

СОЦИАЛЬНО ЗНАЧИМЫЕ ИНФЕКЦИОННЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ

УДК: 616.36-002.2:578.891]-07(571.620)“2016”

СОПОСТАВЛЕНИЕ КОЛИЧЕСТВЕННОГО СОДЕРЖАНИЯ HBsAg С УРОВНЯМИ ВИРЕМИИ И АЛЬФА ФЕТОПРОТЕИНА У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМ ВИРУСНЫМ HBeAg-НЕГАТИВНЫМ ГЕПАТИТОМ В

Е.А. Базыкина, О.Е. Троценко, В.О. Котова, Л.А. Балахонцева

ФБУН «Хабаровский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» Роспотребнадзора, г. Хабаровск

Цель исследования: изучить наличие зависимости между уровнями HBsAg, ДНК вируса гепатита В, а также уровнем альфа фетопротейна у пациентов с установленным диагнозом хронического HBeAg-негативного вирусного гепатита В. Материалы и методы: в течение первого полугодия 2016 года было исследовано 89 проб пациентов с диагнозом хронического вирусного гепатита В, обследованных в ФБУН «Хабаровский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» Роспотребнадзора. Исследование полученных проб проведено на наличие ДНК вируса гепатита В, серологических маркеров данной инфекции (качественное и количественное определение HBsAg, выявление HBeAg –антител, HBeAg –Ig M, HBeAg, антител к HBeAg), антител к вирусному гепатиту D, а также определение уровня альфа фетопротейна. Результаты и обсуждение: получены неоднозначные результаты при проведении корреляционного анализа между уровнями HBsAg и ДНК вирусного гепатита В при отсутствии HBeAg в сыворотке крови. Выявлена обратная корреляционная связь между уровнями HBsAg и альфа фетопротейна. Заключение: определение количественного содержания HBsAg в сыворотке крови пациентов с диагнозом хронического вирусного гепатита В малоинформативно для оценки уровней ДНК вируса гепатита В. Необходимо дальнейшее изучение выявленной обратной зависимости между уровнями HBsAg и альфа фетопротейна для изучения влияния этих показателей друг на друга.

Ключевые слова: хронический вирусный гепатит В, количественное определение HBsAg, ДНК вируса гепатита В, альфа фетопротейн

COMPARISON OF QUANTITATIVE EVALUATION OF HBsAg WITH LEVELS OF VIREMIA AND α -FETOPROTEIN IN PATIENTS WITH CHRONIC HBeAg-NEGATIVE VIRAL HEPATITIS B

E.A. Bazykina, O.E. Trotsenko, V.O. Kotova, L.A. Balakhontseva

Federal Budget Institution of Science “Khabarovsk research institute of epidemiology and microbiology” of the Federal service for surveillance on customer rights protection and human well being (Rosпотребнадзор), Russia, Khabarovsk

Research objective: investigate correlation between the levels of HBsAg, hepatitis B virus (HBV) DNA and α -fetoprotein in patients with diagnosis of chronic HBeAg-negative viral hepatitis B. Materi-

als and methods: samples from 89 patients with diagnosis of chronic viral hepatitis B were studied during the first half of 2016. Laboratory assessment was performed in FBIS "Khabarovsk research institute of epidemiology and microbiology" of Rospotrebnadzor. The samples were diagnosed for the presence of HBV DNA, serological markers of hepatitis B (qualitative and quantitative evaluation of HBsAg, antibodies to HBcAg, Ig M antibodies to HBcAg, HBeAg and antibodies to HBeAg); antibodies to hepatitis D and quantitative evaluation of α -fetoprotein Results and discussion: after conducting correlation analysis between levels of HBsAg and HBV DNA in blood serum of patients with diagnosis of chronic HBeAg-negative viral hepatitis B were obtained mixed results. The research revealed negative correlation between HBsAg and α -fetoprotein levels. Conclusion: quantitative evaluation of HBsAg in blood serum of patients with diagnosis of chronic HBeAg-negative viral hepatitis B is not informative for estimation of level of HBV DNA. Further study is needed in order to confirm received data on negative correlation between HBsAg and α -fetoprotein levels in order to investigate their interference.

Key words: chronic viral hepatitis B, quantitative evaluation of HBsAg, hepatitis B DNA, alfa fetoprotein.

В связи с тем, что вирусный гепатит В (ВГВ) остается одной из приоритетных проблем здравоохранения как на территории Российской Федерации, так и в мире, происходит постоянный поиск новых методов лабораторной диагностики этой инфекции, а также проводятся исследования неизученного потенциала существующих методик. К числу последних из них относится количественное определение HBsAg [4,6,9].

HBsAg или поверхностный антиген входит в состав оболочки вируса гепатита В и способствует проникновению генома в клетку-хозяина, тем самым иницируя инфекционный процесс. Значимость определения HBsAg заключается в том, что он является самым ранним маркером, который появляется после инфицирования вирусом гепатита В, в связи с чем его используют в качестве скрининга населения для диагностики ВГВ [2,3]. Наряду с качественным определением HBsAg появилась методика его количественной детекции. Первоначально количественное определение HBsAg рассматривалось в качестве альтернативы выявлению ДНК ВГВ для проведения мониторинга вирусной нагрузки [2,9], наличие которой в биологическом материале указывает на репликацию ВГВ [2,3]. Однако среди ученых так и не сложилось однозначного мнения о практическом применении данной методики. По данным одних авторов, у пациентов с хроническим гепатитом В количественное содержание HBsAg и вирусная ДНК в сыворотке крови позитивно коррелировали между собой [2,7,9]. В других исследованиях, между уровнем вiremии и содержанием HBsAg в сыворотке крови пациентов зависимости выявлено не было [2,9,14].

В последнее время в целях мониторинга эффективности проводимого лечения используется совместное определение уровней вирусной нагрузки и HBsAg [1,2,6,9,11,13]. Существуют данные об эффективном прогнозировании HBsAg-сероконверсии [2, 12,13], наряду с определением уровня альфа фетопротейна (альфа-ФП), который является ранним маркером гепатоцеллюлярной карциномы [5,8,10,12,15]. Известно, что у пациентов с вирусным гепатитом В уровень альфа-ФП умеренно повышен [5,8,10,15]. При этом учеными из Японии была установлена обратная связь между концентрацией HBsAg и уровнем альфа-ФП у пациентов с отсутствием рака печени и тяжелого течения гепатита [5]. Также существуют данные, свидетельствующие о том, что при определении концентрации альфа-ФП у HBsAg-положительных пациентов с ВГВ происходит снижение специфичности и чувствительности определения уровня альфа-ФП, что может исказить результаты исследования при постановке диагноза гепатоцеллюлярной карциномы. [10].

Цель исследования: изучение зависимости концентрации HBsAg от уровней вiremии и альфа фетопротейна в крови у пациентов с HBeAg-негативным хроническим ВГВ.

Материалы и методы

Исследовано 89 проб пациентов, проживающих на территории г. Хабаровска (41 человек) и п. Троицкое Нанайского района Хабаровского края (48 человек), с диагнозом хронического ВГВ, в возрасте от 26 до 76 лет (средний возраст составил $43,6 \pm 12,9$ лет), среди которых количество женщин и мужчин было примерно одинаковым ($48,3 \pm 5,3\%$ и $51,7 \pm 5,3\%$ соответственно). Сбор материалов для проведения исследования проводился в первом полугодии 2016 г.

Серологический скрининг на наличие маркеров вирусного гепатита В (ВГВ) осуществлялся с помощью коммерческих тест-систем для иммуноферментного анализа производства Вектор-Бест - HBsAg, HBsAg-количественный, HBeAg, HbeAg-антитела, HBcAg-антитела, HBcAg-IgM, определение антител к вирусному гепатиту D, уровня альфа-ФП. Выявление ДНК ВГВ выполнялось посредством методики real - time ПЦР качественным и количественным методами с использованием наборов АмплиСенс®.

Статистический анализ осуществлялся при помощи программ Excel 2013 и Statistica 6. Рассчитывались средние показатели (M), ошибка средней (m), коэффициент достоверности (p). Для определения зависимости между полученными параметрами использовался коэффициент корреля-

ции по Пирсону (r). Степень тесноты связи между признаками оценивалась по коэффициенту корреляции в соответствии со шкалой Чеддока:

- слабая -0.1 - 0.3,
- умеренная - 0.3 - 0.5,
- заметная - 0.5 - 0.7,
- высокая - 0.7 - 0.9,
- весьма высокая - 0.9 – 1.

Результаты и обсуждение

Из 89 проб было изъято 9 (10,1%±3,2%) сывороток для исключения влияния дополнительных факторов на результаты исследования. Так, в 5 пробах (5,5±2,4%) были обнаружены антитела к вирусному гепатиту D, в 2 пробах (2,2±1,6%) был выявлен HBeAg, в 2 пробах (2,2±1,6%) были найдены HBcAg-IgM. Таким образом, сформировалась HBeAg-негативная группа из 80 пациентов с хроническим ВГВ, взятая в дальнейшем за 100% и подвергшаяся статистической обработке.

Корреляционным анализом охвачены средние показатели (с ошибкой средней) уровней HBsAg и ДНК ВГВ для общей группы пациентов ($n=80$, 100%), и отдельно для женщин ($n=36$, 45±5,6%) и мужчин ($n=46$, 57,5±5,5%), а также для возрастных групп пациентов: 20-39 лет ($n=38$, 47,5±5,6%), 40-59 лет ($n=28$, 35±5,3%), старше 60 лет ($n=14$, 17,5±4,2%). В результате анализа установлено, что между уровнем HBsAg и вирусной нагрузкой для объединенной группы пациентов имеется слабая степень тесноты связи ($r=0,28$, $p<0,05$), (рис. 1).

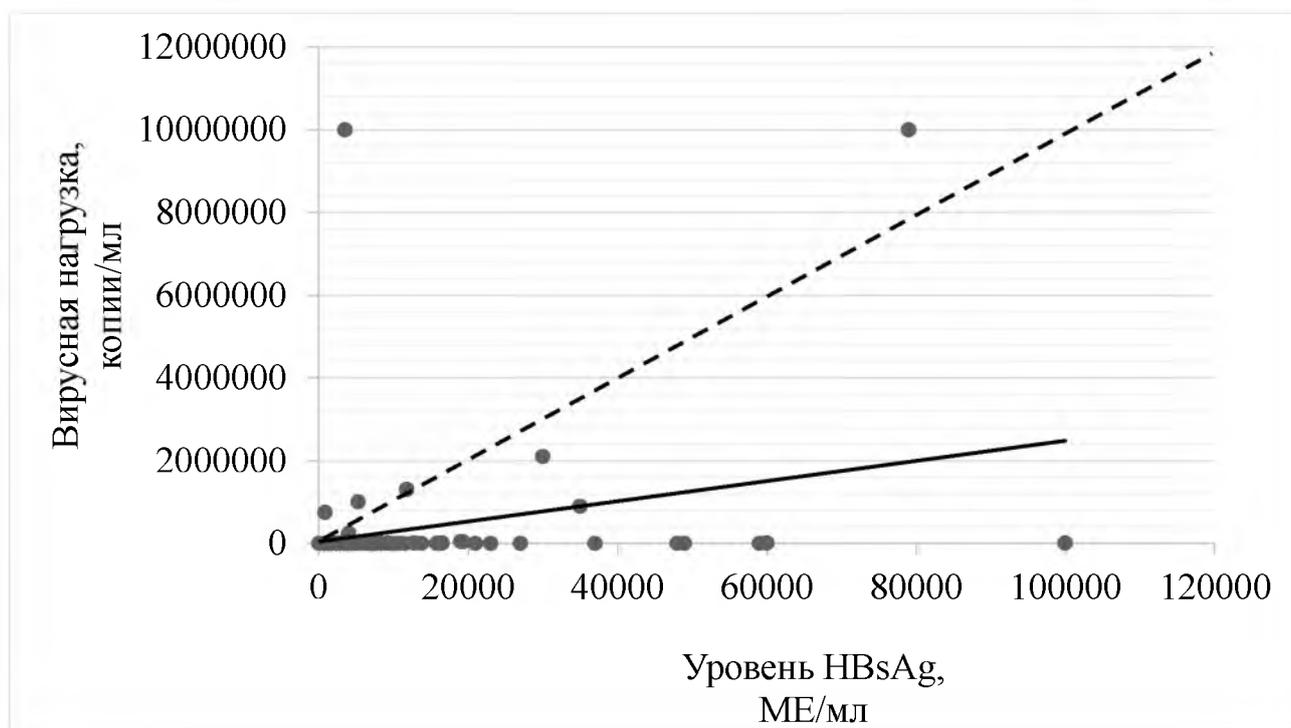


Рис. 1. Степень тесноты связи между уровнями HBsAg и ДНК вируса гепатита В у пациентов с хроническим вирусным гепатитом В

Примечание: для сравнения в качестве примера приведена высокая степень тесноты связи, отмеченная пунктирной линией. Сплошным контуром отмечена линия тренда

Так, коэффициент корреляции между уровнями HBsAg и ДНК ВГВ среди женщин составил 0,29, $p>0,05$, соответственно мужчин - 0,25, $p>0,05$. В возрастной подгруппе от 20 до 39 лет этот показатель был равен 0,28, $p>0,05$, от 40-59 соответственно – 0,3, $p>0,05$, для лиц старше 60 лет - (-0,04), $p>0,05$. Отмечено также отсутствие четкой взаимосвязи концентрации HBsAg и числа копий ДНК в материале от больных возрастных групп, а также от пациентов разного пола. Результаты приведены в табл.1.

Таблица 1

Корреляционная зависимость между средними показателями ($M \pm m$) уровней HBsAg и ДНК вируса гепатита В, у пациентов с HBeAg-негативным хроническим вирусным гепатитом В

	Число проб (n)	Средний уровень HBsAg, МЕ/мл	РП* HBsAg, min/max МЕ/мл	Средний уровень ДНК вируса гепатита В (ВГВ), копии/мл	РП ДНК ВГВ, min/max копии/мл	Показатель корреляционной связи (r) между уровнями HBsAg и ДНК ВГВ,
Общая группа	80	$1,2 \times 10^4 \pm 1,8 \times 10^4$	0,05- 10^5	$3,3 \times 10^5 \pm 1,6 \times 10^6$	0- 10^7	0,28**
Женщины	34	$1,4 \times 10^4 \pm 2,4 \times 10^4$	0,1- 10^5	$6,29 \times 10^5 \pm 2,4 \times 10^6$	0- 10^7	0,29***
Мужчины	46	$1,1 \times 10^4 \pm 1,3 \times 10^4$	0,05- $4,9 \times 10^4$	$1,3 \times 10^4 \pm 4,1 \times 10^5$	0- $2,1 \times 10^6$	0,25***
Группа 20-39 лет	38	$1,5 \times 10^4 \pm 2,3 \times 10^4$	8,2- 10^5	$5,8 \times 10^5 \pm 2,3 \times 10^6$	0- 10^7	0,28***
Группа 40-59 лет	28	$9,3 \times 10^3 \pm 1,4 \times 10^4$	0,1- 6×10^4	$8,8 \times 10^4 \pm 4 \times 10^5$	0- $2,1 \times 10^6$	0,3***
Группа старше 60 лет	14	$8,8 \times 10^3 \pm 9 \times 10^3$	0,05- $2,7 \times 10^4$	$1,7 \times 10^5 \pm 4 \times 10^5$	0- $1,3 \times 10^6$	-0,04***

Примечание: *РП - разброс показателей; ** - $p < 0,05$; *** - $p > 0,05$

Для дальнейшей статистической обработки полученных данных опытная группа (n=80, 100%) была разделена в зависимости от уровня HBsAg на три части: первая подгруппа - HBsAg ≤ 500 МЕ/мл (n=8, $10 \pm 3,35\%$), вторая подгруппа - HBsAg 500- 10^4 МЕ/мл (n=46, $57,5 \pm 5,5\%$) и третья подгруппа HBsAg $\geq 10^4$ (n=26, $32,5 \pm 5,23\%$), результаты тесноты связи показателей приведены в табл. 2.

Таблица 2

Корреляционная зависимость между средними показателями ($M \pm m$) уровней HBsAg и ДНК вируса гепатита В, у пациентов HBeAg-негативным хроническим вирусным гепатитом В в трех подгруппах с разной концентрацией HBsAg

	Теснота связи (r), Вирусная нагрузка	Среднее ($M \pm m$), Вирусная нагрузка, копии/мл	РП*, Вирусная нагрузка, копии/мл	Среднее ($M \pm m$), HBsAg, МЕ/мл	РП*, HBsAg, МЕ/мл
HBsAg ≤ 500 МЕ/мл (n=8)	-0,29***	112,9 \pm 125,1	0-340	3,44 \pm 4	0,05-10
HBsAg 500- 10^4 МЕ/мл (n=46)	-0,06***	$4,6 \times 10^4 \pm 1,9 \times 10^5$	0- 10^6	$4,3 \times 10^3 \pm 2,6 \times 10^3$	650- $9,7 \times 10^3$
HBsAg $\geq 10^4$ (n=26)	0,41**	$5,5 \times 10^5 \pm 1,9 \times 10^6$	0- 10^7	$3 \times 10^4 \pm 2,3 \times 10^4$	10^4 - 10^5

Примечание: РП* - разброс показателей; ** - $p < 0,05$; *** - $p > 0,05$

При этом, во второй подгруппе выявлена умеренная положительная степень тесноты связи ($r=0,41$, $p < 0,05$), что прослеживается и на диаграмме рассеяния (рис.2).

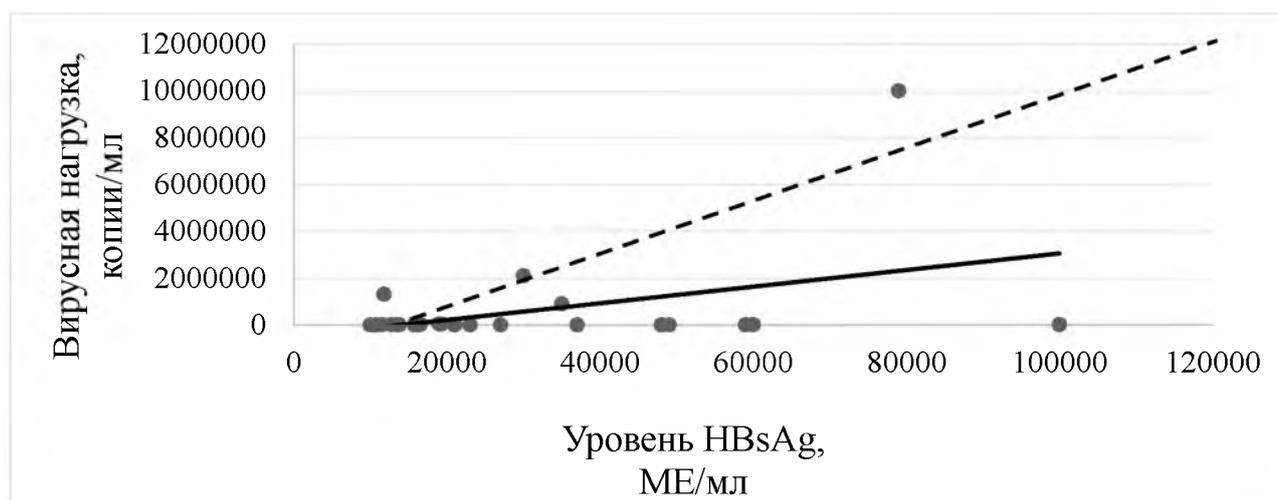


Рис. 2. Степень тесноты связи между уровнями HBsAg и ДНК вируса гепатита В у пациентов с хроническим вирусным гепатитом В в подгруппе с HBsAg 500-10⁴ МЕ/мл

Примечание: для сравнения в качестве примера приведена высокая степень тесноты связи, отмеченная пунктирной линией. Сплошным контуром отмечена линия тренда

Анализ наличия зависимости между уровнями альфа ФП и HBsAg представлен в табл. 3.

Таблица 3

Корреляционная зависимость между уровнями HBsAg и альфа фетопротейна, у пациентов HBeAg негативным хроническим вирусным гепатитом В

	Теснота связи (r), альфа фетопротейн	Среднее (M±m), альфа фетопротейн, МЕ/мл	Разброс показателей, альфа фетопротейн, МЕ/мл
HBsAg ≤500 МЕ/мл (n=8)	- 0,42*	2±1,5	1-5
HBsAg 500-10 ⁴ МЕ/мл (n=46)	-0,11*	12,7±51	0-346
HBsAg > 10 ⁴ (n=26)	-0,23*	4,6±5	0-19

Примечание: *- p>0,05

Статистический анализ, проведенный в разных подгруппах наблюдения, выявил наличие в них отрицательной корреляционной связи (от слабой до умеренной степени тесноты) между концентрациями HBsAg и альфа ФП, что согласуется с данными японских ученых [4]. Полученные результаты, возможно, связаны со снижением чувствительности определения уровня альфа ФП при наличии HBsAg в сыворотке крови, на что указывают данные литературы [9]. Необходимо проведение дальнейших исследований для подтверждения данной гипотезы или выявления другой причины этого явления с тем, чтобы для исключить ошибки при определении уровня альфа-ФП.

Выводы

Полученные результаты исследования не выявили четкой взаимосвязи между уровнями HBsAg, ДНК ВГВ в общей группе пациентов, и отдельно у мужчин и женщин, а также в различных возрастных группах больных хроническим HBeAg-негативным вирусным гепатитом В, что согласуется с последними данными литературы. Наличие умеренной положительной степени тесноты связи (r=0,41, p<0,05) было отмечено лишь для пациентов с концентрацией HBsAg от 500 до 10⁴ МЕ/мл, в связи с чем экстраполировать данный вывод на всю опытную группу не представляется возможным. Для подтверждения наличия корреляционной зависимости между уровнями HBsAg и альфа фетопротейна необходимо проведение дальнейших исследований с расширением выборочной совокупности, которые позволят подтвердить либо опровергнуть полученные данные.

Литература

1. Дудина К.Р., Знойко О.О., Шутько С.А. и др. Динамическое определение количественного содержания HBsAg в крови в сопоставлении с уровнем вирусной нагрузки у пациентов с хронической HBV-моноинфекцией // Гепатология. - 2011. - № 4. - С. 37-42.

2. Зайцев И.А. Использование количественного определения HBsAg для мониторинга естественного течения хронической HBV-инфекции // Гастроэнтерология. – 2015. - № 3 (57).- С.107-115.
3. Майер К.-П. Гепатит и последствия гепатита: Практич. рук.: Пер. с нем. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: ГЕОТАР-МЕД, 2004. – 720с.
4. Эпидемиологический надзор за гепатитом В: Методические указания. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2011. - 47 с.
5. Akuta N, Suzuki F, Kobayashi M et al. Correlation between hepatitis B virus surface antigen level and alpha-fetoprotein in patients free of hepatocellular carcinoma or severe hepatitis // J Med Virol. 2014 Jan. - Vol.86(1) – P.131-8. doi: 10.1002/jmv.23790. Epub 2013 Oct 12.
6. Ben Slama N, Ahmed SN, Zoulim F. HBsAg quantification: virological significance // Gastroenterol Clin Biol. - 2010 Sep. - Vol.34, Suppl 2-S112-8. doi: 10.1016/S0399-8320(10)70030-0.
7. Fujiko M, Chalid MT, Turyadi et al. Chronic hepatitis B in pregnant women: is hepatitis B surface antigen quantification useful for viral load prediction? // Int J Infect Dis. - 2015 Dec. Vol.41/ - P. 83-9. doi: 10.1016/j.ijid.2015.11.002. Epub 2015 Nov 10.
8. Gervain J. Symptoms of hepatocellular carcinoma. Laboratory tests used for its diagnosis and screening // Orv Hetil. - 2010 Aug 29. Vol.151(35). – P.1415-7. doi: 10.1556/OH.2010.28945.
9. Jung Min Lee and Sang Hoon Ahn. Quantification of HBsAg: Basic virology for clinical practice // [World J Gastroenterol.](#) - 2011 Jan 21- Vol. 17(3).- P.283–289.
10. Kreczko S, Lipska AWysocka J. Alpha-fetoprotein: diagnostic value in hepatic disorders // Pol Merkur Lekarski. - 2000 Jun. – Vol.8(48). –P.420-3.
11. Martinot-Peignoux M, Asselah T, Marcellin P. HBsAg quantification to optimize treatment monitoring in chronic hepatitis B patients // Liver Int. - 2015 Jan. – Vol.35, Suppl 1. – P.82-90. doi: 10.1111/liv.12735.
12. Rodríguez M, González-Diéguez ML. Quantification of the hepatitis B surface antigen in the characterization and follow-up // [Gastroenterol Hepatol.](#) - 2014 Jul. – P.37 Suppl 2:8-14. doi: 10.1016/S0210-5705(14)70063-9.
13. Viganò M, Lampertico P. Clinical implications of HBsAg quantification in patients with chronic hepatitis B // Saudi J Gastroenterol. - 2012 Mar-Apr. – Vol.18(2). – P.81-6. doi: 10.4103/1319-3767.93805.
14. Wiegand J., Wedemeyer H., Finger A. et al. A decline in hepatitis B virus surface antigen (HBsAg) predicts clearance, but does not correlate with quantitative HBeAg or HBV DNA levels // Antivir. Ther. - 2008. – Vol.13. – P. 547-554.
15. Yang Y, Gao J, Li HL et al. Dose-response association between hepatitis B surface antigen levels and liver cancer risk in Chinese men and women // Int J Cancer.- 2016 Jul 15. – Vol.139(2). – P. 355-62. doi: 10.1002/ijc.30086. Epub 2016 Mar 30.

Сведения об авторах

Базыкина Елена Анатольевна - Федеральное бюджетное учреждение науки «Хабаровский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» Роспотребнадзора, г. Хабаровск, врач лабораторной диагностики, 680000 г. Хабаровск, ул. Шевченко, д. 2, 8 (4212) 46-18-54 E-mail: aids_dv27@mail.ru