

ШИБАЕВА

Елена Олеговна

КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА

HBsAg-НЕГАТИВНОГО ГЕПАТИТА В

14.01.09 – инфекционные болезни

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Санкт-Петербург

2019

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

**Научный руководитель:**

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

**Официальные оппоненты:**

**Архипов Георгий Сергеевич** – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой микробиологии, иммунологии и инфекционных болезней Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Новгородский государственный университет имени Ярослава Мудрого».

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

**Ведущая организация** – Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет».

Защита диссертации состоится «17» сентября 2019 г. в 13 часов 15 минут на заседании диссертационного Совета Д.208.090.02 при Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (197022, Санкт-Петербург, ул. Рентгена 12, корп. 44, зал заседаний Ученого Совета, ауд.12, 6 этаж).

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

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

Ученый секретарь

диссертационного совета Д.208.090.02

доктор медицинских наук, профессор

**Александров Альберт Леонидович**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность темы исследования

Хронический вирусный гепатит В (ХВГВ) разнообразен в клинических проявлениях, вариантах течения и исходах заболевания, вплоть до цирроза печени и гепатоцеллюлярной карциномы (ГЦК) (Слепцова С. С. и др., 2012; Рахманова А. Г. и др., 2015; Domingo E. et al., 2012; Esposito A. et al., 2017). Согласно, оценочным данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), в мире ежегодно умирает около 686 000 больных ХВГВ (WHO: Global health days, 2017).

Высокая распространенность вируса гепатита В (ВГВ) в глобальном масштабе и на отдельных территориях, увеличение числа пациентов с хроническими, прогрессирующими формами заболевания, возможность развития тяжелых осложнений и исходов, приводящих к потере трудоспособности и увеличению частоты летальных случаев, позволяют рассматривать ХВГВ как медико-социальную и социально-значимую проблему здравоохранения (Эсауленко Е.В. и др., 2012; Яковлев А. А. и др., 2015; Михайлов М. И. и др., 2018).

Современная лабораторная диагностика ХВГВ основана на выявлении сывороточных маркеров ВГВ и их сочетаний, к которым относят антигены и антитела к ним. В настоящее время именно поверхностный антиген (HBsAg) является ключевым скрининговым и диагностическим маркером инфицирования ВГВ и наличия заболевания (WHO, 2015; Семенов А. В., 2010; Urbani S. et al., 2010). Однако в последнее десятилетие получены новые данные, указывающие на наличие в плазме крови и/или гепатоцитах ДНК ВГВ после элиминации/сероконверсии HBsAg. В данном случае единственным серологическим маркером ВГВ являются изолированные сывороточные антитела к сердцевинному белку вируса (HBcAb). Вследствие чего экспертами Европейской ассоциации по изучению болезней печени (EASL) было принято решение о признании данной формы ВГВ-инфекции как варианта ХВГВ, получившего название оккультного (скрытого) (Raimondo G. et al., 2008; EASL. Clinical practice guidelines: management of chronic hepatitis B virus infection, 2009, 2017).

Частота встречаемости HBsAg-негативного гепатита В (HBsAg(-)ГВ) зависит от выбранной исследователями группы пациентов, поэтому данный вопрос остается в настоящее время окончательно не решенным (Морозов, И. А. и др., 2012; Esposito A. et al., 2017).

Клиническая значимость HBsAg(-)ГВ определена частично, заключаясь в возможной реактивации инфекции на фоне иммуносупрессии (Kim Y.J. et al., 2010; Hsu C. et al., 2014; Lee J. et al., 2017). Доказана вероятность прогрессирования патологического процесса в печени

пациентов HBsAg(-)ГВ до цирроза и ГЦК (Карев В. Е. и др., 2015; Ikeda K. et al., 2009; Yu S. J., Kim Y. J., 2014; Pollicino T. et al., 2014).

Результаты, полученные в ходе проведения эпидемиологических исследований, доказывают возможность передачи ВГВ от HBsAg-негативных/HBcorAb-позитивных доноров реципиентам крови и тканей (Улюкин М. И. др., 2015; Satake M. Et al., 2007; Allain J. et al., 2013; Chamorro C., Aparicio M., 2012; Juhl D. et al., 2016).

### **Степень разработанности темы исследования**

В современной литературе достаточно полно освещены вопросы этиологии, патогенеза и терапии ХВГВ, однако данных о диагностических аспектах, распространенности и клинико-морфологических особенностях HBsAg(-)ГВ недостаточно.

Согласно принятым в Российской Федерации (РФ) критериям диагностики считается, что наличие в крови HBsAb более 10 МЕ/л в сочетании с HBcorAb в отсутствии HBsAg свидетельствует о завершившейся инфекции. В соответствии с рекомендациями EASL 2009 года, наличие HBcorAb при положительных / отрицательных HBsAb в отсутствии HBsAg, позволяет диагностировать ХВГВ. Отсутствие ДНК ВГВ в плазме крови не исключает ее наличия в печени. Исследования в данном направлении малочисленны, так как в настоящее время биопсия печени для выявления ДНК ВГВ применяется редко в связи с инвазивностью процедуры, а тесты для её детекции в гепатобиоптатах не стандартизированы.

Несмотря на большое кумулятивное число пациентов с HBsAg(-)ГВ в РФ и мире, окончательно не разработана тактика их ведения в амбулаторных условиях и при госпитализации, что определило актуальность проблемы и позволило сформулировать цель и задачи данного исследования.

### **Цель исследования**

Обосновать необходимость оптимизации диагностики и тактики ведения пациентов с HBsAg(-)ГВ, на основании анализа результатов комплексного клинико-лабораторного, инструментального и морфологического исследования.

### **Задачи исследования**

1. Изучить этиологическую структуру хронических вирусных гепатитов на различных этапах оказания специализированной медицинской помощи с определением частоты встречаемости HBsAg(-)ГВ у пациентов с ХВГВ.
2. На основании анализа клинико-лабораторных и инструментальных характеристик пациентов, оценить спектр и выраженность клинических проявлений HBsAg(-)ГВ с определением стадии заболевания.

3. Оценить степень тяжести цирротической стадии HBsAg(-)ГВ и дополнить параметры, определяющие степень компенсации и декомпенсации заболевания.
4. Изучить диагностическую информативность постмортального исследования ткани печени умерших больных HBsAg(-)ГВ для подтверждения этиологической принадлежности заболевания и клинического диагноза.
5. Оптимизировать алгоритм диагностики и тактики ведения пациентов с HBsAg(-)ГВ.

### **Научная новизна**

Впервые установлена частота встречаемости HBsAg(-)ГВ у пациентов с ХВГВ, находившихся на амбулаторном и стационарном этапах оказания специализированной медицинской помощи, а также с летальными исходами.

Получены дополнительные данные о диагностической значимости HBcorAb и HBsAb в качестве маркеров ХВГВ.

Впервые получены данные о клиническом течении HBsAg(-)ГВ и исходах заболевания на основании анализа результатов клинико-лабораторных, серологических и морфологических методов исследования.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Результаты проведенного исследования указывают на высокую распространенность HBsAg(-)ГВ в популяции пациентов с ХВГВ, в связи с чем целесообразно расширение «панели» скрининговых маркеров ВГВ с включением HBcorAb.

Комплексный подход с применением клинических, лабораторных, инструментальных методов обследования пациентов и морфологических методов, с использованием иммуногистохимического исследования печени, научно обоснован и эффективен для постановки диагноза HBsAg(-)ГВ, его подтверждения и определения дальнейшей тактики ведения пациентов.

Определены особенности клинического течения HBsAg(-)ГВ.

Оптимизирован алгоритм диагностики и тактики ведения пациентов.

### **Методология и методы исследования**

В диссертационной работе применена общенаучная методология с использованием системного подхода, основанного на методах доказательной медицины. Для решения поставленных целей и задач применены адекватные клинические, лабораторные, инструментальные и морфологические методы. В работе применялись методы ретроспективного и проспективного анализа.

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

1. В этиологической структуре хронических вирусных гепатитов (ХВГ) доля ХВГВ, среди госпитализированных больных, составила 33,9%, а наблюдавшихся амбулаторно – 36,9%. Частота встречаемости HBsAg(-)ГВ у пациентов с ХВГВ зависит от этапа оказания специализированной медицинской помощи.
2. Анализ результатов клинико-лабораторного обследования в общей когорте пациентов с HBsAg(-)ГВ выявил вариабельность клинического течения и стадий заболевания, вплоть до цирротической (52,1%).
3. Стадии выраженного фиброза (F3 – F4) HBsAg(-)ГВ подтверждены инструментальными методами в 55,4% случаев. Выявленными факторами тяжести цирроза в исходе HBsAg(-)ГВ являются: уровни титров HBsAb, альбумина, протромбинового индекса (ПТИ), тромбоцитов и гамма-глобулинов.
4. Постмортальное морфологическое исследование ткани печени пациентов с циррозом с прижизненно отрицательным HBsAg и положительными HBcorAb в сыворотке крови подтвердило клинический диагноз ХВГВ.

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

Степень достоверности результатов проведенного исследования определяется достаточным числом наблюдений с использованием современных методов исследования и методов обработки данных с применением статистического анализа.

Результаты диссертации доложены на XI международном симпозиуме «Актуальные вопросы гепатологии» (Гродно, Беларусь, 2015г.); IV Конгрессе Евро-Азиатского общества по инфекционным болезням (Санкт-Петербург, 2016г.); IX Пленуме Национального общества патологоанатомов (Архангельск, 2016г.); XV Российско-итальянской конференции «Актуальные вопросы социально-значимых инфекционных и паразитарных заболеваний» (Калининград, 2016г.); VII Всероссийской научно-практической конференции «Инфекционные болезни как проблема – вчера, сегодня, завтра» (Великий Новгород, 2016г.); XIV Научно-практической конференции «Инфекционные болезни и антимикробные средства» (Москва, 2016г.); XVI Всероссийском научном форуме с международным участием имени академика В.И. Иоффе «Дни иммунологии в Санкт-Петербурге» (Санкт-Петербург, 2017г.); V Всероссийской междисциплинарной научно-практической конференции с международным участием «Социально-значимые и особо-опасные инфекционные заболевания» (Сочи, 2018г.); Заседание проблемной комиссии «Вирусные гепатиты» Ученого совета Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Москва, 2018г.).

Основные положения и результаты исследования используются в практической работе СПб ГБУЗ «Городская поликлиника 107», СПб ГБУЗ «Клиническая инфекционная больница имени С. П. Боткина», в педагогическом процессе кафедры инфекционных болезней взрослых и эпидемиологии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России.

По теме диссертации опубликовано 16 научных работ, из них 4 – в журналах, рекомендованных Высшей Аттестационной Комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации.

### **Личное участие автора в получении результатов, изложенных в диссертации**

Автор совместно с научным руководителем провела определение темы исследования, целей и задач. Самостоятельно выполнила подбор и анализ отечественных и зарубежных литературных источников по изучаемой проблеме, самостоятельно осуществляла клиническое обследование и наблюдение пациентов, ретроспективный анализ медицинской документации. Автор полностью сформировала базу данных, выполнила статистическую и графическую обработку материала, обобщила полученные результаты.

### **Объем и структура диссертации**

Диссертация изложена на 124 страницах компьютерного набора и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, трёх глав результатов собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы. Работа иллюстрирована 19 таблицами и 16 рисунками. Список литературы включает 183 источника, из которых 33 отечественных и 150 зарубежных авторов.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **Материалы и методы исследования**

Работа выполнена в период 2012 – 2017гг. на кафедре инфекционных болезней взрослых и эпидемиологии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России, клинических базах кафедры: СПб ГБУЗ «Клиническая инфекционная больница им. С.П. Боткина» и СПб ГБУЗ «Городская поликлиника 107».

Исследование включало ретроспективный анализ данных журналов учёта инфекционных заболеваний поликлиники (n=3767) и данных годовых отчетов инфекционного стационара (n=2488). Для определения частоты встречаемости HBsAg(-)ГВ

проанализированы 268 медицинских карт амбулаторных и 844 медицинских карт стационарных пациентов, а также 455 протоколов вскрытий умерших с ХВГ.

Обследовано 211 пациентов (174 женщины и 37 мужчин) с HBsAg(-)ГВ в возрасте от 22 до 82 лет (средний возраст  $55,8 \pm 12,5$  лет).

Всем пациентам с HBsAg(-)ГВ для исключения вирусных гепатитов другой этиологии проведен скрининг на наличие в сыворотке крови серологических маркеров вирусов гепатитов А (HAVAbIgM), С (HCVAb), Д (HDVAb). Результаты тестирования ВИЧ-инфекции и сифилиса были отрицательными во всех случаях.

Диагноз ХВГВ подтвержден обнаружением специфических маркеров ВГВ методом иммуноферментного анализа (ИФА): HBsAg, HBsAb, HbcorAb, HBeAg, HBeAb (тест-системы производства ЗАО «Вектор-Бест», Россия). Чувствительность тест системы для выявления HBsAg – 0,01 МЕ/мл. Полуколичественное определение титров HBsAb проведено с оценкой результатов: HBsAb < 10 МЕ/л – отрицательный, а HBsAb > 10 МЕ/л – положительный. При положительных титрах HBsAb выполнено количественное определение.

Критериями принадлежности заболевания к HBsAg(-)ГВ являлись наличие клинических синдромов хронического гепатита и HbcorAb + HBsAb(+/-) при отсутствии HBsAg в сыворотке крови.

Комплексное клиничко-лабораторное обследование пациентов включало сбор жалоб и данных анамнеза, клинический осмотр по органам и системам, выполнение клинического и биохимического анализа крови. Степень нарушения функций печени у пациентов с циррозом определяли с использованием классификации Child – Turcotte – Pugh.

По показаниям пациентам выполнено инструментальное обследование: ультразвуковое исследование органов брюшной полости (УЗИ ОБП), фиброгастродуоденоскопия (ФГДС). Степень выраженности фиброза печени определяли методом транзитной ультразвуковой эластометрии.

Определение ДНК ВГВ в плазме крови (n=139) (тест-системы фирмы ООО «Интерлабсервис» и «Рибо-сорб», Россия) проведено методом полимеразно-цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени с чувствительностью качественной реакции 100 МЕ/мл. Пациентам (n=9) с отрицательным результатом, ДНК ВГВ в плазме крови выявляли на основе двухэтапной ПЦР методом «гнездой» ПЦР с использованием высокочувствительной (менее 10 МЕ/л) тест-системы, разработанной в ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера (Останкова Ю.В., Семенов А.В., Тотолян А.А., 2017).

Постмортальное морфологическое исследование ткани печени (n=28) выполнено с использованием стандартного гистологического метода с окрашиванием срезов гематоксилином и эозином. Для иммуногистохимического (ИГХ) выявления HBsAg и

HBsAg использовали моноклональные антитела («Thermo», США) и системы визуализации на парафиновых срезах. Продукт реакции антиген-антитело маркировался диаминобензидином. Экспрессия изучаемых антигенов в ткани печени носила характер отчетливого коричневого окрашивания цитоплазмы гепатоцитов (HBsAg), ядер и/или цитоплазмы гепатоцитов (HBsAg) при изучении в проходящем свете.

Статистическая обработка полученных результатов проведена с использованием программного пакета Statistica for Windows, версия 10,0 с последующим анализом, включающим параметрические и непараметрические методы. Достоверными приняты различия с уровнем значимости  $p < 0,05$ . Анализ различий между исследуемыми группами пациентов проводили с использованием критерия  $\chi^2$  Пирсона или точного критерия Фишера. Для оценки связей признаков применялся корреляционный метод ( $r$ ). Сила корреляционной связи сильная:  $\pm 0,7$  до  $\pm 1$ , средняя:  $\pm 0,3$  до  $\pm 0,699$ , слабая: 0 до  $\pm 0,299$ .

Протокол исследования и форма информированного согласия были рассмотрены и одобрены Этическим Комитетом при ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России.

## РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

В ходе исследования установлено, что в общей структуре ХВГ амбулаторных пациентов доля ХВГВ составила 36,9%, ХВГС – 49,9%. Доля пациентов с ХВГ смешанной этиологии была равна 6,6%: в 5,9% случаев выявлены маркеры ВГВ в сочетании с ВГС, в 0,7% – ВГВ и ВГД. Частота встречаемости неverified вирусного гепатита (НВГ) – 6,6%. У госпитализированных пациентов доли ХВГС и ХВГВ были практически равными – 30,4% и 33,9%, соответственно. Частота встречаемости НВГ составила 13,9%, а микст-гепатитов – 21,8%. Выявлено, что у пациентов стационарного звена с диагнозом ХВГВ, преобладал HBsAg(-)ГВ (67,2%), амбулаторного HBsAg(+)ГВ – 72,9%.

При анализе возрастной структуры пациентов с HBsAg(-)ГВ, наблюдавшихся как амбулаторно, так и госпитализированных, выявлено преобладание лиц среднего (42,7% и 48,1% соответственно,  $p > 0,05$ ) и пожилого возраста (30,2% и 35,5%,  $p > 0,05$ ).

Анализ этиологической структуры ХВГ у пациентов инфекционного стационара, госпитализация которых закончилась летальным исходом, показал, что доля ХВГВ составила 23,7%, ХВГС – 35,2%, микст ХВГВ+С – 33,8%. В 1,1% случаев были выявлены сложные миксты, в 6,1% случаев этиологическая принадлежность заболевания осталась неустановленной. У пациентов, умерших в исходе ХВГВ, в 28,7% случаев этиологический диагноз был установлен на основании прижизненно выявленного HBsAg в сыворотке крови, в 71,3% случаев – HBsAg при отсутствии HBsAg.

Из 75 умерших пациентов с циррозом печени и ГЦК в исходе ХВГ около половины (46,7%) были инфицированы ВГВ. ХВГВ диагностирован на основании HBsAg, из них в 20,0% случаев выявлен HBsAg(-)ГВ, в 23,1% – сочетание HBsAg(-)ГВ и ХВГС.

Анализ результатов комплексного клинико-лабораторного и инструментального обследований пациентов с HBsAg(-)ГВ (n=211) показал, что практически все пациенты предъявляли жалобы, которые в 45,0% были характерны для отечно-асцитического и 43,0% – геморрагического синдромов. Снижение массы тела отмечено у 27,4% пациентов, кожный зуд – у 24,1%, снижение памяти и внимания – у 43,6% и артралгии – у 34,5%.

В ходе объективного обследования установлено, что наиболее часто определялись гепатомегалия (83,4%), пальмарная эритема (67,3%) и телеангиоэктазии (48,8%). Синдром портальной гипертензии характеризовался спленомегалией (53,6%), асцитом (46,9%), расширением и деформацией подкожных вен передней брюшной стенки (18,0%).

Объективные проявления геморрагического синдрома отмечены в 71,5% случаев. У 50,2% пациентов обнаружены признаки отёчного синдрома в виде развития периферических отёков, у 49,3% выявлены симптомы печеночной энцефалопатии (ПЭП).

Таким образом, уже на этапе клинического обследования удалось предположить, что пациенты имеют хроническое поражение печени и заболевание находится на разных стадиях. Цирротическая стадия клинически диагностирована в 50,2% случаев. В ходе проведенного анализа результатов лабораторного исследования данные предположения были подтверждены.

При прогрессировании ХВГ описаны изменения в показателях анализов крови. В гемограмме пациентов с HBsAg(-)ГВ отмечались лейкопения, нейтрофилез и ускорение СОЭ. Тромбоцитопения диагностирована у 50,7%. Анемия, с уровнем гемоглобина ниже 100 г/л, выявлена у 22,3% пациентов, лейкопения – у 12,3%. У 29,4% пациентов наблюдался сдвиг лейкоцитарной формулы с превышением относительного количества палочкоядерных нейтрофилов. Моноцитоз более 10% наблюдался в 27,5% случаев. Данные изменения гемограммы соответствовали ХВГ с выраженным фиброзом в ткани печени (F3 – F4), а не начальным (F1 – F2).

Активность биохимических маркеров цитолитического синдрома превышала референсные значения у большинства пациентов: АЛТ – у 78,2% и АСТ – у 61,7%. Активность ферментов свыше 5N встречалась редко: АЛТ - 9,5% случаев, АСТ – 10,4%. Частота умеренного повышения активности ферментов (2 – 5N) была сопоставима: АЛТ 27,4%, АСТ – 28,0%. Незначительное повышение активности АЛТ в пределах 1 – 2N встречалось в 41,7%, в два раза чаще, чем АСТ – 22,7%. Активность АЛТ в пределах референсных значений отмечена в 21,8% случаев, а АСТ – в 38,3%.

Уровень общего билирубина превышал референсные значения у 61,6% пациентов. Увеличение активности щелочной фосфатазы (ЩФ) отмечено в 36,0% случаев: от 1 до 2 N – у 25,1% и 2 – 4N у 10,9% пациентов. Повышение активности ГГТП у подавляющего большинства пациентов носило умеренный характер – 1 – 2N у 43,1%, 2 – 3N – 19,4%, 3 – 4N – 8,5%, выше 4N – 14,7%.

Результаты лабораторного исследования подтвердили наличие синдрома печеночно-клеточной недостаточности, который был выявлен у ряда пациентов еще на клиническом этапе обследования. Снижение уровня общего белка отмечено у 9,0% пациентов, а содержания альбумина – у 62,6%. Показатель ПТИ в диапазоне 50,0 – 76,6% был зарегистрирован у 46,9% пациентов. Значительное снижение ПТИ (менее 50,0%) выявлено у 9,0% пациентов при минимальном значении показателя 37,0%. Проявления иммуновоспалительного синдрома в виде повышения концентрации гамма-глобулинов выявлены в 68,7% случаев.

Комплексная оценка результатов клинико-лабораторного обследования позволила диагностировать цирротическую стадию заболевания в 52,1% случаев. Частота цирроза печени среди амбулаторных пациентов составила 10,2%, а среди госпитализированных – 68,4% ( $p < 0,001$ ).

Инструментальное обследование пациентов ( $n=110$ ) выявило в 55,4% случаев выраженный фиброз ткани печени (F3 – F4 по METAVIR): F3 – 3,6% ( $n=4$ ) и F4 – 51,8% ( $n=57$ ). Умеренные признаки фиброза печени (F1 – F2 по METAVIR) установлены в 44,6% случаев: F1 – 15,5% ( $n=17$ ) и F2 – 29,1% ( $n=32$ ).

Достоверных различий в титрах HBsAb у пациентов с HBsAg(-)ГВ с начальными и выраженными признаками фиброза не выявлено ( $p=0,279$ ). Среди пациентов как с F1 – F2, так и с F3 – F4 преобладали пациенты с HBsAb менее 10 МЕ/л – 61,2% и 72,1% ( $p > 0,05$ ) соответственно.

Среди обследованных пациентов с HBsAg(-)ГВ ( $n=211$ ) преобладали HBsAb(-) пациенты (68,7%,  $p=0,027$ ). У HBsAb(+) пациентов ( $n=66$ ) проведено количественное определение титров HBsAb ( $n=59$ ). Выявлено, что их значения варьировали от 12 до 385 МЕ/л. Уровень титров HBsAb 10 – 100 МЕ/л зафиксирован в 2,5 раза чаще (71,2%), чем уровень более 100 МЕ/л (28,8%;  $p=0,037$ ). У пациентов с циррозом печени частота встречаемости титра антител более 100 МЕ/л составила 31,9%, а показатель в диапазоне 10 – 100 МЕ/л – 68,1% ( $p < 0,01$ ).

При обследовании HBsAb(-) ( $n=97$ ) и HBsAb(+) ( $n=42$ ) пациентов HBsAg(-)ГВ на наличие ДНК ВГВ в плазме крови, с чувствительностью тест-системы 100 МЕ/л, положительные результаты выявлены в 5,2% ( $n=5$ ) и 7,1% ( $n=3$ ) случаев соответственно,  $p > 0,05$ . Пациенты с отрицательным результатом ПЦР ДНК ВГВ с чувствительностью тест-

системы 100 МЕ/л, были обследованы (n=9) на ДНК ВГВ в плазме крови высокочувствительной (10 МЕ/л и менее) тест-системой. У всех получено подтверждение виремии.

При изучении HBsAg(-)ГВ с исходом в цирроз печени определено, что у подавляющего большинства пациентов (78,2%) диагностирована декомпенсированная стадия цирроза печени – класс С ( $p < 0,001$ ), субкомпенсированная (класс В) – 15,5%, компенсированная (класс А) – крайне редко (6,3%).

Для установления лабораторных показателей, определяющих тяжесть заболевания, проведен корреляционный анализ. Корреляционный анализ выявил средней силы отрицательные взаимосвязи у пациентов с HBsAg(-)ГВ в цирротической стадии (декомпенсация) с уровнем ПТИ ( $r = - 0,545$ ,  $p < 0,001$ ), количеством тромбоцитов ( $r = - 0,457$ ,  $p < 0,05$ ) и положительные – с уровнем гамма-глобулинов ( $r = 0,484$ ,  $p < 0,05$ ). Наиболее значимыми были отрицательные связи декомпенсации цирроза печени и титрами HBsAb ( $r = - 0,622$ ,  $p < 0,001$ ), и уровнем альбуминов ( $r = - 0,681$ ,  $p < 0,001$ ).

За период наблюдения умерло 28 пациентов с циррозом печени. Установлено, что летальность в общей группе пациентов с HBsAg(-)ГВ составила 13,2%, а у пациентов с циррозом печени – 25,5%.

Пациенты с цирротической стадией заболевания классов В и С были разделены на 2 группы: группа 1 – пациенты со стабилизацией заболевания, выписанные из стационара с улучшением – 72,8% и группа 2 – пациенты с прогрессированием заболевания, закончившегося летальным исходом – 27,2%.

У пациентов группы 1 в 20,0% случаев диагностирован субкомпенсированный цирроз (класс В) и в 80,0% – декомпенсированный (класс С). В группе 2 при обследовании у большинства пациентов диагностирован декомпенсированный цирроз печени (класса С), составивший 92,8% и только в 7,1% – класс В.

По характеру жалоб и клинической симптоматики у пациентов групп 1 и 2 достоверных различий не зарегистрировано. По результатам лабораторного исследования группы достоверно различались: снижение количества тромбоцитов среди пациентов группы 2 наблюдалось в 89,3% случаев, а у пациентов группы 1 – в 66,7% случаев ( $p < 0,05$ ). В группе 2 снижение тромбоцитов менее  $30 \times 10^9/\text{л}$  наблюдалось в 8 раз чаще (10,7%), чем в группе 1 (1,3%) ( $p < 0,05$ ). Максимальный уровень лейкоцитов в группе 2 достигал  $32 \times 10^9/\text{л}$ , а в группе 1 не превышал  $21 \times 10^9/\text{л}$ . Лейкоцитоз в 5 раз чаще отмечался в группе 2 – у 67,8%, чем в группе 1 – у 13,4%, ( $p < 0,05$ ), эритроцитопения у 67,9% и 49,3% ( $p < 0,05$ ), соответственно. У пациентов группы 2 уровень ПТИ ниже 50,0% встречался почти в 3 раза чаще, чем пациентов группы 1 (42,8% и 16,0%, соответственно,  $p < 0,01$ ). При этом уровень ПТИ более 80,0% наблюдался в группе 2 более чем в 5 раз реже, чем в группе 1 (3,5 и 16,0%

соответственно,  $p < 0,01$ ). Низкий уровень альбуминов в сыворотке крови в 2,5 раза чаще отмечен в группе 2 чем в группе 1 (53,5% и 24,0%,  $p < 0,01$ ). В группе 2 гамма - глобулинемия с уровнем показателя выше 2N встречалась значительно чаще (82,1%), чем в группе 1 (61,3%) ( $p < 0,05$ ). У всех пациентов активность АСТ была выше, чем АЛТ при сохранении значений в пределах нормы – АСТ у 42,8% в группе 2 и у 38,6 % в группе 1 ( $p > 0,05$ ) и АЛТ – у 53,6% и 80,0%, соответственно,  $p > 0,05$ .

По данным УЗИ ОБП у всех пациентов отмечалась перестройка структуры печени по типу цирротической. Число пациентов с асцитическим синдромом, подтвержденным данными УЗИ ОБП, в группе 2 было больше, чем в группе 1 в два раза – 85,1% и 42,6%,  $p < 0,05$ . Диаметр воротной вены у пациентов исследуемых групп практически был одинаков ( $13,6 \pm 2,2$  мм и  $14,3 \pm 3,2$  мм, соответственно,  $p > 0,05$ ).

Проведен корреляционный анализ результатов гематологических, биохимических и инструментальных исследований в группе 1 и 2. Выявлена умеренная положительная корреляционная зависимость между летальным исходом и уровнем лейкоцитов и эритроцитов. Получены слабые позитивные корреляционные связи между неблагоприятным исходом и диаметром портальной вены и наличием асцита.

Анализ причин смерти, проведенный по результатам постмортальной диагностики, показал, что основной являлось кровотечение из желудочно-кишечного тракта (42,9%), а также нарастающая интоксикация (25,0%), развившаяся на фоне гнойно-бактериальных процессов, острые сердечнососудистые расстройства при прогрессирующей печеночной недостаточности (17,8%) и полиорганная недостаточность на фоне ХВГВ (14,3%).

У 7,1% пациентов с HBsAg(-)ГВ с циррозом печени прижизненно выявлена ГЦК, подтвержденная посмертно.

В ходе постмортальной диагностики проведено исследование образцов ткани печени умерших в исходе HBsAg(-)ГВ с использованием гистологического и ИГХ методов. При проведении гистологического исследования умерших во всех наблюдениях выявлены характерные для ХВГ изменения: цирротическая перестройка печени с моноклеарной перипортальной инфильтрацией. В 100,0% случаев наблюдались косвенные признаки вирусного поражения печени, в большей степени характерные именно для ХВГВ. У всех отмечался полиморфизм ядер гепатоцитов. В 78,6% ( $n=22$ ) образцов наблюдались внутриядерные включения «песочные ядра», которые ассоциируют с наличием HBcAg. В 85,7% ( $n=24$ ) образцов отмечены «матово-стекловидные» крупные клетки, наличие которых связывают с присутствием в них HBsAg.

Положительная ИГХ реакция на экспрессию антигенов ВГВ выявлена в 60,7% образцах печени, из них интенсивная «+++» – 35,7%, и слабовыраженная «±» – в 25,0%. Интенсивное окрашивание визуализировано как в образцах, полученных от умерших с

прижизненно определенными HBsAb в сыворотке крови (25,0%), так и с их отсутствием (10,7%).

ИГХ методом визуализирован HBcorAg «++» в 7,2% образцов печени умерших, с прижизненно определенными HBsAb. Положительная реакция одновременно на два антигена в одном образце (HBsAg и HBcorAg) выявлена в 17,9%: в 7,2% образцов полученных от умерших с прижизненно выявленными HBsAb в сыворотке крови и 10,7% – с их отсутствием. Интенсивное окрашивание «+++» большинства гепатоцитов при определении HBsAg выявлено только в образцах умерших с прижизненно определенными HBsAb в сыворотке крови в 10,7% ( $p>0,05$ ).

Интенсивной визуализации изолированно на HBcorAg и изолированно на HBsAg в образцах умерших с прижизненным отсутствием HbsAb не наблюдалось.

Слабовыраженные результаты «±» ИГХ исследования получены у четверти (25,0%) пациентов – у 14,3% с наличием HbsAb и у 10,7% с их отсутствием. Достоверных различий в частоте встречаемости положительных ИГХ-реакций на антигены ВГВ в группах серопозитивных и серонегативных по HbsAb пациентов не выявлено (28,6% и 32,1%, соответственно,  $p>0,05$ ). У пациентов с наличием HBsAb чаще выявлялась экспрессия HBsAg в ткани печени ( $p>0,05$ ).

## ВЫВОДЫ

1. HBsAg(-)ГВ является часто встречающейся формой заболевания и составляет среди пациентов с ХВГВ на разных этапах оказания специализированной медицинской помощи от 27,1% (амбулаторный этап) до 67,2% (стационарный этап).
2. В этиологической структуре летальных исходов среди госпитализированных больных умерших от ХВГ в период 2014– 2016 гг. доля ХВГВ составила 23,7%, из них HBsAg(-) ГВ – 71,2%.
3. По данным клинико-лабораторного и инструментального обследований доля пациентов с умеренным фиброзом печени (F1 – F2) составила 44,6%, с выраженным фиброзом печени (F3 – F4) – 55,4%. В 52,1% случаев зарегистрирована стадия цирроза печени в общей когорте обследованных пациентов с HBsAg(-)ГВ.
4. Распределение больных циррозом печени среди HBsAg(-)ГВ в соответствии со степенью тяжести было следующим: класс А – 6,3%, класс В – 15,5%, класс С – 78,2%. По мере прогрессирования цирроза печени отмечено статистически значимое снижение титров HBsAb, количества тромбоцитов, уровня ПТИ, содержания альбуминов и увеличение гамма - глобулинов. Данные параметры коррелировали со

стадией цирроза печени и степенью компенсации/декомпенсации заболевания с высокой вероятности ( $r = \geq -0,5$ ,  $p \leq 0,005$ ).

5. В ходе посмертной диагностики клинический и патологоанатомический диагнозы совпали во всех наблюдениях, а этиология процесса верифицирована в 60,7% случаев с использованием иммуногистохимического метода исследования ткани.
6. Для совершенствования оказания специализированной медицинской помощи пациентам с HBsAg(-)ГВ оптимизирован алгоритм диагностики и тактики их ведения в условиях амбулаторного наблюдения и стационара.

## **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

Для постановки диагноза HBsAg(-)ГВ рационален комплексный подход с применением всех возможных методов диагностики.

Необходимо внедрение линейки скрининговых маркеров ВГВ с обязательным включением исследования анализа крови на HBcorAb и количественное определение титра HBsAb, высокочувствительных молекулярно-генетических методов.

Необходима настороженность в отношении возможности прогрессирования HBsAg(-)ГВ до цирроза печени и ГЦК.

У пациентов с серологическим профилем изолированных HBcorAb или HBcorAb с наличием HBsAb рекомендовано проведение морфологического исследования ткани печени с применением гистологических и ИГХ методик подтверждения наличия белков ВГВ.

В результате проведенного исследования оптимизирован алгоритм тактики ведения пациентов с HBsAg(-)ГВ (Рисунок 1).

## **ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ**

Дальнейшая разработка темы может быть связана с исследованиями, посвященными выработке чётких критериев диагностики HBsAg(-)ГВ, уточнения клинических вариантов его течения, накопления опыта по морфологическому подтверждению наличия ВГВ в ткани печени, а возможно и в других органах резервуарах. Рационально изучать клинико-морфологические и эпидемиологические особенности HBsAg(-)ГВ в различных популяциях пациентов и среди условно здоровых групп населения при диспансеризации.

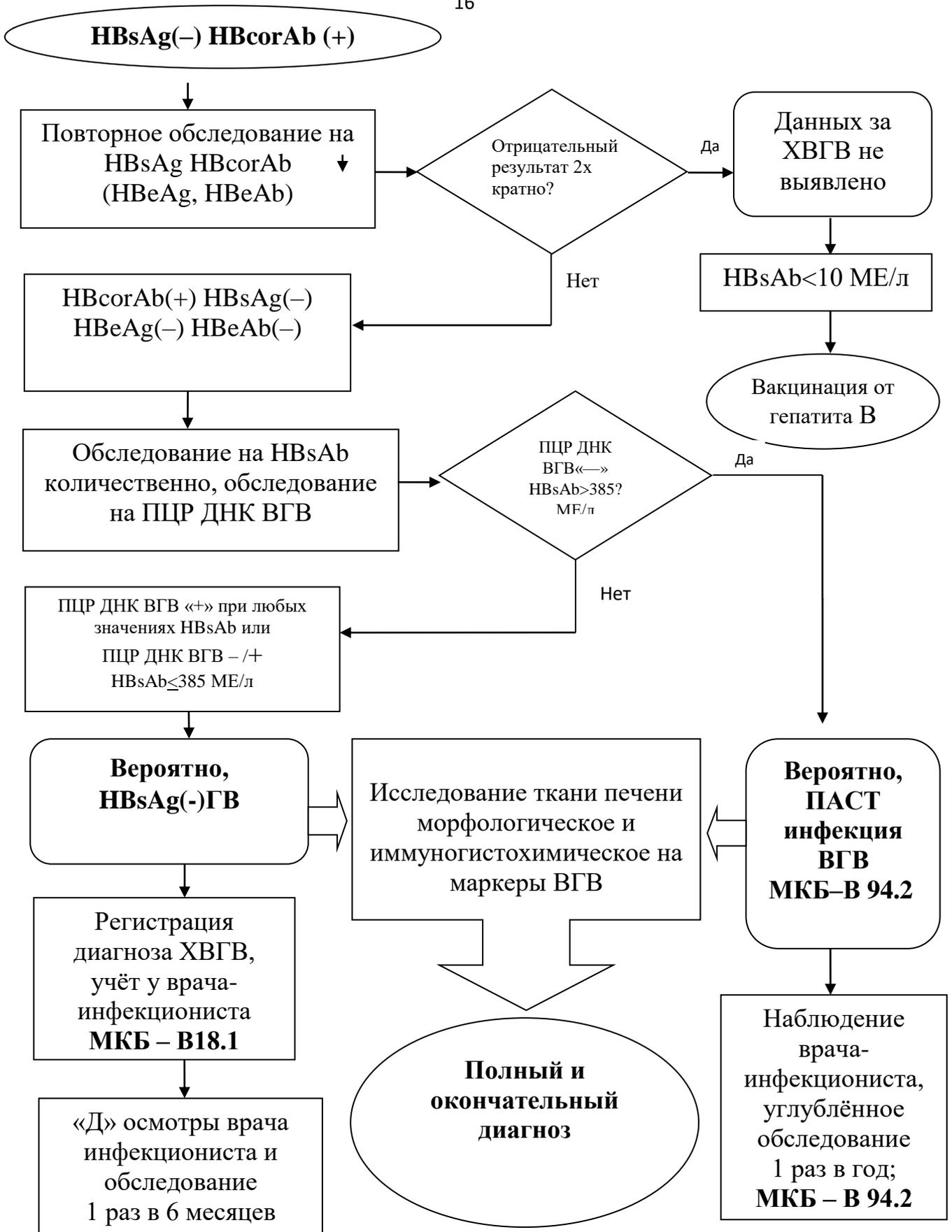


Рисунок 1 – Алгоритм диагностики и наблюдения пациентов с HBsAg (-) HBcorAb (+) в анализах крови

**СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. Шibaева, Е. О. Клинико-лабораторная характеристика HBsAg–негативного хронического гепатита В / Е. О. Шibaева и др. // Материалы международной конференции «Молекулярная эпидемиология актуальных инфекций»: к 90-летию Санкт-Петербургского Института имени Пастера. – Санкт-Петербург. – Инфекции и иммунитет. – 2013. – Т. 3, № 2. – С.187 – 188.
2. Шibaева, Е. О. Частота встречаемости и клиническая характеристика HBsAg-отрицательного хронического гепатита В у пациенток инфекционного стационара / Е. О. Шibaева, М. В. Понятишина, О. Н. Мазур // Материалы «14-го Съезда Научного общества гастроэнтерологов России». – 2014, Санкт-Петербург. – Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – Т. 5, № 102. – С. 66 – 67.
3. Шibaева, Е. О. HBsAg-негативная фаза хронического гепатита В у пациенток инфекционного стационара / Е. О. Шibaева, М. В. Понятишина // Материалы Международного форума «Санкт-Петербург Гастро-2014». – Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2014. – Т. 5, № 105. – С. 88 – 89.
4. **Шibaева, Е. О. Клинико-лабораторная характеристика HBsAg-негативного хронического гепатита В у пациентов стационарного звена / Е. О. Шibaева и др. // Журнал инфектологии. – 2014. – Т. 6, № 2. – С. 55 – 58.**
5. Шibaева, Е. О. Естественное течение HBsAg-негативного хронического гепатита В // Материалы научно-практической конференции «Актуальные вопросы современной инфектологии». – 2014, Великий Новгород. – С. 218 – 222.
6. Эсауленко, Е. В. Хронический гепатит В или острый в анамнезе? / Е. В. Эсауленко, Е. О. Шibaева, М. В. Понятишина // Материалы VII ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням с международным участием. – 2015, Москва. – С. 390 – 391.
7. Шibaева, Е. О. Клинико-лабораторная характеристика пациентов с серологическим профилем «паст - инфекции» гепатита В. / Е. О. Шibaева, М. В. Понятишина // Материалы Всероссийской научно - практической конференции с международным участием «Природно-очаговые и другие актуальные инфекции Сибири и Дальнего Востока». – Иркутск, 2015. – Журнал инфектологии. – 2015. – Т. 7, № 3. – С. 96 – 97.
8. Понятишина, М. В. Пастинфекция или хронический гепатит В? / М. В. Понятишина, Е. О. Шibaева // Материалы XI международного симпозиума гепатологов «Актуальные вопросы гепатологии». – 2015. – Гродно, Гр ГМУ. – С. 117 – 119.
9. Эсауленко, Е. В. Цирроз печени в исходе хронического гепатита В: новый взгляд на старую проблему / Е. В. Эсауленко, М. В. Понятишина, Е. О. Шibaева // Материалы IV

Конгресс Евро-Азиатского общества по инфекционным болезням (Санкт-Петербург, 2016) // Журнал инфектологии. – 2016. – Т. 8, № 2. – С.103 – 104.

10. Шibaева, Е. О. Клинико-морфологические параллели при оккультном гепатите В / Е. О. Шibaева, В. А. Цинзерлинг, Е. В. Эсауленко // Материалы межрегионального форума специалистов с заседанием профильной комиссии по специальности «Инфекционные болезни» Министерства Здравоохранения РФ «Актуальные вопросы инфекционной патологии юга России». – 2016, Краснодар. – С. 212 – 214.

11. Эсауленко, Е. В. Клинико-лабораторная характеристика оккультного гепатита В / Е. В. Эсауленко, А. А. Сухорук, М. В. Понятишина, Е. О. Шibaева // Журнал инфектологии. – 2016. – Т. 8, № 1. – С. 66 – 72.

12. Шibaева, Е. О. Распространённость и клиническая картина оккультного гепатита В у пациентов амбулаторного звена // Материалы XIV Научно-практической конференции «Инфекционные болезни и антимикробные средства». – 2016, Москва. – С. 51 – 52.

13. Шibaева, Е. О. Особенности HBsAg-негативного хронического гепатита В в зависимости от уровня анти-HBs / Е. О. Шibaева, М. В. Понятишина // Материалы юбилейной научно-практической конференции, посвященной 100-летию профессора А. Е. Резника «Актуальные проблемы инфекционных болезней (вопросы эпидемиологии, клиники, диагностики, лечения и профилактики). – Казань, Издательский дом Меддок. – 2016. – С. 59 – 60.

14. Эсауленко, Е. В. Оккультный хронический гепатит В: клинико-морфологические сопоставления /Е.В. Эсауленко, В.А. Цинзерлинг, В.Е. Карев, Е.О. Шibaева // Вестник Новгородского государственного университета. – 2016. – №6 (97). – С. 80-84.

15. Цинзерлинг, В. А. Клинико-морфологические сопоставления при оккультном гепатите В /В. А. Цинзерлинг, Е. В. Эсауленко, В. Е. Карев, А. Б. Бубочкин, А. А. Сухорук, Е. О. Шibaева, М. В. Понятишина // Архив патологии. – 2017. – Т. 79, № 6. – С. 8– 13.

16. Шibaева, Е. О. Особенности течения цирроза печени и частота морфологического подтверждения при HBsAg-негативном хроническом гепатите В // Материалы XI Научно-практической конференции, посвященной 115летию ГБУЗ «Специализированной клинической инфекционной больницы» Министерства Здравоохранения Краснодарского края. – Краснодар, «Новация». – 2018. – С.196-198.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

АЛТ	Аланинаминотрансфераза
АСТ	Аспартатаминотрансфераза
ВИЧ	Вирус иммунодефицита человека
ВОЗ	Всемирная организация здравоохранения
ВРВП	Варикозное расширение вен пищевода
ВГВ	Вирус гепатита В
ВГС	Вирус гепатита С
ВГД	Вирус гепатита Д
ГГТП	Гаммаглутамилтранспептидаза
ГЦК	Гепатоцеллюлярная карцинома
ДНК	Дезоксирибонуклеиновая кислота
ИГА	Индекс гистологической активности
ИГХ	Иммуногистохимическое исследование
НВГ	Неверифицированный вирусный гепатит
ПЦР	Полимеразная цепная реакция
ПЭП	Печеночная энцефалопатия
РФ	Российская Федерация
ЦП	Цирроз печени
ЩФ	Щелочная фосфатаза
ХВГВ	Хронический вирусный гепатит В
HBcorAb	Антитела к сердцевинному антигену вируса гепатита В
HBsAb	Антитела к поверхностному антигену вируса гепатита В
HBcorAg	Сердцевинный антиген вируса гепатита В
HBеAg	Пред сердцевинный антиген вируса гепатита В
HBsAg	Поверхностный антиген вируса гепатита В
HBsAg(-)ГВ	HBsAg-негативный гепатит В