

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ВАРИАНТЫ ВИРУСА ГЕПАТИТА В У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМ ГЕПАТИТОМ В

Е.А. Елпаева¹, О.Е. Никитина¹, М.М. Писарева¹, И.В. Шилова², В.А. Грешнякова², М.П. Грудинин¹, О.И. Киселев¹

¹ Научно-исследовательский институт гриппа, Санкт-Петербург, Россия

² Научно-исследовательский институт детских инфекций, Санкт-Петербург, Россия

Genetic variants of hepatitis B virus in patients with chronic hepatitis B

E.A. Elpaeva¹, O.E. Nikitina¹, M.M. Pisareva¹, I.V. Shilova², V.A. Greshnjakova², M.P. Grudinin¹, O.I. Kiselev¹

¹ Science Research Institute of Influenza, Saint-Petersburg, Russia

² Science Research Institute of Children's Infections, Saint-Petersburg, Russia

Резюме

Введение. Биологические свойства вируса, такие как чувствительность к противовирусным препаратам, клиническое течение хронического гепатита В (ХГВ), вероятность развития цирроза и гепатоцеллюлярной карциномы определяются генотипом и мутациями в геноме вируса гепатита В (ВГВ).

Цель. Изучение генетических вариантов ВГВ у пациентов с ХГВ, находящихся на лечении в клиниках Санкт-Петербурга.

Материалы и методы. Обследовано 1414 пациентов с ХГВ на наличие ВГВ в крови и/или ткани печени методом полимеразной цепной реакции. Генотип определен у 298 пациентов, секвенирование фрагмента гена полимеразы – у 80 пациентов.

Результаты. Вирусная ДНК выявлена у 323 (55,8%) больных ХГВ. Генотип D обнаружен у 238 (80,1%), генотип А – у 49 (16,5%), генотип С – у 2 (0,7%) и микст D+A – у 8 (2,7%) пациентов. У 4 пациентов были выявлены замены в YMDD-мотиве полимеразы (M204I/V), а также найдены грубые первичные и вторичные мутации устойчивости к аналогам нуклеотидов (ламивудину, телбивудину, энтекавиру). Показано, что мутации в области обратной транскриптазы (rt) полимеразного гена влияют и на поверхностный белок. У трех пациентов замена rtA181T привела к образованию стоп-кодона в S-гене и преждевременной терминации синтеза поверхностного белка (sW172*). Отсутствие HBeAg и увеличение степени фиброза у 7 пациентов может быть следствием выявленных мутаций в CORE гене (G1896A, A1762T, G1764A).

Заключение. Исследование географического распределения генотипов вируса гепатита В и выявление аминокислотных замен, приводящих к снижению концентрации серологических маркеров и появлению мутаций устойчивости к противовирусным препаратам, имеет важное практическое значение для прогнозирования тяжести течения заболевания и эффективности противовирусной терапии.

Ключевые слова: вирус гепатита В, генотипы, мутации, хронический гепатит В, секвенирование.

Abstract

Introduction. Biological properties of virus, such as susceptibility to antivirals, the clinical course of chronic hepatitis B (CHB), the probability of developing cirrhosis and hepatocellular carcinoma are determined by genotype and mutations in the genome of the hepatitis B virus (HBV).

The aim of the study was evaluating of HBV genetic variants in patients with CHB from St. Petersburg hospitals.

Material and methods. A total of 1414 CHB patients with positive polymerase chain reaction HBV genome in blood and/or liver tissue were observed. Genotype was determined in 298 patients, sequencing of the polymerase gene fragment was performed in 80 patients.

Results. Viral DNA was detected in 323 (55.8%) patients with CHB. Genotype D was determined in 238 (80.1%), genotype A – in 49 (16.5%), C genotype – in 2 (0.7%) and mixed A+D – in 8 (2.7%) patients. Substitutions in YMDD-motif of the polymerase protein (M204I/V) as well as other primary and secondary resistance mutations to nucleotide analogues (lamivudine, telbivudine, entecavir) were found in four patients. Mutations in the reverse transcriptase (rt) region of polymerase gene were shown to affect the structure of surface protein. The substitution rtA181T in three patients resulted in formation of stop codon (sW172*) and premature termination of surface protein synthesis. The absence of HBeAg and the degree of fibrosis increase in 7 patients may be the result of mutations identified in core gene (G1896A, A1762T, G1764A).

Conclusion. Study of the geographical distribution of HBV genotypes and identification of amino acid substitutions leading to decrease in serum markers concentration and emergence of resistance antivirals mutations is of great practical importance for predicting severity of the disease and effectiveness of antiviral therapy.

Key words: hepatitis B virus, genotypes, mutations, chronic hepatitis B, sequencing.

Введение

Вирус гепатита В (ВГВ) является одной из основных причин хронического гепатита и сегодня остается одной из глобальных проблем мирового здравоохранения. В настоящее время в мире вирусом гепатита В инфицированы около 240 млн человек, и более 0,5 млн носителей вируса ежегодно умирает от тяжелых последствий инфекции, таких как печеночная недостаточность, гепатоцеллюлярная карцинома (ГЦК) и цирроз печени [1]. По данным государственной статистики, в России в последние годы благодаря программе вакцинации случаи острого гепатита В (ОГВ) регистрируются все реже, в то время как заболеваемость хроническим вирусным гепатитом (ХГВ) не только остается на высоком уровне, но и продолжает возрастать. В Санкт-Петербурге и Ленинградской области ежегодно отмечают более высокие показатели заболеваемости ХГВ, чем в среднем по России [2].

Вместе с тем, основные успехи в лечении гепатита В связаны с накоплением знаний о молекулярно-биологических особенностях вируса. Показано, что одним из наиболее важных факторов, определяющих тяжесть течения болезни, частоту хронизации и вероятность развития цирроза и гепатоцеллюлярной карциномы (ГЦК), является генотип ВГВ. Кроме того, эффективность противовирусного лечения также связана с генотипом вируса [3–5]. В настоящее время выделяют 10 генотипов ВГВ (А–J генотипы), частота встречаемости которых зависит от географического положения [6–7]. Ввиду клинической важности информации о распространении различных генотипов ВГВ на территории РФ необходимо постоянно проводить мониторинг и молекулярно-эпидемиологическое исследование данной инфекции. В настоящее время в России методы молекулярно-генетической диагностики ВГВ развиты недостаточно. Так, первая и единственная коммерческая диагностическая тест-система для определения генотипа вируса гепатита В методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) появилась только в 2013 г.

Вопросы распространения мутантных форм ВГВ и особенности течения ХГВ, вызванного такими вирусами, также требуют изучения. Генетическая гетерогенность вирусной популяции у пациента обусловлена двумя ключевыми факторами. Первый из них связан с адаптацией вируса к организму-хозяина и противостоянием иммунной системе организма. Например, показано, что нуклеотидные несинонимические замены в *preS/S* и *preS/s* областях генома вируса гепатита В приводят к снижению уровня экспрессии вирусных белков НВсAg и НВsAg, что, в свою очередь, приводит к невозможности определения этих белков стандартными серологическими методами.

Второй фактор связан с воздействием внешних факторов, таких как противовирусная терапия. Применяемое в настоящее время длительное лечение с помощью препаратов на основе аналогов нуклеозидов и нуклеотидов (АН) зачастую приводит к развитию лекарственной устойчивости. Так, аминокислотные замены в области обратной транскриптазы полимеразного белка играют основную роль в формировании устойчивости вируса к АН – ламивудину, адефовиру, энтекавиру, телбивудину [8–9].

Основной мутацией устойчивости вируса к ламивудину является замена M204I/V. Кроме того, описан ряд дополнительных мутаций (L180M, V173L, L80I/V), усиливающих репликативную активность и селекцию мутантных вариантов вируса. Устойчивость к телбивудину также связана с мутациями M204I/V, L180M, L80I/V, поэтому между двумя препаратами существует перекрестная резистентность. Если при монотерапии ламивудином устойчивость наблюдается у 50% пациентов на третий год лечения, и у 80% – на пятый год, то при терапии телбивудином устойчивость регистрируется лишь 3% НВсAg-негативных пациентов в первый год терапии и у 9% во второй год. Энтекавир по сравнению с ламивудином и телбивудином имеет более высокий барьер для возникновения устойчивости, которая определяется специфичными заменами T184S/I/A/L/G, S202I/G/C и M250I/V, а также мутаций, характерных для лечения ламивудином M204I/V, L180M. Частота развития устойчивости у пациентов, не получавших до этого лечение АН, не превышает 1,2% после 6 лет терапии. В основном, резистентность к энтекавиру регистрируется у ламивудин-устойчивых пациентов и возрастает с 6% после года терапии до 57% после 6 лет лечения [4, 8, 9]. Из-за наличия в структуре генома ВГВ перекрывающихся рамок считывания мутации в полимеразном гене могут изменять и свойства поверхностных белков. PreS/S-мутации, возникающие самостоятельно или из-за наличия missense-мутаций полимеразы, приводят к изменению структуры НВсAg, снижению его секреции из гепатоцита, что, с одной стороны, затрудняет этиологическую верификацию хронического гепатита, а с другой – способствует развитию окислительного стресса, воспалению, ядерному увеличению числа циркулярно замкнутых вирусных ДНК в ядре клетки, развитию мутаций и раковой трансформации гепатоцитов на поздних стадиях ХГВ [10–13].

В связи с этим чрезвычайно важную роль для определения точной картины заболевания и назначения своевременного лечения представляют данные о структуре генома ВГВ.

Цель исследования – изучение генетических вариантов ВГВ у пациентов с ХГВ, находящихся на лечении в клиниках Санкт-Петербурга.

Материалы и методы

В период 2008–2014 гг. методом ПЦР на наличие ДНК вируса гепатита В (ВГВ) в сыворотке крови были обследованы 1414 пациентов с подозрением на ХГВ.

Выявление ДНК ВГВ, определение вирусной нагрузки и генотипа ВГВ из образцов плазмы крови проводили методом ПЦР с использованием наборов реагентов «АмплиСенс HBV-FL», «АмплиСенс HBV-Монитор-FL» и «АмплиСенс HBV-генотип-FL» (ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Россия). Мутации устойчивости к АН определяли у 5 групп пациентов с ХГВ. Пациенты первой группы получали монотерапию пегилированным интерфероном (пегИФН) в течение 48 недель (1 пациент – пегИФН + энтекавир, и 1 пациент принимал пегИФН 3 года), пациенты второй группы принимали ламивудин (ЛАМ), третьей группы – телбивудин (ТБВ), четвертой – энтекавир (ЭНТ), в пятую группу вошли пациенты, не получавшие противовирусную терапию (ПВТ). Длительность лечения АН была различной (от 3 месяцев до 6 лет) из-за разного исходного уровня вирусной нагрузки, степени фиброза и, соответственно, – разного ответа на терапию АН (табл.).

Амплификацию фрагмента генома ВГВ для определения мутаций проводили с помощью оригинальных праймеров методом, разработанным в НИИ гриппа [14]. Анализ и очистку продуктов ПЦР для секвенирования проводили электрофорезом в 2% агарозном геле с добавлением бромид-

да этидия. ДНК из агарозного геля выделяли коммерческим набором QiaQuick Gel Extraction Kit (Qiagen, Германия). Секвенирование нуклеотидной последовательности фрагмента гена полимеразы, preS/S и preCore/Core области проводили методом Сэнжера при помощи набора реагентов ABI prism[®] BigDye[®] Terminator v3.1 Kit с использованием оригинальных праймеров на приборе ABI PRISM 3100 («Applied Biosystems», США) [14, 15]. Анализ последовательностей и построение выравниваний проводили с помощью программы Vector NTI 10 Advance (Invitrogen, США). Вирусные антигены HBsAg и HBeAg и антитела к вирусу гепатита В – AbHBs, AbHBe, AbHBcorIgM, AbHBcorIgG исследовались методом иммуноферментного анализа с помощью тест-систем производства ЗАО «Вектор-Бест» с качественной оценкой результатов. Индекс гистологической активности (ИГА) оценивался по Knodell с оценкой паренхиматозного повреждения (ПП) (1–4 балла), степень фиброза (Ф) по Metavir (0–4). Протокол исследования выполнялся согласно Хельсинкской декларации, от всех пациентов было получено информированное согласие на исследование. Статистическая обработка данных выполнялась с помощью пакета Statistica 6, с оценкой t-критерия Стьюдента, теста Манна – Уитни.

Результаты и обсуждение

Среди обследованных пациентов с подозрением на вирусный гепатит вирус гепатита В был определен более чем у половины (n = 782), в том

Таблица

Клинико-лабораторные показатели у больных ХГВ

Показатели, n (%)	Группа I ПегИФН n = 15	Группа II ЛАМ n = 15	Группа III ТБВ n = 10	Группа IV ЭНТ n = 27	Группа V без ПВТ n = 13
Мужчины	12 (80%)	9 (60%)	7 (70%)	19 (70%)	6 (46%)
Женщины	3 (20%)	6 (40%)	3 (30%)	8 (30%)	7 (54%)
Средний возраст	36,5±17,6	27,9±17,6	37,9±15,2	38,4±14,2	45±11,7
Средняя длительность лечения, недели	54±24	47±34	144,4±72	159,7±85	0±0
HBsAg (+) до лечения	15 (100%)	15 (100%)	10 (100%)	27 (100%)	13 (100%)
HBeAg (+) до лечения	2 (13%)	4 (27%)	1 (10%)	7 (26%)	0 (0%) **, ****
HBeAb (+) до лечения	13 (87%)	11 (73%)	9 (90%)	20 (74%)	13 (100%) **, ****
Положительная динамика	6 (40%)	6 (40%)	3 (30%)	12 (44%)	0 (0%) *, **, ****
Без эффекта	4 (27%)	9 (60%) ***, ****	1 (10%) **	6 (22%) **	13 (100%) *, **, ***, ****
Рост уровня вирусной нагрузки при терапии	2 (13%) **	0 (0%) ***, ****	6 (60%) *, **	8 (30%) **	0 (0%) ***, ****
Рост уровня вирусной нагрузки после прекращения лечения	3 (20%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (4%)	0 (0%)
Замены в полимеразе	0 (0%)	2 (13%)	2 (20%)	3 (11%)	0 (0%)

* – разница достоверна с группой I; ** – разница достоверна с группой II; *** – разница достоверна с группой III; **** – разница достоверна с группой IV.

числе были выявлены случаи сочетанного инфицирования ВГВ и вирусом гепатита С — у 49 пациентов (3%) и ВГВ и вирусом гепатита D — у 16 пациентов (1%). У 522 пациентов была определена вирусная нагрузка (ВН) ВГВ в плазме крови. Более чем у половины обследованных пациентов ($n = 300$, 57,5%) наблюдалась низкая вирусная нагрузка (менее 10^4 копий/мл), у 149 (28,5%) — средняя ВН ($10^4 - 10^6$ копий/мл) и лишь у 73 (14%) — вирусная нагрузка была более 1 млн копий/мл. Генотип ВГВ был определен у 297 пациентов. Генотип D был зарегистрирован у 238 пациентов (80,1%), генотип А — у 49 (16,5%), генотип С — у 2 (0,7%). Случаи одновременного присутствия в плазме крови 2 генотипов вируса (А и D генотипа) были выявлены у 8 пациентов (2,7%).

Среди пациентов первой группы, получавших терапию ПегИИФ, положительная динамика (снижение уровня вирусной нагрузки, нормализация активности АЛТ и др.) наблюдалась у 6 пациентов (40%), причем у 2 регистрировали увеличение синтеза антител к НВеАг (НВеАб) и снижение секреции соответствующего белка (НВеАг), у 4 ответа на терапию не выявлено, поэтому 2 пациента были переведены на терапию телбивудином и 1 — энтекавиром. У 5 пациентов после временного снижения наблюдалось резкое увеличение уровня вирусной нагрузки во время терапии ($n = 2$) или после прекращения лечения ($n = 3$), 2 из этих пациентов впоследствии была назначена терапия энтекавиром. Мутаций устойчивости к АН в гене полимеразы ВГВ в данной группе обнаружено не было.

У пациентов второй группы положительная динамика регистрировалась у 6 пациентов (40%). В оставшихся случаях эффекта от лечения выявлено не было, поэтому 3 пациента были переведены на терапию телбивудином, 3 — энтекавиром и 1 получал параллельно телбивудин и энтекавир в рамках клинического исследования. Мутации устойчивости были выявлены у двух пациентов, не ответивших на терапию. У 1 пациента после 24 месяцев лечения ламивудином была обнаружена замена, приводящая к вторичной (компенсаторной) мутации устойчивости rtQ215S, в то время как первичной мутации устойчивости обнаружено не было. У второго после 12 месяцев лечения была выявлена мутация в YMDD-мотиве полимеразы (rtM204I), приводящая к резистентности вируса, а еще через 6 месяцев лечения ламивудином у этого пациента были обнаружены еще ряд замен в полимеразном белке (rtM204V, rtL80I, rtL180M, rtA181V), усиливающих невосприимчивость вируса к терапии.

После неудачной терапии ламивудином у одного пациента лечение телбивудином и энтекавиром привело к снижению вирусной нагрузки, у другого лечение телбивудином не только снизило концентрацию ДНК ВГВ, но также привело к по-

явлению антител к НВеАг, при этом снижение синтеза белка не зафиксировано. У остальных пациентов в 60% случаев был зарегистрирован рост вирусной нагрузки на фоне терапии, поэтому 5 из 6 пациентов были переведены на терапию энтекавиром. Мутации устойчивости к телбивудину были выявлены у 2 пациентов. У 1 — после возникновения устойчивости к ламивудину лечение в течении 14 месяцев телбивудином лишь усилило резистентность, что было показано изменениями в последовательности полимеразы (замены rtM204V, rtV173L, rtL180M, rtA181C). У второго — после 58 месяцев лечения телбивудином были обнаружены мутации устойчивости (rtM204I, rtL80I, rtQ215S).

Среди пациентов четвертой группы положительная динамика была зафиксирована в 44% случаев, причем у 1 пациента было выявлено снижение концентрации НВсАг и увеличение соответствующих антител, а у другого — появление НВеАб на фоне исчезновения НВеАг. Вирусологический прорыв при лечении энтекавиром у 2 пациентов был следствием выявленных мутаций устойчивости (rtM204V, rtV173L, rtL180M). У пациента с резистентностью к ламивудину и телбивудину лечение энтекавиром также не было эффективным ввиду сохранения популяции мутантных вирусов (сохранялись замены: rtM204V, rtV173L, rtL180M, rtA181C) и лишь после добавления тенофовира вирусная нагрузка за 12 месяцев снизилась до уровня 300 копий/мл.

Мутаций устойчивости в группе пациентов, не подвергавшихся противовирусной терапии, обнаружено не было.

Проведенный анализ S-гена показал, что мутации в полимеразе влияют и на структуру поверхностного белка. Так, обнаруженные замены в 173, 181 и 204 положениях обратной транскриптазы приводили к замене аминокислотного остатка в 164, 172/173 и 195/196 положениях S-белка соответственно. Причем замена rtM204I приводила к замене в 196 положении S-гена, а замена rtM204V — в 195 положении во всех случаях. У 3 пациентов была обнаружена замена rtA181T, которая привела к образованию стоп-кодона и терминации синтеза полноразмерного поверхностного белка (sW172*). Замены в S-гене G145R, ответственной за «вакцинное бегство», обнаружено не было, однако у 12 пациентов были выявлены missense-мутации в гене полимеразы, которые привели к замене rtR153W.

У 4 пациентов были выявлены мутации в гене core A1762T, G1764A и у 2 пациентов — мутация G1896A. У данных пациентов было зафиксировано снижение концентрации НВеАг до недектируемого стандартными серологическими методами уровня, и увеличение степени фиброза у пациентов с заменой G1896A. У 1 пациента с мутациями A1762T + G1764A + G1896A наблюдался цирроз,

что и стало причиной летального исхода заболевания. Мутации в 1814 и 1815 положениях гена core у одного пациента не привели к прекращению синтеза HBeAg.

По результатам более ранних исследований, в период 2002–2006 гг. в Санкт-Петербурге преобладал ВГВ генотипа D (96%), ВГВ генотипа А был выявлен у 4% больных, случаи же другого генотипа и микст-генотипов зафиксированы не были [10, 14]. В данном анализе генотипических вариантов ВГВ, циркулирующих на территории Санкт-Петербурга, проводившемся в период 2008–2014 гг., было также показано превалирование ВГВ генотипа D (80,1%). Однако в сравнении с предыдущими годами отмечалось увеличение доли ВГВ генотипа А (с 4% в 2002–2006 гг. до 16,5% в 2008–2014 гг.). Также были выявлены случаи микст-генотипа (2,7%) и генотипа С (0,7%). Изменение частоты встречаемости генотипов ВГВ, циркулирующих в Санкт-Петербурге, возможно, связано с увеличением миграции населения в этом регионе.

В настоящее время накоплено большое количество данных об использовании АН для лечения ХГВ. Несмотря на то, что во время терапии или после окончания лечения часто наблюдается резкое увеличение уровня вирусной нагрузки, длительное использование АН с высоким барьером против возникновения мутаций устойчивости, такие как тенофовир и энтекавир, оправдано и показало высокую эффективность [8, 16]. Показано, что у пациентов, не получавших ранее ПВТ, лечение энтекавиром и телбивудином приводит к снижению ВН, нормализации биохимических и печеночных показателей уже в первый год терапии [17, 18].

Значительно меньше данных о применении АН у пациентов с неэффективной предыдущей схемой лечения. При возникновении устойчивости к ламивудину применение телбивудина может привести к кросс-резистентности, и, как следствие, — к усилению устойчивости, что было показано в нашем исследовании у 1 пациента. У пациентов, не ответивших на терапию ламивудином и/или телбивудином, использование энтекавира не всегда достаточно эффективно. В нашем исследовании у пациента с резистентностью к ламивудину и телбивудину снижение вирусной нагрузки было зарегистрировано только после добавления тенофовира.

Полученные нами результаты показали, что увеличение ВН или ее отсутствие при длительном лечении АН лишь в редких случаях может быть следствием возникновения мутаций. Лечение энтекавиром показало высокую эффективность, однако длительная терапия энтекавиром также может привести к резистентности, что было показано у 2 человек на шестой и восьмой год приема препарата.

Большое значение имеет анализ влияния мутаций устойчивости на изменение структуры поверхностного белка. Хотя замены в S-гене G145R, ответственной за «вакцинное бегство», обнаружено не было, у 12 пациентов были выявлены missense мутации в гене полимеразы, которые привели к замене rtR153W. У трех пациентов под действием противовирусной терапии замена в 181-м положении обратной транскриптазы привела к образованию стоп-кодона в S-гене и преждевременной терминации синтеза поверхностного белка (sW172*). Хотя на сегодняшний день доля подобных случаев низка, возможное влияние терапии на антигенные свойства вируса требует постоянного мониторинга.

Показано, что анализ мутаций в preCore/Core области имеет большое клиническое значение для HBeAg-позитивных пациентов [19]. Снижение секреции HBeAg и/или увеличение степени фиброза у 7 пациентов в данном исследовании, возможно, было следствием выявленных мутаций в CORE гене (G1896A, A1762T, G1764A).

Выводы

1. В Санкт-Петербурге и Ленинградской области наиболее распространен вирус гепатита В генотипа D. Увеличение доли ВГВ генотипа А за последние годы, возможно, связано с увеличением миграции населения в этом регионе.
2. Увеличение ВН при длительной терапии АН в некоторых случаях может быть следствием возникновения мутаций в геноме вируса.
3. При возникновении устойчивости к ламивудину применение телбивудина может привести к кросс-резистентности и, как следствие, — к усилению устойчивости ВГВ.
4. Лечение энтекавиром показало высокую эффективность, однако в редких случаях длительное лечение этим препаратом также приводит к возникновению устойчивости.
5. Поскольку мутации устойчивости способны приводить к изменению структуры поверхностных белков, требуется постоянный мониторинг генома ВГВ из-за возможности изменения антигенных свойств вируса и, как следствие, — снижения эффективности вакцинации.
6. Анализ мутаций в preCore/Core области имеет большое клиническое значение из-за риска развития цирроза и ГЦК у пациентов с заменами G1896A, A1762T, G1764A.

Заключение

Определение генотипов вируса гепатита В и выявление аминокислотных замен, которые приводят к снижению концентрации серологических маркеров и появлению устойчивости к противовирусным препаратам, имеет важное практическое значение для прогнозирования эффективности

терапии и скорости прогрессирования патологических процессов в печени.

Литература

1. Gerlich W.H. Medical virology of hepatitis B: how it began and where we are now. *Virology*. 2013 Jul 20;10:239.
2. Вирусные гепатиты в Российской Федерации. Аналитический обзор, выпуск 8 / под ред. А.Б. Жебруна. — СПб.: ФГУН НИИЭМ имени Пастера Роспотребнадзора, 2011. — 116 с.
3. Kao J.H. Molecular epidemiology of hepatitis B virus. *Korean J Intern Med*. 2011 Sep;26(3):255-61.
4. Kuo A. Chronic hepatitis B infection. *Clin Liver Dis*. 2012 May;16(2):347-69.
5. Shi Y.H. Correlation between hepatitis B virus genotypes and clinical outcomes. *Jpn J Infect Dis*. 2012;65(6):476-82.
6. Norder H, Couroucé AM, Coursaget P, Echevarria JM, Lee SD, Mushahwar IK, Robertson BH, Locarnini S, Magnius LO. Genetic diversity of hepatitis B virus strains derived worldwide: genotypes, subgenotypes, and HBsAg subtypes. *Intervirology*. 2004;47(6):289-309.
7. Okamoto H, Tsuda F, Sakugawa H, Sastrosoewignjo RI, Imai M, Miyakawa Y, Mayumi M. Typing hepatitis B virus by homology in nucleotide sequence: comparison of surface antigen subtypes. *J Gen Virol*. 1988 Oct;69 (Pt 10):2575-83.
8. Dandri M, Locarnini S. New insight in the pathobiology of hepatitis B virus infection. *Gut*. 2012 May;61 Suppl 1:i6-17.
9. Stuyver LJ, Locarnini SA, Lok A, Richman DD, Carman WF, Dienstag JL, Schinazi RF. Nomenclature for antiviral-resistant human hepatitis B virus mutations in the polymerase region. *Hepatology*. 2001 Mar;33(3):751-7.
10. Елпаева, Е.А. Генотипическая характеристика вируса гепатита В у хронически инфицированных больных / Е.А. Елпаева [и др.] // Дальневосточный журнал инфекционной патологии. — 2009. — № 15. — С. 56 — 59.
11. Елпаева, Е.А. Роль мутантных форм вируса гепатита В в прогрессирующем течении хронического гепатита В / Е.А. Елпаева [и др.] // Ученые записки Петрозаводского государственного университета. Естественные и технические науки. — 2014. — № 6 (143). — С. 41 — 46.
12. Fang Z.L., Sabin C.A., Dong B.Q. et al. Hepatitis B virus pre-S deletion mutations are a risk factor for hepatocellular carcinoma: a matched nested case-control study. *J Gen Virol*. 2008 Nov;89(Pt 11):2882-90.
13. Pollicino T, Amaddeo G, Restuccia A, Raffa G, Alibrandi A, Cutroneo G, Favaloro A, Maimone S, Squadrito G, Raimondo G. Impact of Hepatitis B Virus (HBV) PreS/S Genomic Variability on HBV Surface Antigen and HBV DNA Serum Levels. *Hepatology*. 2012 Aug;56(2):434-43.
14. Писарева, М.М. Молекулярно-биологические особенности вируса гепатита В дикой и мутантной форм в трех регионах Российской Федерации : дис. ... канд. биол. наук / М.М. Писарева. — СПб.: НИИ гриппа, 2007. — 110 с.
15. Морозов, В.М. Молекулярно-генетическая характеристика вариантов вируса гепатита В, циркулирующих в Санкт-Петербурге и Якутии : дисс. канд. биол. наук / В.М. Морозов. — СПб., 2003. — С. 127.
16. Громова, Н.И. Применение аналогов нуклеотидов для лечения больных с хроническим гепатитом В / Н.И. Громова // Доказательная гастроэнтерология. — 2013. — № 2. — С. 26 — 30.
17. Эсауленко, Е.В. Эффективность противовирусной терапии аналогами нуклеозидов при хроническом гепатите В / Е.В. Эсауленко [и др.] // Клинические перспективы гастроэнтерологии, гепатологии. — 2011. — № 5. — С. 21 — 25.

17. Эсауленко, Е.В. Опыт применения препарата Энтекавир в терапии хронического гепатита В / Е.В. Эсауленко [и др.] // Журнал инфектологии. — 2009. — № 4. — С. 72 — 75.

18. Lin C.L., Kao J.H. Hepatitis B virus genotypes and variants. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2015 May; 5(5): 1-19.

References

1. Gerlich W.H. Medical virology of hepatitis B: how it began and where we are now. *Virology*. 2013 Jul 20; 10:239.
2. Zhebrun A.B. Viral hepatitis in the Russian Federation. Analytical review, Issue 8: Research Institute of Epidemiology and Microbiology named after Pasteur Rospotrebnadzora. Saint-Petersburg; 2011 (in Russian).
3. Kao J.H. Molecular epidemiology of hepatitis B virus. *Korean J Intern Med*. 2011 Sep;26(3):255-61.
4. Kuo A. Chronic hepatitis B infection. *Clin Liver Dis*. 2012 May;16(2):347-69.
5. Shi Y.H. Correlation between hepatitis B virus genotypes and clinical outcomes. *Jpn J Infect Dis*. 2012;65(6):476-82.
6. Norder H, Couroucé AM, Coursaget P, Echevarria JM, Lee SD, Mushahwar IK, Robertson BH, Locarnini S, Magnius LO. Genetic diversity of hepatitis B virus strains derived worldwide: genotypes, subgenotypes, and HBsAg subtypes. *Intervirology*. 2004;47(6):289-309.
7. Okamoto H, Tsuda F, Sakugawa H, Sastrosoewignjo RI, Imai M, Miyakawa Y, Mayumi M. Typing hepatitis B virus by homology in nucleotide sequence: comparison of surface antigen subtypes. *J Gen Virol*. 1988 Oct;69 (Pt 10):2575-83.
8. Dandri M, Locarnini S. New insight in the pathobiology of hepatitis B virus infection. *Gut*. 2012 May;61 Suppl 1:i6-17.
9. Stuyver LJ, Locarnini SA, Lok A, Richman DD, Carman WF, Dienstag JL, Schinazi RF. Nomenclature for antiviral-resistant human hepatitis B virus mutations in the polymerase region. *Hepatology*. 2001 Mar;33(3):751-7.
10. Elpaeva E. A., Poretskova E.A., Kovelonov A.Yu., Alikyan I.S., Gal'braykh R.B., Grudinin M.P., Esaulenko E.V. Dal'nevostochnyy Zhurnal Infektsionnoy Patologii. 2009; 15: 56-59 (in Russian).
11. Elpaeva E. A., Pisareva M.M., Nikitina O.E., Kizhlo S.N., Grudinin M.P., Dudanova O.P. Uchenye zapiski Petrozavodskogo gosudarstvennogo universiteta. Estestvennyye i tekhnicheskyye nauki. 2014; 6(143): 41-46 (in Russian).
12. Fang Z.L., Sabin C.A., Dong B.Q. et al. Hepatitis B virus pre-S deletion mutations are a risk factor for hepatocellular carcinoma: a matched nested case-control study. *J Gen Virol*. 2008 Nov;89(Pt 11):2882-90.
13. Pollicino T, Amaddeo G, Restuccia A, Raffa G, Alibrandi A, Cutroneo G, Favaloro A, Maimone S, Squadrito G, Raimondo G. Impact of Hepatitis B Virus (HBV) PreS/S Genomic Variability on HBV Surface Antigen and HBV DNA Serum Levels. *Hepatology*. 2012 Aug; 56(2):434-43.
14. Pisareva M.M. Molekulyarno-biologicheskie osobennosti virusa gepatita B dikoy i mutantnoy form v trekh regionakh Rossiyskoy Federatsii [Molecular-biological features of hepatitis B virus wild and mutant forms in three regions of the Russian Federation] [dissertation]. St. Petersburg (Russia): Science Research Institute of Influenza; 2007. 110 p (in Russian).
15. Morozov V.M. Molekuljarno-geneticheskaja harakteristika variantov virusa gepatita V, cirkulirujushhih v Sankt-Peterburge i Jakutii [Molecular genetic characterization of variants of hepatitis B virus circulating in St. Petersburg and Yakutia] [dissertation]. St. Petersburg (Russia): Science Research Institute of Influenza; 2003. 127 p (in Russian).
16. Gromova N.I. Dokazatel'naja gastrojenterologija. 2013; 2: 26-30.

17. Esaulenko E.V., Nikitina O.E., Poreckova E.A., Stukov B.V., Alikjan I.S., Kovelonov A.Ju. Klinicheskie perspektivy gastrojenterologii, gepatologii. 2011; 5: 21-25.

18. Esaulenko E.V., Alikjan I.S., Emel'janova O.Ju, Stashkis T.A., Kovelonov A.Ju. Zhurnal infektologii. 2009; 4: 72-75.
19. Lin C.L., Kao J.H. Hepatitis B virus genotypes and variants. Cold Spring Harb Perspect Med. 2015 May; 5(5): 1-19.

Авторский коллектив:

Елпаева Екатерина Александровна — научный сотрудник лаборатории молекулярной вирусологии и геномной инженерии Научно-исследовательского института гриппа; тел.: + 7-921-584-76-90, 8(812)499-15-20, e-mail: elpaeva@influenza.spb.ru

Никитина Олеся Евгеньевна — старший научный сотрудник отделения экспериментальных научных исследований Научно-исследовательского института гриппа, к.м.н.; тел.: 8(812)499-15-48, e-mail: nikitina@influenza.spb.ru

Писарева Мария Михайловна — ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной вирусологии и геномной инженерии Научно-исследовательского института гриппа, к.б.н.; тел.: 8(812)499-15-20; e-mail: pisareva@influenza.spb.ru;

Шилова Ирина Васильевна — научный сотрудник отдела вирусных гепатитов и заболеваний печени Научно-исследовательского института детских инфекций, к.м.н., тел.: 8(812)234-34-16, e-mail: babuin2004@list.ru

Грешнякова Вера Александровна — младший научный сотрудник отдела вирусных гепатитов и заболеваний печени Научно-исследовательского института детских инфекций, тел.: 8(812)234-34-16, e-mail: veramamayva@gmail.com

Грудинин Михаил Павлович — заведующий лабораторией молекулярной вирусологии и геномной инженерии, заместитель директора по науке и развитию Научно-исследовательского института гриппа, к.б.н.; тел.: 8(812)499-15-20, e-mail: grudinin@influenza.spb.ru

Киселев Олег Иванович — директор Научно-исследовательского института гриппа, д.б.н., профессор, академик РАН; тел.: (812)4991500, e-mail: office@influenza.spb.ru