid.org/0000-0001-6303-9293>

Kostygova E.Y. Kostyushev D.S. <http://orcid.org/0000-0002-1851-7441>

Shipulin G.A. Gerlich V. <http://orcid.org/0000-0001-6835-8031> Volchkova E.V. <http://orcid.org/0000-0003-4581-4510>

Acknowledgments. *Authors gratefully thank to Platonov A.E. and Shipulina O.Yu. for helpful discussions and advice, to Wend U., Noskova O.M., Sergienko O.G. and Baranova E.B. for skillful technical assistance.*

Conflict of interest. *The authors declare no conflict of interest.*

Funding. *V.P. Chulanov received a travel grant from the American Society for Microbiology.*

Received 02.03.16

Accepted 30.03.16

Введение

Количественные изменения ДНК вируса гепатита В (HBV) и серологических маркеров HBV у пациентов с острым и хроническим гепатитом В были объектами ряда исследований, однако все они имеют свои ограничения и не дают полного понимания закономерностей изменения данных показателей в течении заболевания.

В последние годы острый гепатит В (ОГВ) в развитых странах мира стал относительно редким заболеванием. В России благодаря широким программам вакцинопрофилактики заболеваемость ОГВ в течение последних 10 лет постоянно снижалась и в 2015 г. достигла 1,2 на 100 тыс. населения. Вместе с тем в группах риска заболеваемость ОГВ остается очень высокой, при этом отмечают значительную частоту ко-инфицирования другими вирусами гепатита. Ранее высказано предположение, что HCV и HDV подавляют репликацию HBV или, напротив, могут усиливать ее при хроническом гепатите В. Однако динамические показатели маркеров HBV при ОГВ и сопутствующей ко-инфекции до сих пор не изучены.

В данном исследовании проведен анализ особенностей вирусного цикла HBV у пациентов с ОГВ при моноинфекции и ко-инфицировании другими вирусами гепатита. С этой целью отобраны серии образцов сывороток крови от 48 больных ОГВ. Многие пациенты были позитивны по маркерам других вирусов гепатита. Используя количественный метод ПЦР в режиме реального времени и метод количественной оценки HBsAg, мы изучили динамику данных маркеров в течение 3–4 нед острого периода заболевания.

Материалы и методы

Образцы крови отбирались у пациентов, поступающих в стационар инфекционной больницы, при подозрении на ОГВ. ОГВ диагностировали на основании комплекса клинико-лабораторных параметров, этиологию заболевания подтверждали выявлением серологических маркеров соответ-

ствующих вирусов, следуя ранее описанному алгоритму [1]. В исследование включены 48 пациентов с ОГВ, 27 из которых также имели маркеры HCV и/или HDV. От каждого больного отобраны от трех до четырех образцов крови с интервалом от 6 до 10 дней. При сборе анамнеза устанавливался предположительный день начала болезни и появления признаков желтухи. Дни отбора проб были нормализованы к началу заболевания, чтобы компенсировать различия в периодах госпитализации после появления первых клинических симптомов болезни. При сборе эпидемиологического анамнеза пациентам был задан вопрос о случаях и длительности внутривенного приема наркотиков. Исследование одобрено Этическим комитетом Центрального НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора.

Сыворотка крови от всех пациентов исследована с помощью коммерческих иммуноферментных диагностических наборов на наличие HBsAg, HBeAg, анти-HBc сум., анти-HBc IgM, анти-HBe, анти-HAV IgM, анти-HCV IgG, анти-HDV IgG и IgM, и анти-HIV (“Вектор-Бест”, Новосибирск, Россия; Roche Diagnostics, Мангейм, Германия; “Диагностические Системы”, Нижний Новгород, Россия; Organon Teknika, Нидерланды). Количественный анализ на HBsAg проведен методом электрофореза по Лауреллу [2]. Линейный диапазон измерений концентрации HBsAg составлял 0,2–30 мкг/мл без разведения сыворотки. Для образцов с более высокой концентрацией HBsAg использовали 10-кратные разведения. Стандартное отклонение составляло менее 15% при концентрациях выше 5 мкг/мл.

Все образцы протестированы на РНК HAV, ДНК HBV, РНК HCV и РНК HDV с помощью коммерческих наборов реагентов “АмплиСенс” (ФБУН Центральный НИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия). Концентрацию ДНК HBV в плазме крови определяли, как описано ранее [3]. Калибровку методики проводили с использованием международного стандарта ВОЗ

97/746 [4]. Линейный диапазон измерений концентрации ДНК HBV составлял от 50 до 10^{11} МЕ/мл; 95% доверительный интервал укладывался в пределы фактора 2 в одной постановке и обычно оставался неизменным между разными постановками.

Для анализа полученных данных использовали непараметрические тесты. Сравнение количественных переменных в двух независимых выборках проводили по U -тесту Манна–Уитни. Качественные переменные в независимых выборках сравнивали по χ^2 тесту. Коэффициент Спирмена использовали для корреляционного анализа. Все тесты были двусторонними. Статистическую обработку данных проводили при помощи программы SPSS, 15-я версия (SPSS Inc., Chicago, IL).

Результаты

У всех 48 пациентов с ОГВ при поступлении в стационар выявляли ДНК HBV, при этом у 21 из них не обнаруживались маркеры других вирусов гепатита, тогда как 27 были также инфицированы HCV и/или HDV. Из 27 ко-инфицированных пациентов у 21 при поступлении были выявлены анти-HCV IgG, при этом во всех доступных образцах на протяжении периода наблюдения РНК HCV не выявлялась. В одном случае РНК HCV детектировалась во всех трех образцах плазмы крови, но анти-HCV не обнаружены в первом образце. Очевидно, это был случай одновременной острой ко-инфекции HBV и HCV. В одном случае, определенном как моноинфекция HBV, РНК HCV и анти-HCV не детектировались при поступлении, тогда как два более поздних образца были положительны на РНК HCV. В этом случае HCV, по всей видимости, не был причиной острого гепатита, по крайней мере в ранней фазе, поскольку его появление произошло уже после того, как снизилась вирусная нагрузка HBV. Высокая доля пациентов с ОГВ, имеющих анти-HCV, но отрицательных на РНК HCV, наиболее вероятно, является следствием подавления репликации HCV из-за вирусной интерференции. Указывали на употребление внутривенных наркотиков 18 (86%) из 21 пациента с ко-инфекцией HCV, тогда как из 21 больного с моноинфекцией HBV употребление наркотиков в анамнезе имели лишь 5 (24%). Предположение, что ОГВ может подавлять репликацию HCV, подтвердилось наблюдением за 5 пациентами с ко-инфекцией HBV и HCV. У каждого из указанных больных отмечены элиминация HBsAg и исчезновение ДНК HBV, но в двух случаях из пяти после 12–14 мес наблюдали появление РНК HCV. Таким образом, можно сделать вывод, что у 21 из 22 пациентов с ко-инфекцией HBV–HCV, HCV скорее всего не являлся причиной острого гепатита. Только в одном случае оба вируса могли вносить одновременный вклад в клиническую картину заболе-

вания. Относительно 18 больных, у которых выявлялись маркеры HBV и HDV, кинетика ДНК HBV и HBsAg позволяет предположить, что в данных случаях наблюдалась ко-инфекция, за исключением одного, где кинетика HBsAg свидетельствует о суперинфекции HDV у носителя HBV.

Концентрации ДНК HBV в первом доступном образце колебались в пределах от $4,5 \times 10^8$ до 1×10^3 со средним значением $5,8 \times 10^6$ МЕ/мл. Только в одном случае концентрация ДНК HBV была выше 10^8 МЕ/мл, и только в четырех случаях она была ниже 10^5 МЕ/мл в первом образце. Таким образом, у 90% пациентов вирусная нагрузка HBV оказалась между 10^5 и 10^8 МЕ/мл. За исключением двух случаев увеличения ДНК HBV не наблюдали в последующих образцах. В одном из этих примеров пациент употреблял внутривенные наркотики, имел ко-инфекцию HDV, HCV и HIV с быстрым снижением активности АЛТ. И хотя анти-HBc IgM антители были детектируемы, HBV, видимо, не являлся единственной причиной текущего заболевания, поскольку увеличение репликации HBV происходило на фоне снижения активности АЛТ. Подобная ситуация не согласуется с иммунопатогенезом, характерным для HBV. В другом случае у больного наблюдалась ранняя фаза инфекции, поскольку синдром цитолиза, судя по активности АЛТ, продолжал нарастать. Данный пациент также употреблял внутривенные наркотики, был ко-инфицирован HDV и HCV. Оба случая не включены в последующий анализ, поскольку роль HBV как основной причины острого гепатита не была достаточно точно установлена. Во всех остальных ситуациях элиминация HBV из плазмы происходила достаточно быстро. Тем не менее снижение концентрации ДНК HBV ниже определяемого уровня в последнем образце плазмы крови наблюдали лишь в трех случаях, при этом каждый из пациентов был также инфицирован HBV, HCV и HDV. У пятерых больных концентрация ДНК HBV в последнем образце все же была выше 10^5 МЕ/мл, однако четверо из них находились под наблюдением менее 30 дней. Таким образом, после 1 мес наблюдения у 80% пациентов вирусная нагрузка HBV была в диапазоне от 50 до 10^5 МЕ/мл.

Статистически достоверных отличий в концентрациях ДНК HBV между пациентами с моно- и ко-инфекцией обнаружено не было, хотя средние значения логарифма концентрации ДНК HBV при ко-инфекции на всех временных точках несколько превышали таковые значения при моноинфекции. Поскольку самым частым вариантом гепатита сочетанной этиологии было ко-инфицирование HDV, этот вариант исследован отдельно. Нормализованные логарифмы концентрации ДНК HBV ($Y_{ik} = x_i(t_k)/\text{med}X(t_k)$, где Y – нормализованный логарифм концентрации ДНК HBV; X – логарифм

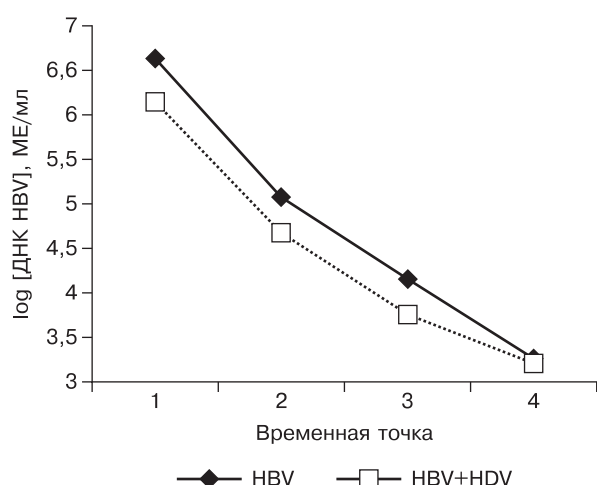


Рис. 1. Количество ДНК HBV в плазме пациентов с и без ко-инфекции HDV в четырех временных точках периода наблюдения. Точки обозначают среднее значение. Абсцисса: временная точка в периоде наблюдения (1 – первый забор плазмы крови; 2 – 10-е сутки после точки 1; 3 – 10-е сутки после точки 2; 4 – 10-е сутки после точки 3).

концентрации ДНК HBV; i – число пациентов; k – временная точка; med – медиана) сравнивали методом Манна–Уитни. Обнаружено, что уровни ДНК HBV были значимо более низкими у пациентов, положительных по РНК HDV, чем в РНК HDV-негативных случаях (рис. 1; $p = 0,021$).

Это различие было наиболее выраженным во второй и третьей временных точках и нивелировалось к концу периода наблюдения. Также проведена оценка интерполированного времени полужизни ДНК HBV в плазме между 1-м и 2-м, 2-м и 3-м и 3-м и 4-м образцами. Не было отмечено

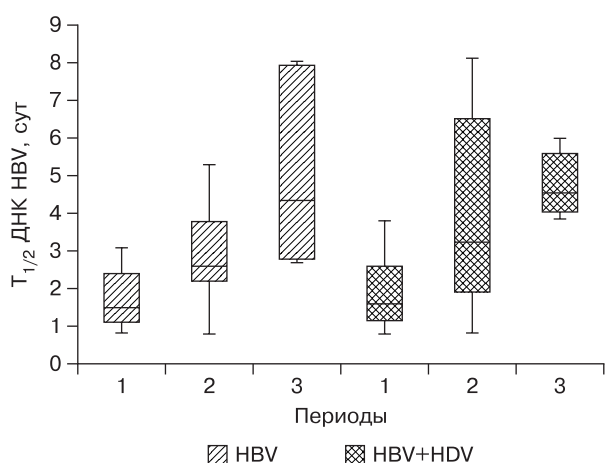


Рис. 2. Время полужизни ДНК HBV в плазме крови пациентов с моноинфекцией HBV и ко-инфекцией HDV в трех периодах в ходе наблюдения. Прямоугольники обозначают интерквартильный интервал, центральная горизонтальная линия – медиана, вертикальные линии – максимальное и минимальное значение.

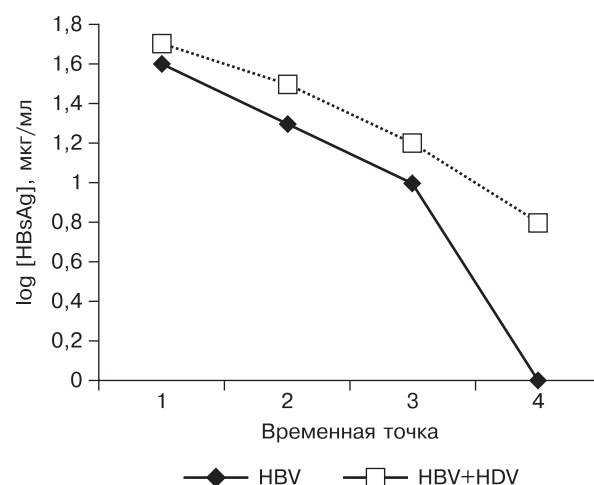


Рис. 3. Концентрации HBsAg в плазме крови пациентов с моноинфекцией HBV и ко-инфекцией HDV в четырех временных точках в ходе периода наблюдения. Точки иллюстрируют среднее значение. Абсцисса: временные точки в ходе периода наблюдения (1 – первый забор плазмы крови; 2 – 10-е сутки после точки 1; 3 – 10-е сутки после точки 2; 4 – 10-е сутки после точки 3).

статистически значимых отличий скорости элиминации ДНК HBV при моно- и ко-инфекции, а также между случаями, положительными или отрицательными по РНК HDV (рис. 2). Скорость элиминации снижалась, а время полужизни увеличилось от 1,6 сут на первом интервале до 4 сут на последнем интервале.

Колебания концентрации HBsAg в первых образцах составляло от 100 мкг/мл до предела аналитической чувствительности иммуноферментного анализа, что соответствует концентрации 0,001 мкг/мл. У большей части пациентов (41/46), по крайней мере в первом образце, результаты электрофореза по Лауреллу оказались положительными, т. е. количество HBsAg в этих сыворотках превышало 0,2 мкг/мл, а в 40 из них начальная концентрация HBsAg была выше 10 мкг/мл. К концу исследования положительные результаты на электрофорезе по Лауреллу выявлены у 29 пациентов. Средние значения концентраций HBsAg снижались в период наблюдения с 38 до 23, до 12, до 3,8 мкг/мл от 1-й до 4-й временных точек соответственно. В целом пациентов можно разделить на две группы: для 1-й были отмечены высокие концентрации HBsAg и низкая скорость элиминации, для 2-й характерны либо изначально низкие значения уровня HBsAg, либо очень быстрая элиминация HBsAg. У 11 пациентов уже во втором образце плазмы крови HBsAg на электрофорезе по Лауреллу не обнаруживался. В 9 из указанных 11 случаев не установлено, связано ли исчезновение HBsAg с быстрой элиминацией HBsAg либо уровни HBsAg никогда не достигали высоких значений. В двух случаях наблюдали резкое снижение

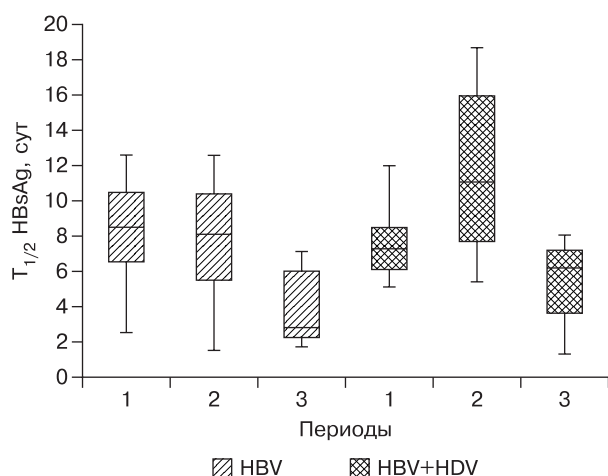


Рис. 4. Время полужизни HBsAg у пациентов с моноинфекцией HBV и ко-инфекцией HDV в трех периодах наблюдения. Прямоугольники обозначают интерквартильный интервал, центральная горизонтальная линия – медиана, вертикальные линии – максимальные и минимальные значения.

концентрации HBsAg (в 50 и 100 раз) в течение 1 нед после обнаружения высоких концентраций HBsAg в сыворотке крови (37 и 11 мкг/мл), что в 25 раз быстрее, чем у остальных пациентов. Быстрая элиминация HBsAg коррелировала с низким уровнем ДНК HBV во всех временных точках ($p < 0,001$).

В первые два временных интервала скорость элиминации ДНК HBV не отличалась статистически значимо. При этом увеличения скорости элиминации ДНК HBV не наблюдали и в 3-м образце, как это было характерно для пациентов с низкой скоростью элиминации HBsAg ($p = 0,002$). Низкие уровни HBsAg и ДНК HBV теоретически могут быть связаны с более поздним отбором пробы, однако интервалы между манифестацией заболевания и временными точками отбора проб были не продолжительнее, чем в других случаях. Более того, активность АЛТ и динамика ее снижения оказались схожими в обеих группах.

У пациентов с моноинфекцией HBV обнаружены более низкие средние значения концентраций HBsAg в каждой временной точке в сравнении с ко-инфицированными пациентами, причем эти различия были статистически значимы при сравнении РНК HDV-позитивных и РНК HDV-негативных образцов ($p = 0,001$) (рис. 3).

Начальное снижение HBsAg происходило гораздо быстрее, чем снижение ДНК HBV (рис. 4).

В первом временном интервале медиана времени полужизни HBsAg составляла 8,3 сут, тогда как в последнем интервале – 5,7 сут, что соответствовало скорости элиминации ДНК HBV. Статистически достоверных отличий между HDV-положительными и отрицательными случаями

не выявлено. В одном из наблюдений снижения концентрации HBsAg не было выявлено, при этом концентрация ДНК HBV снизилась лишь во втором образце. Кроме того, у данного пациента не обнаруживались анти-HBc IgM, что позволяет говорить о суперинфекции HDV при хронической HBV-инфекции и объясняет особенности динамики маркеров HBV.

Исследование на наличие HBeAg проведено у 45 пациентов в первом образце сыворотки крови, из которых 33 (73%) результата оказались положительными. Зависимости наличия HBeAg от сопутствующей ко-инфекции HCV или HDV выявлено не было. Однако отсутствие HBeAg коррелировало с низким уровнем ДНК HBV (медиана $5,9 \cdot 10^5$ vs $3,3 \cdot 10^7$ МЕ/мл; $p = 0,007$) и серологическими концентрациями HBsAg (медиана 9,6 vs 40,3 мкг/мл; $p = 0,004$) в первом образце. У 7 из 12 пациентов, негативных по HBeAg, HBsAg не обнаруживался на электрофорезе по Лауреллу в 1-м или 2-м образцах сыворотки крови. Только у четырех из 33 HBeAg-положительных больных отмечено настолько быстрое снижение или изначально низкие значения концентрации HBsAg ($p = 0,003$). У пациентов, отрицательных по HBeAg, скорость элиминации HBV была ниже в 1-м периоде наблюдения (медиана $t_{1/2}$ 2,1 vs 1,35 сут; $p = 0,023$), однако эта зависимость не сохранялась в более поздних временных интервалах.

У большинства пациентов (32/48) активность АЛТ превышала верхнюю границу нормальных значений (ВГН) (30 Ед/л). У 11 больных во 2-м или даже в 3-м образце значения активности АЛТ были выше, чем в предыдущих образцах, тогда как у остальных пациентов наблюдалось снижение активности АЛТ. В 10 из 11 случаев, в которых пик активности АЛТ приходился на 2-й или 3-й образец, несмотря на то, что наблюдалось нарастание синдрома цитолиза (ранняя стадия заболевания), концентрации ДНК HBV и HBsAg постоянно снижались. Не отмечено значительной корреляции между активностью АЛТ и значениями/динамикой маркеров HBV. Однако активность АСТ в 1-м образце была значительно ниже у пациентов с быстрой элиминацией HBsAg (12,8 vs 27,2 ВГН; $p = 0,009$). На более поздних временных точках такой зависимости не выявлено.

Обсуждение

В данном исследовании изучены закономерности динамики различных маркеров HBV в течении острого гепатита в группах пациентов с моноинфекцией, а также пациентов, ко-инфицированных другими вирусами гепатита. В четырех случаях этиологическая роль HBV в текущем заболевании не была достоверно установлена, поскольку острый гепатит мог быть вызван другими ви-

русами. У большинства пациентов, несмотря на высокую гетерогенность случаев ко-инфекции, течение гепатита было схожим. Наблюдалось быстрое снижение активности АЛТ и уровня ДНК HBV, а также медленное, но стабильное снижение концентрации HBsAg. Только в одном случае начальный уровень ДНК HBV был очень низким, на границе порога детекции. Данный пациент ко-инфицирован HCV и HDV, которые могли играть ведущую роль в патогенезе острого гепатита.

Снижение уровня ДНК HBV ранее отмечено у лиц с ко-инфекцией HDV. Аналогичная тенденция не прослеживалась у пациентов, ко-инфицированных HCV. Сообщалось, что HDV ингибирует репликацию или экспрессию HBV и тем самым приводит к временному исчезновению HBsAg у носителя HBV [5]. Однако в нашем исследовании наблюдалась несколько иная тенденция. Обнаружено, что концентрация HBsAg в среднем выше у пациентов, ко-инфицированных HDV. Возможно, HDV вызывает снижение концентрации ДНК HBV и повышение концентрации HBsAg, поскольку HBsAg необходим для сборки оболочки HDV, тогда как белок нуклеокапсида и геном HBV конкурируют с нуклеопротеином HDV. HCV подавляет репликацию HBV, но, видимо, в большинстве случаев острой ко- и суперинфекции HBV может преодолевать супрессорное действие HCV, поскольку начальные уровни ДНК HBV и HBsAg только незначительно отличаются при наличии и отсутствии ко-инфекции HCV. Более того, скорость элиминации ДНК HBV и HBsAg у пациентов с ко-инфекцией HCV сходна с таковой у пациентов с моноинфекцией HBV. Это указывает на факт, что HCV, вероятно, не влияет на иммуноопосредованную элиминацию HBV в острой фазе инфекции. Приведенные данные контрастируют со сценарием хронической ко-инфекции HBV/HCV, когда один из вирусов доминирует над другим, причем чаще всего преобладает HCV [6]. Выраженное влияние при ко-инфекции оказывает HIV. У обоих обследованных пациентов развивалась персистентная инфекция HBV, наблюдалось нарастание концентраций HBsAg или ДНК HBV, несмотря на активный иммунопатогенез, свойственный фазе острого гепатита.

ОГВ у пациентов, инфицированных HCV, изучен ранее. Как и в нашем случае, значительного влияния HCV на кинетику ДНК HBV или клиническое течение заболевания выявлено не было [7].

Fong и соавт. [8] ранее описали 9 пациентов с ОГВ без ко-инфекции. Более высокие и персистирующие количественные значения ДНК HBV и серологические уровни HBsAg наблюдались у трех пациентов, у которых заболевание перешло в хроническую форму. В нашем исследовании признаки персистентности оказались только у двух паци-

ентов, ко-инфицированных HIV. Точный период полужизни ДНК HBV описан Whalley и соавт. [9] на 7 пациентах с моноинфекцией HBV методом количественного ПЦР-анализа. Этой группой отмечено снижение количества ДНК HBV, начиная с периода нарастания активности АЛТ. Наиболее активно элиминация ДНК HBV наблюдалась в период пиковых значений активности АЛТ, период полужизни ДНК HBV составлял при этом 1,4–5 сут ($3,7 \pm 1,2$ сут), после чего следовал этап медленной элиминации ДНК HBV. У четырех пациентов период полужизни ДНК HBV был рассчитан на более коротких интервалах времени в 1–6 дней, где пиковые значения времени полужизни составили $1,2 \pm 0,6$ сут. В нашем исследовании на 45 пациентах с острой формой инфекции в первые и наиболее быстрые фазы элиминации ДНК HBV период ДНК HBV составил 1,6 сут, что хорошо согласуется с оценкой, данной в работе Whalley и соавт. [9]. Увеличение времени полужизни в период от 10 до 30 сут после манифестации острого гепатита также хорошо согласуется с этим исследованием. Помимо этого скорость элиминации ДНК HBV в раннем периоде, установленная в нашем исследовании, близка к оценочному периоду полужизни ДНК HBV, полученному в исследованиях с применением ингибиторов обратной транскриптазы HBV (ламивудин, адефовир), где она составляла 1,0–1,1 сут [10, 11]. Время полужизни ДНК HBV в плазме крови в условиях противовирусной терапии (высвобождение новых вирусных частиц заблокировано) и в нашем исследовании (отсутствие сформированного специфического гуморального иммунного ответа), вероятно, отражает довольно высокую стабильность HBV в плазме крови. В экспериментах на шимпанзе показано, что при достижении пиковых значений активности АЛТ ДНК HBV практически полностью элиминируется из клеток печени [12]. Тем самым можно выдвинуть предположение, что в этой фазе заболевания *de novo* продуцируется только небольшое количество HBsAg. Длительный период полужизни HBsAg в сыворотке крови у большинства пациентов в нашем исследовании значительно превышает период полужизни ДНК HBV, что указывает на высокую стабильность HBsAg (время полужизни 8,3 сут). Анти-HBs антитела, по-видимому, не играют важной роли в ранней элиминации HBsAg у большинства больных. В ранее опубликованном исследовании обнаружено, что одна международная единица анти-HBs связывает 0,9 мкг HBsAg. Концентрации анти-HBs в большинстве случаев оказываются ниже 0,1 МЕ даже спустя 6 мес после манифестации ОГВ [13]. С другой стороны, начальное среднее значение концентрации HBsAg в нашем исследовании составляло 37,3 мкг/мл. Таким образом, для образования комплексов HBsAg

с анти-HBs потребовалось бы гораздо большее количество анти-HBs, превышающее 10 МЕ/мл. Вместе с тем явное уменьшение времени полужизни в более поздней фазе острого гепатита может быть следствием частичной маскировки остаточных небольших количеств HBsAg в результате нарастания концентрации анти-HBs. В данном исследовании 11 пациентов имели более низкие уровни HBsAg и, возможно, представляют группу с особой динамикой элиминации вируса. Возможно, у этих пациентов происходила быстрая элиминация вируса, на что указывают низкие уровни ДНК HBV и отрицательные результаты в тестах на HBeAg. В данной группе наблюдалась более низкая активность АСТ, имеющей сравнительно короткое время полужизни в отличие от АЛТ [14], уровень которой все же оставался высоким. Данный факт позволяет говорить о том, что выраженность синдрома цитолиза у этих пациентов уменьшается также быстрее.

Быстрое исчезновение HBsAg может стать проблемой при диагностике заболевания, если HBsAg служит единственным маркером для выявления HBV инфекции. В семи образцах сыворотки крови от трех пациентов HBsAg не детектировался методом иммуноферментного анализа, хотя ДНК HBV выявлялась методом ПЦР.

Фактически у всех больных в ходе наблюдения обнаруживалась ДНК HBV в низкой концентрации и наблюдалось снижение скорости ее элиминации. Это может свидетельствовать о том, что часть гепатоцитов, в которых продолжается репликация HBV, либо не распознаются иммунной системой, либо резистентны к механизмам противовирусной защиты.

Медленное, но устойчивое снижение HBsAg более чем на 50% в течение двух недель может служить прогностическим признаком выздоровления. Результаты ранее опубликованного исследования сыворотки крови и ткани печени 368 пациентов показали, что значительное снижение HBsAg практически всегда (в 336 из 338 случаев) ассоциировано с полным выздоровлением пациентов, тогда как менее выраженное снижение обычно (в 27 случаях из 30) может быть связано с высоким риском перехода заболевания в хроническую форму (Kaboth и соавт., 1980). Для 10 пациентов в нашем исследовании образцы были доступны после 12–14 мес от начала острого гепатита и к этому времени были негативны по HBsAg и ДНК HBV.

Проведенное нами исследование выявило особенности динамики маркеров HBV при ОГВ и показало, что элиминация ДНК HBV происходит значительно быстрее, чем элиминация HBsAg. Кроме того, показано, что при ко-инфекции HDV подавляет репликацию HBV и в то же время усиливает экспрессию HBsAg. Полученные данные дополня-

ют имеющуюся информацию о закономерностях взаимодействия HBV и HDV при ко-инфекции и должны учитываться при трактовке результатов лабораторных исследований как в раннем периоде заболевания, так и при последующем наблюдении.

Благодарности. Авторы выражают благодарность Платонову А.Е. и Шипулиной О.Ю. за полезные советы и обсуждение, Венд У., Носковой О.М., Сергиенко О.Г. и Барановой Е.Б. за техническую помощь.

Финансирование. Чуланов В.П. получил грант Американского общества микробиологии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Симонова И.А., Волчкова Е.В., Чуланов В.П. и др. Алгоритм специфической лабораторной диагностики вирусных гепатитов. *Клин. лаб. диагн.* 2000; 8: 21–33.
2. Erhardt A., Reineke U., Blondin D. et al. Mutations of the core promoter and response to interferon treatment in chronic replicative hepatitis B. *Hepatology*. 2000; 31: 716–25.
3. Schaefer S., Glebe D., Wend U.C. et al. Universal primers for real-time amplification of DNA from all known Orthohepadnavirus species. *J. Clin. Virol.* 2003; 27: 30–7.
4. Saldanha J., Gerlich W., Lelie N. et al. An international collaborative study to establish a World Health Organization international standard for hepatitis B virus DNA nucleic acid amplification techniques. WHO Collaborative Study Group. *Vox Sang.* 2001; 80 (1): 63–71.
5. Williams V., Brichler S., Radjef N. et al. Hepatitis delta virus proteins repress hepatitis B virus enhancers and activate the alpha/beta interferon-inducible MxA gene. *J. Gen. Virol.* 2009; 90 (11): 2759–67. doi: 10.1099/vir.0.011239-0. Epub 2009 Jul 22.
6. Yu G., Chi X., Wu R. et al. Replication inhibition of hepatitis B virus and hepatitis C virus in co-infected patients in Chinese population. *PLoS One*. 2015; 10(9):e0139015. doi: 10.1371/journal.pone.0139015. eCollection 2015.
7. Шкурко Т.В., Чешик С.Г. Гепатит В у анти-HCV-позитивных пациентов. *Вопр. вирусол.* 2000; 45 (3): 32–5.
8. Fong T.L., Di Bisceglie A.M., Biswas R. et al. High levels of viral replication during acute hepatitis B infection predict progression to chronicity. *J. Med. Virol.* 1994; 43: 155–8.
9. Whalley S.A., Murray J.M., Brown D. et al. Kinetics of acute hepatitis B virus infection in humans. *J. Exp. Med.* 2001; 193: 847–54.
10. Nowak M.A., Bonhoeffer S., Hill A.M. et al. Viral dynamics in hepatitis B virus infection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1996; 93 (9): 4398–402.
11. Tsiang M., Rooney J.F., Toole J.J., Gibbs C.S. Biphasic clearance kinetics of hepatitis B virus from patients during adefovir dipivoxil therapy. *Hepatology*. 1999; 29 (6): 1863–9.
12. Günel Ö., Barut Ş., Etikan İ. et al. Relation between serum quantitative HBsAg, ALT and HBV DNA levels in HBeAg negative chronic HBV infection. *Turk. J. Gastroenterol.* 2014; 25 (Suppl. 1): 142–6. doi: 10.5152/tjg.2014.5711.
13. Böcher W.O., Herzog-Hauff S., Schlaak J. et al. Kinetics of hepatitis B surface antigen-specific immune responses in acute and chronic hepatitis B or after HBs vaccination: stimulation of the in vitro antibody response by interferon gamma. *Hepatology*. 1999; 29 (1): 238–44.
14. Dunn M. et al. The disappearance rate of glutamic oxaloacetic transaminase from the circulation and its distribution in the

body's fluid compartments and secretions. *J. Lab. Clin. Med.* 1958; 51: 259.

REFERENCES

1. Simonova I.A., Volchkova E.V., Chulanov V.P. et al. The algorithm specific laboratory diagnosis of viral hepatitis. *Klin. Lab. diagn.* 2000; 8: 21–33. (in Russian)
2. Erhardt A., Reineke U., Blondin D. et al. Mutations of the core promoter and response to interferon treatment in chronic replicative hepatitis B. *Hepatology*. 2000; 31: 716–25.
3. Schaefer S., Glebe D., Wend U.C. et al. Universal primers for real-time amplification of DNA from all known Orthohepadnavirus species. *J. Clin. Virol.* 2003; 27: 30–7.
4. Saldanha J., Gerlich W., Lelie N. et al. An international collaborative study to establish a World Health Organization international standard for hepatitis B virus DNA nucleic acid amplification techniques. WHO Collaborative Study Group. *Vox Sang.* 2001; 80 (1): 63–71.
5. Williams V., Brichler S., Radjef N. et al. Hepatitis delta virus proteins repress hepatitis B virus enhancers and activate the alpha/beta interferon-inducible MxA gene. *J. Gen. Virol.* 2009; 90 (11): 2759–67. doi: 10.1099/vir.0.011239-0. Epub 2009 Jul 22.
6. Yu G., Chi X., Wu R. et al. Replication inhibition of hepatitis B virus and hepatitis C virus in co-infected patients in Chinese population. *PLoS One*. 2015; 10(9):e0139015. doi: 10.1371/journal.pone.0139015. eCollection 2015.
7. Shkurko T.V., Cheshik S.G. Acute hepatitis B in anti-HCV-positive patients. *Vopr. virusol.* 2000; 45 (3): 32–5. (in Russian)
8. Fong T.L., Di Bisceglie A.M., Biswas R. et al. High levels of viral replication during acute hepatitis B infection predict progression to chronicity. *J. Med. Virol.* 1994; 43: 155–8.
9. Whalley S.A., Murray J.M., Brown D. et al. Kinetics of acute hepatitis B virus infection in humans. *J. Exp. Med.* 2001; 193: 847–54.
10. Nowak M.A., Bonhoeffer S., Hill A.M. et al. Viral dynamics in hepatitis B virus infection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1996; 93 (9): 4398–402.
11. Tsiang M., Rooney J.F., Toole J.J., Gibbs C.S. Biphasic clearance kinetics of hepatitis B virus from patients during adefovir dipivoxil therapy. *Hepatology*. 1999; 29 (6): 1863–9.
12. Günel Ö., Barut Ş., Etikan İ. et al. Relation between serum quantitative HBsAg, ALT and HBV DNA levels in HBeAg negative chronic HBV infection. *Turk. J. Gastroenterol.* 2014; 25 (Suppl. 1): 142–6. doi: 10.5152/tjg.2014.5711.
13. Böcher W.O., Herzog-Hauff S., Schlaak J. et al. Kinetics of hepatitis B surface antigen-specific immune responses in acute and chronic hepatitis B or after HBs vaccination: stimulation of the in vitro antibody response by interferon gamma. *Hepatology*. 1999; 29 (1): 238–44.
14. Dunn M. et al. The disappearance rate of glutamic oxaloacetic transaminase from the circulation and its distribution in the body's fluid compartments and secretions. *J. Lab. Clin. Med.* 1958; 51: 259.

Поступила 02.03.16