

## ВЗАИМОСВЯЗИ ВИРУСОЛОГИЧЕСКИХ И МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ В ФАЗАХ ИММУННОГО КОНТРОЛЯ И РЕАКТИВАЦИИ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ГЕПАТИТОМ В

И.А. Габдрахманов<sup>1</sup>, А.В. Семенов<sup>2</sup>, Ю.В. Останкова<sup>2</sup>, К.В. Козлов<sup>1</sup>, К.В. Жданов<sup>1</sup>, Д.А. Гусев<sup>1</sup>, В.С. Сукачев<sup>1</sup>, Д.М. Шахманов<sup>1</sup>, С.С. Жабров<sup>1</sup>, А.С. Перемышленко<sup>1</sup>, Ю.И. Буланьков<sup>1</sup>, А.М. Иванов<sup>1</sup>, А.А. Тотолян<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия

### Virological and morphological relationships in the phases of the immune control and reactivation in patients with chronic hepatitis B

I.A. Gabdrakhmanov<sup>1</sup>, A.V. Semenov<sup>2</sup>, Yu.V. Ostantkova<sup>2</sup>, K.V. Kozlov<sup>1</sup>, K.V. Zhdanov<sup>1</sup>, D.A. Gusev<sup>1</sup>, V.S. Sukachev<sup>1</sup>, D.M. Shakhmanov<sup>1</sup>, S.S. Zhabrov<sup>1</sup>, A.S. Peremyshlenko<sup>1</sup>, Yu.I. Bulankov<sup>1</sup>, A.M. Ivanov<sup>1</sup>, A.A. Totolian<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Military Medical Academy named after S.M. Kirov, Saint-Petersburg, Russia

<sup>2</sup> Science Research Institute of Epidemiology and Microbiology named after Pasteur, Saint-Petersburg, Russia

#### Резюме

**Цель:** оценить взаимосвязь вирусологических и морфологических показателей у больных хроническим вирусным гепатитом В в фазах иммунного контроля и реактивации.

**Материалы и методы:** обследовано 46 пациентов с хроническим вирусным гепатитом В, определялись показатели содержания поверхностного антигена и ДНК вируса гепатита В в периферической крови, уровень кольцевой ковалентно замкнутой ДНК ВГВ в ткани печени, а также стадия фиброза и индекс гистологической активности по METAVIR.

**Результаты:** в ходе исследования выявлена прямая корреляция между уровнем кольцевой ковалентно замкнутой ДНК в биоптатах печени (количество копий на клетку) и количественным содержанием HBsAg в сыворотке крови ( $r=0,51$ ,  $p=0,03$ ) у больных хроническим гепатитом В только в фазе иммунного контроля. Также в фазе иммунного контроля обнаружена прямая корреляционная взаимосвязь между ДНК вируса гепатита В и уровнем HBsAg в сыворотке крови ( $r=0,79$ ,  $p=0,0001$ ). Уровень кольцевой ковалентно замкнутой ДНК вируса гепатита В в биоптатах печени достоверно не различался у пациентов с хроническим гепатитом В в фазе иммунного контроля и в фазе реактивации ( $1,02 \pm 0,01$  копий/клетку и  $1,03 \pm 0,03$  копий/клетку,  $p=0,72$ ). Индекс гистологической активности и степень фиброза не коррелировали ни с одним изученным вирусологическим показателем.

**Заключение:** результаты проведенного исследования подчеркнули сложность и неоднозначность взаимосвязей вирусологических и морфологических показателей у больных хроническим гепатитом В, предопределили направление для дальнейшего углубленного изучения данного вопроса (в частности, оценка эпигенетической регуляции синтеза кольцевой ковалентно-замкнутой ДНК), а также создали предпосылки для совершенство-

#### Abstract

**Objective:** To evaluate relationships between virological and morphological data in patients with chronic hepatitis B in phase immune control and reactivation.

**Materials and methods:** The study involved 46 patients with chronic hepatitis B, indicators defined were content of surface antigen and hepatitis B virus DNA in the peripheral blood, the level of covalently closed circular HBV DNA in liver tissue and fibrosis stage and histological activity index (METAVIR).

**Results:** The study found a direct correlation between the level of covalently closed circular DNA in liver puncture biopsies (number of copies per cell) and quantitative content of HBsAg in serum ( $r = 0,51$ ,  $p = 0,03$ ) in patients with chronic hepatitis B in phase immune control. Also in the immune control phase a direct correlation between the HBV DNA and the level of HBsAg in serum ( $r = 0,79$ ,  $p = 0,0001$ ) is shown. The level of covalently closed circular HBV DNA in liver puncture biopsy specimens did not differ in patients with chronic hepatitis B in the phase of immune control in the phase of reactivation ( $1,02 \pm 0,01$  copies / cell and  $1,03 \pm 0,03$  copies / cell,  $p = 0,72$ ). The index of histological activity and fibrosis were not correlated with any of the investigated virological indicator.

**Conclusion:** Results of the study emphasized the complexity and ambiguity of the relationships between both virological and morphological indicators in patients with chronic hepatitis B, determined the direction for further study (in particular the assessment of the epigenetic regulation of the synthesis of circular covalently closed DNA), as well as set the stage for improving the principles of dynamic observing the patients with chronic hepatitis B in a phase of immune control.

вания принципов динамического наблюдения за естественным течением хронического гепатита В у больных в фазе иммунного контроля.

**Ключевые слова:** вирус гепатита В, хронический вирусный гепатит В, кольцевая ковалентно замкнутая ДНК вируса гепатита В, поверхностный антиген вируса гепатита В, фиброз, индекс гистологической активности.

## Введение

Хронический вирусный гепатит В (ХВГВ) остается одной из наиболее серьезных проблем мирового здравоохранения, являясь одной из основных причин цирротической трансформации печени и гепатоцеллюлярного рака. Вирус гепатита В (ВГВ) — один из наиболее распространенных вирусов, вызывающих хронические диффузные заболевания печени. Несмотря на вакцинацию, значительно снизившую инфицированность ВГВ, по оценкам ВОЗ количество инфицированных в мире составляет почти 2 млрд человек, из них более 400 млн переносят хронический гепатит [10, 12, 20, 25]. Это представляет собой глобальную медико-социальную проблему, которую осложняют высокие затраты на диагностический и лечебный процессы [16]. Вероятность хронизации и степень активности течения инфекции ВГВ зависит как от иммунного ответа организма, так и от особенностей самого вируса. При этом клинические формы заболевания имеют широкий спектр, от бессимптомных (латентных) форм до тяжелых поражений печени, таких как цирроз и гепатоцеллюлярная карцинома [5, 9, 14].

В естественном течении ХВГВ выделяют 4 фазы: иммунной толерантности, клиренса, иммунного контроля, реактивации, сопровождающиеся разнообразными колебаниями вирусологических, биохимических и морфологических показателей.

Среди больных ХВГВ в Российской Федерации абсолютное большинство составляют пациенты в фазе иммунного контроля и реактивации [1].

Несмотря на то, что вирусологическая и морфологическая характеристика данных фаз достаточно хорошо изучена, связь гистопатологических изменений, уровня ДНК ВГВ в сыворотке и маркеров репликации ВГВ более сложна, чем полагали ранее. Согласно последним литературным данным, в организме больного ХВГВ вирус может быть локализован в гепатоцитах в виде кольцевой ковалентно замкнутой ДНК (ккз ДНК), способной становиться матрицей для субгеномных и прегеномных копий РНК, которые, в свою очередь, являются матрицами для синтеза вирусного генома и вирусных белков [4, 13, 27]. При этом подавление репликации вируса не сопровождается элиминацией ккз ДНК ВГВ из гепатоцитов, что вносит существенные изменения в понимание патогенеза

**Key words:** hepatitis B, chronic viral hepatitis B, covalently closed circular DNA of hepatitis B virus, surface antigen of hepatitis B virus, fibrosis, histological activity index.

заболевания и указывает новые мишени для эффективной этиотропной терапии [13, 17, 18].

Следует отметить, что, несмотря на существенную роль ккз ДНК ВГВ в развитии хронической инфекции, исследования по этой проблеме малочисленны не только в РФ, но и во всем мире, так как имеют ряд этических и методических ограничений, таких как инвазивный характер морфологического исследования печени и отсутствие стандартизированных количественных методов для выявления ккз ДНК ВГВ в гепатобиоптатах [2, 6, 8, 15, 21].

Исходя из вышесказанного, количественная оценка содержания ккз ДНК ВГВ в пункционных биоптатах печени пациентов с ХВГВ на разных фазах естественного течения заболевания, а также корреляция с другими вирусологическими и морфологическими показателями имеет важное значение для понимания патогенеза хронической инфекции ВГВ.

**Цель исследования** — оценить взаимосвязь вирусологических и морфологических показателей у больных ХВГВ в фазах иммунного контроля и реактивации.

## Материалы и методы

Проведено обследование 46 больных ХВГВ (HBeAg «+», ДНК ВГВ «+», HBeAg «-»), находящихся в фазе иммунного контроля (n = 25) и фазе реактивации (n = 21), все мужчины в возрасте от 20 до 59 лет, в среднем  $37,5 \pm 9,5$  лет, генотип вируса -D (100%).

Критериями включения в исследование являлись показатели, условно характеризующие иммунный контроль при ХВГВ-инфекции (ДНК ВГВ <20000 МЕ/мл, F<sub>с</sub> ≤ 2 по METAVIR, нормальная активность АЛТ и АСТ), а также реактивацию инфекционного процесса (ДНК ВГВ >20000 МЕ/мл, F<sub>с</sub> ≥ 2 по METAVIR, повышенная активность АЛТ и АСТ). Критерии исключения: острый ВГВ, микст-гепатит, ВИЧ-коинфекция, аутоиммунное поражение печени, цирротическая стадия ХВГВ, наркопотребление и употребление алкоголя пациентами.

Распределение больных по стадиям и активности ВГВ-инфекции проводилось в соответствии со стандартизированной системой METAVIR и по R.G. Knodell.

В связи с небольшим количеством пациентов на стадии F0 и F3 были выделены группы, объединяющие больных на стадиях F0 и F1, а также F2 и F3. Таким образом, по стадиям ХВГВ пациенты были разделены на две группы: F0 и F1 — 16 больных (34,7%), F2 и F3 — 30 больных (65,3%).

По индексу гистологической активности больные разделялись следующим образом: с минимальной активностью (ИГА 1–3 балла) — 33 пациента (71,7%), со слабо выраженной активностью (ИГА 4–8 баллов) — 13 пациентов (28,3%).

Вирусологическое исследование крови проводили с использованием ИФА и ПЦР.

Для выявления ккз ДНК ВГВ из пункционных биоптатов печени применяли методику, приведенную в руководстве J. Sambrook et al. с некоторыми модификациями [23].

Аmplification проводили согласно методике T. Pollicino et al., с использованием TaqMan зондов для real-time ПЦР. Предварительно ДНК обрабатывали эндонуклеазой MungBean («Сибэнзим») из расчета 1 ед фермента на 1 мкг ДНК, согласно протоколу производителя, для удаления одноцепочечных ДНК и РНК и расщепления геномной ДНК ВГВ (частично-кольцевой). Использовали следующие праймеры: ВГВ fp23 5-ctgaatcctgcggacgaccc-3, ВГВ rp24 5-ccsaaggcacagcttgagg-3, ВГВ fp25b 5-gtctgtgccttctcatctgcc-3, ВГВ rp26b 5-agagatgattaggcagaggtg-3, ВГВ probeTaqMan ROX-tgtgcacttcgcttcacctctgc-BHQ2. В качестве внутреннего контроля использовали ген домашнего хозяйства GAPDH: GAPDH-fp 5-atcttcaggagtgcgagc-3, GAPDH-rp 5-gactccacgacgtactcagc-3, GAPDH-ProbeTaqMan FAM-tccaaatcaagtggggcgatg-BHQ1 [22]. Подбор условий и выполнение исследования проводили на приборе CFX96 (Bio-Rad).

С целью подтверждения наличия ВГВ использовали необработанную эндонуклеазой ДНК в качестве матрицы для ПЦР с перекрывающимися парами праймеров, совместно фланкирующих регион протяженностью 1475 пар оснований (п.о.), включающий область Pre-S1/Pre-S2/S протяженностью 1169 п.о. с 2848-3182 ... 1-835 нт., согласно представленному в международной базе данных GenBank изоляту Mart-B47 (HE974377.1) [7].

Продукты первичной амплификации и секвенирующей реакции очищали по методике, рекомендованной для Qiaquick PCR Purification kit фирмы «Qiagen» (Германия). Для анализа качества очищения осадок растворяли в 30 мкл ТЕ-буфера и визуализировали в агарозном геле. Концентрацию НК измеряли на флюориметре Qubit 2.0 по стандартной методике, рекомендованной производителем. Очищенный фрагмент с концентрацией 50–100 нг использовали для постановки секвенирующих реакций с прямого и обратного праймеров с использованием набора «GenomeLab

DTCS-Quick Start Kit» фирмы «Beckman Coulter Inc.» (США). Для анализа продукта секвенирующей реакции очищенный осадок растворяли в SLS-буфере и помещали в генетический анализатор «GenomeLab GeXP Beckman Coulter Inc» (США).

Первичный анализ полученного фрагмента проводили с помощью программы NCBI Blast в сравнении с нуклеотидными последовательностями, представленными в международной базе данных GenBank.

Для статистической обработки использовали общепринятые методы статистического анализа с применением пакета прикладных программ Statistica 8.0 для Windows [3].

### Результаты и обсуждение

При анализе содержания ккз ДНК ВГВ в ткани печени больных ХВГВ в фазах иммунного контроля и реактивации достоверных различий обнаружено не было:  $1,02 \pm 0,01$  коп./кл. и  $1,03 \pm 0,03$  коп./кл.,  $p = 0,72$  соответственно.

Выявлена прямая корреляция между уровнем ккз ДНК (количество копий на клетку) и количественным содержанием HBsAg в сыворотке крови ( $r = 0,51$ ,  $p = 0,03$ ) у больных ХВГВ только в фазе иммунного контроля. Также в фазе иммунного контроля показана прямая корреляция между репликативной активностью ДНК ВГВ и концентрацией HBsAg в сыворотке крови ( $r = 0,79$ ,  $p = 0,0001$ ). При этом у больных ХВГВ в фазе реактивации достоверных корреляций между изученными вирусологическими параметрами не выявлено (табл. 1 и 2).

При изучении анализируемых вирусологических показателей в зависимости от некротического активности в ткани печени и стадии фиброза статистически значимых различий выявлено не было (табл. 3 и 4).

Выявленная в нашей работе умеренная прямая корреляция между содержанием в ткани печени ккз ДНК ВГВ и HBsAg в сыворотке крови у больных ХВГВ в фазе иммунного контроля согласуется с исследованиями А.В. Семенова и результатами работ Alghamdi и др., которые предполагают, что уровни HBsAg, коррелируя с общим содержанием ДНК ВГВ в печени, отражают транскрипционно-активную ккз ДНК, а не её абсолютное количество, при этом HBsAg в сыворотке характеризует количество ккз ДНК только при ее большой концентрации в ткани печени [2, 4]. Следует отметить, что в упомянутых работах анализ вирусологических показателей в зависимости от фаз ХВГВ не проводился. Кроме того, взаимосвязь, выявленная между ккз ДНК и концентрацией HBsAg в крови у больных ХВГВ в фазе иммунного контроля, на наш взгляд, позволит оптимизировать алгоритмы наблюдения за данной категорией пациентов, противовирусная терапия которым не показана.

Таблица 1

## Вирусологические взаимосвязи у больных ХВГВ в фазе иммунного контроля

Вирусологические показатели	ккз ДНК, коп/кл	ДНК ВГВ, Ме/мл	log ДНК ВГВ	HBsAg, Ме/мл	log HBsAg
ккз ДНК, коп/кл	—	r=0,37 p=0,06 ДИ: 0,00-0,65	r=0,37 p=0,06	r=0,51 p=0,03	r=0,09 p=0,26
ДНК ВГВ, Ме/мл	r=0,37 p=0,06 ДИ: 0,00-0,65	—	—	r=0,79 p=0,0001	r=0,79 p=0,0001
log ДНК ВГВ	r=0,37 p=0,06	—	—	r=0,79 p=0,0001	r=0,79 p=0,0001
HBsAg, Ме/мл	r=0,51 p=0,03	r=0,79 p=0,0001	r=0,79 p=0,0001	—	—
log HBsAg	r=0,09 p=0,26	r=0,79 p=0,0001	r=0,79 p=0,0001	—	—

Таблица 2

## Вирусологические взаимосвязи у больных ХВГВ в фазе реактивации

Вирусологические показатели	ккз ДНК, коп/кл	ДНК ВГВ, Ме/мл	log ДНК ВГВ	HBsAg, Ме/мл	log HBsAg
ккз ДНК, коп/кл	—	r=-0,06 p=0,77	r=-0,06 p=0,77	r=0,22 p=0,37	r=0,22 p=0,37
ДНК ВГВ, Ме/мл	r=-0,06 p=0,77	—	—	r=0,24 p=0,32	r=0,24 p=0,32
log ДНК ВГВ	r=-0,06 p=0,77	—	—	r=0,24 p=0,32	r=0,24 p=0,32
HBsAg, Ме/мл	r=0,22 p=0,37	r=0,24 p=0,32	r=0,24 p=0,32	—	—
log HBsAg	r=0,22 p=0,37	r=0,24 p=0,32	r=0,24 p=0,32	—	—

Таблица 3

## Вирусологическая характеристика пациентов с ХВГВ (HBeAg –) в зависимости от некрвоспалительной активности в ткани печени

Фазы ХГВ	Фаза иммунного контроля		Фаза реактивации		Общая характеристика выборки	
	ИГА(0-3) n=33	ИГА(4-8) n=13	ИГА(0-3) n=33	ИГА(4-8) n=13	ИГА(0-3) n=33	ИГА(4-8) n=13
ИГА баллы						
ккз ДНК, коп/кл	1,01±0,03	1,09±0,08	0,63±0,03	1,09±0,04	1,03±0,02	1,09±0,03
ДНК ВГВ, МЕ/мл	5028±1723	2937±1621	577715±511912	1460750±1235571	223997,1±19693	974812±831022
HBsAg, МЕ/мл	11034±4968	1200±156	29129±10388	44830±14320	18406,3±5326	39375±13548

Таблица 4

## Вирусологическая характеристика пациентов с ХВГВ (HBeAg –) в зависимости от стадии фиброза

Фазы ХГВ	Фаза иммунного контроля		Фаза реактивации		Общая характеристика выборки	
	F0-F1 n=16	F2-F3 n=30	F0-F1 n=16	F2-F3 n=30	F0-F1 n=16	F2-F3 n=30
Фиброз, METAVIR						
ккз ДНК, коп/кл	0,99±0,04	1,05±0,03	1,1±0,08	1,07±0,02	1,01±0,04	1,06±0,02
ДНК ВГВ, МЕ/мл	6090±2629	3180±1107	5568166±2940424	138433±91220	1048980±728256	25381±6280
HBsAg, чМЕ/мл	11647±6308	8753±7556	45706±36834	33141±7864	19506±9607	25381±6280

Отсутствие корреляции между вирусологическими показателями у больных ХВГВ в фазе реактивации, по нашему мнению, может быть объяснено снижением иммунной резистентности и, соответственно, повышением значимости в патогенезе ХВГВ факторов регуляции транскрипции и в дальнейшем трансляции с ккз ДНК ВГВ [13].

Мы не выявили достоверной корреляции между уровнем ккз ДНК ВГВ в ткани печени и уровнем ДНК ВГВ в периферической крови, что противоречит результатам работ T. Volz et al., показавшим, что репликативная активность ВГВ коррелирует с уровнями ккз ДНК и общей ДНК в ткани печени у пациентов с ХВГВ (HBeAg –), не получавших противовирусной терапии. При этом достоверных взаимосвязей HBeAg и ккз ДНК в данном исследовании установлено не было [26]. Следует отметить, что в данном исследовании также не проводился анализ вирусологических показателей в зависимости от фаз хронической HBV-инфекции.

В то же время нами наблюдалась тенденция к появлению взаимосвязи между содержанием ккз ДНК ВГВ в ткани печени и уровнем ДНК ВГВ в сыворотке крови у больных ХВГВ в фазе иммунного контроля ( $r=0,37$ ,  $p=0,06$ ), что требует дальнейших исследований с расширенными группами пациентов. В целом, все это согласуется с мнением некоторых авторов, считающих, что ДНК ВГВ в крови коррелирует с уровнями ккз ДНК и общей ДНК в ткани печени у пациентов с ХВГВ (HBeAg –), не получавших противовирусную терапию [19, 26].

Обнаруженная нами достоверная взаимосвязь между ДНК ВГВ и HBeAg в сыворотке крови ( $r=0,79$ ,  $p=0,0001$ ) у больных ХВГВ в фазе иммунного контроля подтверждается имеющимися на сегодняшний день литературными данными [11, 19].

В настоящем исследовании не было установлено достоверной корреляции между уровнем ккз ДНК ВГВ в гепатоцитах и морфологическими характеристиками ХВГВ, что может быть связано с малым количеством обследованных больных. В то же время отсутствие таких корреляций позволяет предположить триггерную роль ВГВ в развитии воспаления и фиброза. По имеющимся литературным данным, взаимосвязь между уровнем ДНК ВГВ в сыворотке крови и морфологическими характеристиками на доцирротических стадиях ХВГВ определена не установлена, а содержание ккз ДНК ВГВ на различных стадиях заболевания и в зависимости от некровоспалительной активности и степени фиброза описывалось на небольших выборках [11, 27].

Таким образом, полученные нами результаты позволяют предположить ведущую роль механизмов иммунной защиты больного ХВГВ в течении

инфекционного процесса [13, 24]. Отсутствие статистически значимых различий между ключевыми вирусологическими параметрами в фазе реактивации, по нашему мнению, может свидетельствовать о дисбалансе факторов иммунной резистентности, позволяющих ВГВ инициировать более агрессивное, с клинической точки зрения, течение инфекционного процесса [24].

### Заключение

Результаты проведенного исследования подчеркнули сложность и неоднозначность взаимосвязей вирусологических и морфологических показателей у больных ХВГВ, предопределили направление для дальнейшего углубленного изучения данного вопроса (в частности, оценка эпигенетической регуляции синтеза ккз ДНК), а также создали предпосылки для совершенствования принципов динамического наблюдения за естественным течением хронической HBV-инфекции у так называемых «носителей» ВГВ, по сути, являющихся больными ХВГВ в фазе иммунного контроля.

### Литература

1. Жданов, К.В. Вирусные гепатиты / К.В. Жданов [и др.] – СПб.: ИКФ «Фолиант», 2011. – 26 с.
2. Семенов, А.В. Количественное определение HBeAg в сыворотке крови и кольцевой ковалентно замкнутой ДНК вируса гепатита В в ткани печени как маркеры активности хронического вирусного гепатита В / А.В. Семенов [и др.] // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии – 2014. – № 1. – С. 55–61.
3. Юнкеров В.И. Математико-статистическая обработка данных медицинских исследований / В.И. Юнкеров, С.Г. Григорьев. – 2-е изд., доп. – СПб.: ВМедА, 2005 – 292 с.
4. Alghamdi, A. Correlation between Hepatitis B surface antigen titers and HBV DNA levels / A. Alghamdi [et al.] // Saudi Journal of Gastroenterology. – 2013. – Vol. 19, № 6. – P. 252–256.
5. Beasley RP, Hwang LY. Overview on the epidemiology of hepatocellular carcinoma. In: Hollinger FB, Lemon SM, Margolis HS, eds. Viral hepatitis and liver disease. Baltimore: Williams & Wilkins, c1991; p. 532–535.
6. Branco, F. Occult hepatitis B virus infection in patients with chronic liver disease due to hepatitis C virus and hepatocellular carcinoma in Brazil / F. Branco [et al.] // Arq Gastroenterol. – 2007 – Vol.44 – №1 – P. 58–63.
7. Brichtler, S. et al. African, Amerindian and European hepatitis B virus strains circulate on the Caribbean Island of Martinique / S. Brichtler [et al.] // Journal of General Virology. – 2013. – Vol. 94. – № 10. – P. 2318–2329.
8. Cacciola, I. et al. Occult hepatitis B virus infection in patients with chronic hepatitis C liver disease / I. Cacciola [et al.] // New England Journal of Medicine. – 1999. – Vol. 341, № 1. – P. 22–26.
9. Chisari, F.V. Viruses, immunity, and cancer: lessons from hepatitis B / F.V. Chisari // The American journal of pathology. – 2000. – Vol. 156, № 4. – P. 1117–1132.
10. El-Serag, H.B. Epidemiology of viral hepatitis and hepatocellular carcinoma / H.B. El-Serag // Gastroenterology. – 2012. – Vol. 142, № 6. – P. 1264–1273.
11. Guner, R. Correlation between intrahepatic hepatitis B virus cccDNA levels and other activity markers in patients with

HBeAg-negative chronic hepatitis B infection / R. Guner [et al.] // *European journal of gastroenterology & hepatology*. — 2011. — Vol. 23, № 12. — P. 1185–1191.

12. Günther, S. Genetic variation in HBV infection: genotypes and mutants / S. Günther // *Journal of clinical virology*. — 2006. — Vol. 36. — P. S3–S11.

13. Guo J.T., Guo H. Metabolism and function of hepatitis B virus cccDNA: Implications for the development of cccDNA-targeting antiviral therapeutics / J.T. Guo [et al.] // *Antiviral research*. — 2015. — Vol. 122. — P. 91–100.

14. Hilleman, M.R. Overview of the pathogenesis, prophylaxis and therapeutics of viral hepatitis B, with focus on reduction to practical applications / M.R. Hilleman // *Vaccine*. — 2001. — Vol. 19, № 15. — P. 1837–1848.

15. Huang, X. Occult hepatitis B virus infection and hepatocellular carcinoma: a systematic review / X. Huang, F.B. Hollinger // *Journal of viral hepatitis*. — 2014. — Vol. 21, № 3. — P. 153–162.

16. Hwang, E.W., Cheung R. Global epidemiology of hepatitis B virus infection / E.W. Hwang [et al.] // *N Am J Med Sci*. — 2011. — Vol. 4, № 1. — P. 7–13.

17. Levrero, M. Control of cccDNA function in hepatitis B virus infection / M. Levrero [et al.] // *Journal of hepatology*. — 2009. — Vol. 51, № 3. — P. 581–592.

18. Locarnini, S. Molecular virology of hepatitis B virus / S. Locarnini [et al.] // *Seminars in liver disease*. — 2004. — Vol. 24. — P. 3–10.

19. Manesis, E.K. Hepatitis B surface antigen: relation to hepatitis B replication parameters in HBeAg-negative chronic hepatitis B / E.K. Manesis [et al.] // *Journal of hepatology*. — 2011. — Vol. 55. — № 1. — P. 61–68.

20. McMahon, B.J. The influence of hepatitis B virus genotype and subgenotype on the natural history of chronic hepatitis B / B.J. McMahon // *Hepatology international*. — 2009. — Vol. 3, № 2. — P. 334–342.

21. Pollicino, T., Saitta C. Occult hepatitis B virus and hepatocellular carcinoma / T. Pollicino, C. Saitta // *World journal of gastroenterology: WJG*. — 2014. — Vol. 20, № 20. — P. 5951.

22. Pollicino, T. et al. Hepatitis B virus maintains its pro-oncogenic properties in the case of occult HBV infection / T. Pollicino [et al.] // *Gastroenterology*. — 2004. — Vol. 126, № 1. — P. 102–110.

23. Sambrook J., Fritsch E.P., Maniatis T. *Molecular cloning: a Laboratory. ColdSpringHarbour Lab.* — NY: ColdSpringHarbour, 1989.

24. Seeger, C., Mason W.S. Molecular biology of hepatitis B virus infection / C. Seeger [et al.] // *Virology*. — 2015. — Vol. 479. — P. 672–686.

25. Stasi C. et al. The epidemiological changes of HCV and HBV infections in the era of new antiviral therapies and the anti-HBV vaccine / Stasi C. et al. // *Journal of infection and public health*. — 2015 Jul 4. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science>.

26. Volz, T. Impaired intrahepatic hepatitis B virus productivity contributes to low viremia in most HBeAg-negative patients / T. Volz [et al.] // *Gastroenterology*. — 2007. — Vol. 133. — № 3. — P. 843–852.

27. Zhu, C.J., Hussain M., Lok A.S.F. Quantitative serum HBV DNA levels during different stages of chronic hepatitis B infection / C.J. Zhu [et al.] // *Hepatology*. — 2002. — Vol. 36. — № 6. — P. 1408–1415.

## References

1. Zhdanov, K.V. *Virusnyie gepatityi* / K.V. Zhdanov [i dr.] — SPb.: IKF «Foliant», 2011. — 26 s.

2. Semenov, A.V. Kolichestvennoe opredelenie HBsAg v syvorotke krovi i koltsevoy kovalentno zamknutoy DNK virusa gepatita V v tkani pečeni kak markeryi aktivnosti hronicheskogo virusnogo gepatita V / A.V.Semenov, I.A.Vlasova, Yu.V. Ostankova, Areg A. Totolyan // *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii* — 2014 — №1 — S. 55–61.

3. Yunkerov V.I. Matematiko-statisticheskaya obrabotka dannyih meditsinskih issledovaniy / V.I. Yunkerov, S.G. Grigorev. — 2-e izd., dop. — SPb.: VMedA, 2005 — 292 s.

4. Alghamdi, A. Correlation between Hepatitis B surface antigen titers and HBV DNA levels / A. Alghamdi [et al.] // *Saudi Journal of Gastroenterology*. — 2013. — Vol. 19. — № 6. — P. 252–256.

5. Beasley RP, Hwang LY. Overview on the epidemiology of hepatocellular carcinoma. In: Hollinger FB, Lemon SM, Margolis HS, eds. *Viral hepatitis and liver disease*. Baltimore: Williams & Wilkins, c1991; p. 532–535.

6. Branco, F. Occult hepatitis B virus infection in patients with chronic liver disease due to hepatitis C virus and hepatocellular carcinoma in Brazil / F. Branco [et al.] // *Arq Gastroenterol*. — 2007 — Vol.44 — №1 — P. 58–63.

7. Brichtler, S. et al. African, Amerindian and European hepatitis B virus strains circulate on the Caribbean Island of Martinique / S. Brichtler. [et al.] // *Journal of General Virology*. — 2013. — Vol. 94. — № 10. — P. 2318–2329.

8. Cacciola, I. et al. Occult hepatitis B virus infection in patients with chronic hepatitis C liver disease / I. Cacciola [et al.] // *New England Journal of Medicine*. — 1999. — Vol. 341. — № 1. — P. 22–26.

9. Chisari, F.V. Viruses, immunity, and cancer: lessons from hepatitis B / F.V. Chisari // *The American journal of pathology*. — 2000. — Vol. 156. — № 4. — P. 1117–1132.

10. El-Serag, H.B. Epidemiology of viral hepatitis and hepatocellular carcinoma / H.B. El-Serag // *Gastroenterology*. — 2012. — Vol. 142. — № 6. — P. 1264–1273.

11. Guner, R. Correlation between intrahepatic hepatitis B virus cccDNA levels and other activity markers in patients with HBeAg-negative chronic hepatitis B infection / R. Guner [et al.] // *European journal of gastroenterology & hepatology*. — 2011. — Vol. 23. — № 12. — P. 1185–1191.

12. Günther, S. Genetic variation in HBV infection: genotypes and mutants / S. Günther // *Journal of clinical virology*. — 2006. — Vol. 36. — P. S3–S11.

13. Guo J.T., Guo H. Metabolism and function of hepatitis B virus cccDNA: Implications for the development of cccDNA-targeting antiviral therapeutics / J.T. Guo [et al.] // *Antiviral research*. — 2015. — Vol. 122. — P. 91–100.

14. Hilleman, M.R. Overview of the pathogenesis, prophylaxis and therapeutics of viral hepatitis B, with focus on reduction to practical applications / M.R. Hilleman // *Vaccine*. — 2001. — Vol. 19. — № 15. — P. 1837–1848.

15. Huang, X., Hollinger F.B. Occult hepatitis B virus infection and hepatocellular carcinoma: a systematic review / X. Huang, F.B. Hollinger // *Journal of viral hepatitis*. — 2014. — Vol. 21. — № 3. — P. 153–162.

16. Hwang, E.W., Cheung R. Global epidemiology of hepatitis B virus infection / E.W. Hwang [et al.] // *N Am J Med Sci*. — 2011. — Vol. 4. — № 1. — P. 7–13.

17. Levrero, M. Control of cccDNA function in hepatitis B virus infection / M. Levrero [et al.] // *Journal of hepatology*. — 2009. — Vol. 51. — № 3. — P. 581–592.

18. Locarnini, S. Molecular virology of hepatitis B virus / S. Locarnini [et al.] // *Seminars in liver disease*. — 2004. — Vol. 24. — P. 3–10.

19. Manesis, E.K. Hepatitis B surface antigen: relation to hepatitis B replication parameters in HBeAg-negative chronic hepatitis B / E. K. Manesis [et al.] // *Journal of hepatology*. — 2011. — Vol. 55. — № 1. — P. 61–68.

20. McMahon, B.J. The influence of hepatitis B virus genotype and subgenotype on the natural history of chronic hepatitis B / B.J. McMahon // *Hepatology international*. — 2009. — Vol. 3. — №. 2. — P. 334–342.

21. Pollicino, T., Saitta C. Occult hepatitis B virus and hepatocellular carcinoma / T. Pollicino, C. Saitta // *World journal of gastroenterology: WJG*. — 2014. — Vol. 20. — №. 20. — P. 5951.

22. Pollicino, T. et al. Hepatitis B virus maintains its pro-oncogenic properties in the case of occult HBV infection / T. Pollicino [et al.] // *Gastroenterology*. — 2004. — Vol. 126. — №. 1. — P. 102–110.

23. Sambrook J., Fritsch E.P., Maniatis T. *Molecular cloning: a Laboratory*. ColdSpringHarbour Lab. — NY: ColdSpringHarbour, 1989.

24. Seeger, C., Mason W.S. Molecular biology of hepatitis B virus infection / C. Seeger [et al.] // *Virology*. — 2015. — Vol. 479. — P. 672–686.

25. Stasi C. et al. The epidemiological changes of HCV and HBV infections in the era of new antiviral therapies and the anti-HBV vaccine / Stasi C. et al. // *Journal of infection and public health*. — 2015 Jul 4. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science>.

26. Volz, T. Impaired intrahepatic hepatitis B virus productivity contributes to low viremia in most HBeAg-negative patients / T. Volz [et al.] // *Gastroenterology*. — 2007. — Vol. 133. — №. 3. — P. 843–852.

27. Zhu, C.J., Hussain M., Lok A.S.F. Quantitative serum HBV DNA levels during different stages of chronic hepatitis B infection / C.J. Zhu [et al.] // *Hepatology*. — 2002. — Vol. 36. — №. 6. — P. 1408–1415.

---

*Авторский коллектив:*

*Габдрахманов Ильнур Агисович* — адъюнкт кафедры инфекционных болезней с курсом тропических заболеваний Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова; тел.: +7-921-885-37-57, e-mail: [ilnur87rahmanov@yandex.ru](mailto:ilnur87rahmanov@yandex.ru)

*Семенов Александр Владимирович* — заведующий лабораторией вирусологии и иммунологии ВИЧ-инфекции Научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, к.б.н.; тел.: 8(812)233-34-83, e-mail: [alexsemenov@yahoo.com](mailto:alexsemenov@yahoo.com)

*Останкова Юлия Владимировна* — научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии и сероэпидемиологии Научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии имени Пастера; тел.: 8(812)233-31-55, e-mail: [shenna1@yandex.ru](mailto:shenna1@yandex.ru)

*Козлов Константин Вагимович* — старший преподаватель кафедры инфекционных болезней с курсом тропических заболеваний Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова, д.м.н.; тел.: 8(812)292-33-57, e-mail: [kosttiak@mail.ru](mailto:kosttiak@mail.ru)

*Жганов Константин Валерьевич* — начальник кафедры инфекционных болезней с курсом тропических заболеваний Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова, д.м.н., профессор; тел.: 8(812)292-33-57, e-mail: [zhdanovkv@gmail.com](mailto:zhdanovkv@gmail.com)

*Гусев Денис Александрович* — профессор кафедры инфекционных болезней с курсом тропических заболеваний Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова, д.м.н.; тел.: 8(812)292-33-57, e-mail: [gusevden-70@mail.ru](mailto:gusevden-70@mail.ru)

*Сукачев Виталий Сергеевич* — преподаватель кафедры инфекционных болезней с курсом медицинской паразитологии и тропических заболеваний Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова, к.м.н.; тел.: 8(812)292-33-57, e-mail: [dr.sukachev@gmail.com](mailto:dr.sukachev@gmail.com)

*Шахманов Дмитрий Михайлович* — старший преподаватель кафедры инфекционных болезней с курсом медицинской паразитологии и тропических заболеваний Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова, к.м.н.; тел.: 8(812)292-33-57, e-mail: [Dmitry.shakhmanov@gmail.com](mailto:Dmitry.shakhmanov@gmail.com)

*Жабров Сергей Сергеевич* — старший преподаватель кафедры инфекционных болезней с курсом медицинской паразитологии и тропических заболеваний Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова, к.м.н.; тел.: 8(812)292-33-57, e-mail: [812-77@mail.ru](mailto:812-77@mail.ru)

*Перемышленко Алексей Сергеевич* — заведующий патолого-анатомическим отделением патолого-анатомической лаборатории Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова, к.м.н.; тел.: 8(812)299-33-40, e-mail: [alecseisergeevich@yandex.ru](mailto:alecseisergeevich@yandex.ru)

*Буланьков Юрий Иванович* — заведующий отделением диагностики ВИЧ-инфекции и вирусных гепатитов Центра клинической и лабораторной диагностики Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова, д.м.н.; тел.: 8(812)329-71-98, e-mail: [Dr.Bulankov@mail.ru](mailto:Dr.Bulankov@mail.ru)

*Иванов Андрей Михайлович* — заведующий кафедрой биохимии и лабораторного дела Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова, д.м.н.; тел.: 8(812)292-32-45, e-mail: [iamvma@mail.ru](mailto:iamvma@mail.ru)

*Топольян Арег Артемович* — заведующий лабораторией молекулярной иммунологии и сероэпидемиологии Научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН; тел.: 8(812)233-00-66, e-mail: [Totolian@spbbaaci.ru](mailto:Totolian@spbbaaci.ru)