

DOI: 10.25205/978-5-4437-1843-9-201

АНАЛИЗ КЛИНИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫХ МУТАЦИЙ СРЕДИ ИЗОЛЯТОВ ВИРУСА ГЕПАТИТА В, ЦИРКУЛИРУЮЩИХ НА ТЕРРИТОРИИ ГВИНЕЙСКОЙ РЕСПУБЛИКИ***ANALYSIS OF CLINICAL SIGNIFICANT MUTATIONS AMONG ISOLATES OF HEPATITIS B VIRUS CIRCULATING IN THE REPUBLIC OF GUINEA**

А. С. Железнова, К. А. Свирин, М. Ю. Карташов

Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, р. п. Кольцово

A. S. Zheleznova, K. A. Svirin, M. Yu. Kartashov

State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector", Koltsovo

✉ zheleznova_as@vector.nsc.ru

Аннотация

Было получено 75 полногеномных последовательностей ВГВ, которые были генотипированы и проанализированы на предмет наличия клинически значимых мутаций. Все выявленные изоляты ВГВ относятся к генотипу Е. В 16 % выявленных изолятов ВГВ обнаружены escape-мутации, в 100 % — мутации, связанные с прогрессированием заболевания. Мутации лекарственной устойчивости и мутации областей PreS1/PreS2 не обнаружены среди выявленных изолятов ВГВ.

Abstract

75 full-genome HBV sequences were obtained, which were genotyped and analyzed for the presence of clinically significant mutations. All identified HBV isolates belong to genotype E. Escape mutations were found in 16 % of the identified HBV isolates, and mutations associated with disease progression were found in 100 % of the identified HBV isolates. Mutations of drug resistance and mutations of preS1/preS2 regions were not found among the identified HBV isolates.

Введение

За последние десятилетия достигнуты значительные успехи в изучении вируса гепатита В (ВГВ) и разработке мер по контролю ВГВ-инфекции (разработка рекомбинантной вакцины против ВГВ и ее применение в массовой вакцинации, производство противовирусных препаратов, усовершенствование лабораторной диагностики ВГВ). Однако проблема ВГВ-инфекции все еще остается одной из самых важных проблем здравоохранения как в мире, так отдельно для региона Западной Африки, являющегося высокоэндемичным для этой инфекции.

Геном ВГВ состоит из частично двухцепочечной кольцевой ДНК протяженностью приблизительно 3200 нуклеотидов и представлен генами S, P, C (Core) и X, кодирующими за счет перекрывающихся открытых рамок считывания 7 белков. В последнее время уделяется много внимания генетической вариативности ВГВ: различные генотипы ВГВ влияют на течение и исход заболевания, а также проблему усугубляет высокая мутационная изменчивость ВГВ. Известные клинически значимые мутации ВГВ можно разделить на следующие группы: мутации вакцинного ускользания (ген S); мутации лекарственной устойчивости (ген P); мутации, связанные с прогрессированием заболевания (гены X и Core, а также области PreCore, PreS1 и PreS2).

Цель работы — получение полноразмерных последовательностей генома и молекулярно-генетическая характеристика генетических вариантов вируса гепатита В, циркулирующих на территории Западной Африки (Гвинея Республика).

Материалы и методы

В ходе исследования было получено и проанализировано 75 полногеномных последовательностей изолятов ВГВ. Высокопроизводительное секвенирование проводили на платформе Illumina MiSeq путем таргетного обогащения с использованием разработанной нами панели олигонуклеотидных праймеров, покрывающих полный геном ВГВ. Полученные последовательности ВГВ были проанализированы для определения их генотипов и субгенотипов с помощью методов филогенетического анализа, наличие клинически значимых мутаций определяли в соответствии с существующей научной литературой.

* Исследование выполнено в рамках реализации Федерального проекта «Санитарный щит — безопасность для здоровья (предупреждение, выявление, реагирование)»: «Экстерриториальный мониторинг инфекционных угроз на базе Центра ВОЗ по реагированию на эпидемии и сети центров за рубежом — Научно-методическое и практическое взаимодействие на базе Российско-Гвинейского Центра».

Исследование проводилось с соблюдением принципов добровольности и конфиденциальности. Проведение описываемой научной работы одобрено решением Этического комитета Гвинеи (протокол № 129/CNERS/16 от 31.08.2015).

Результаты и обсуждение

Все выявленные изоляты ВГВ относятся к генотипу Е и хорошо кластеризуются с прототипными вариантами, циркулирующими в Западной Африке. Мутации лекарственной устойчивости и мутации областей PreS1/PreS2 среди выявленных изолятов не обнаружены. Выявлены следующие вакцинно-ускользающие мутации: Q101N (2/75, 2,7 %, 95 % ДИ = 0,7–9,2 %), T115N (1/75, 1,3 %, 95 % ДИ = 0,2–7,2 %), I/T126N (1/75, 1,3 %, 95 % ДИ = 0,2–7,2 %), A128V (3/75, 4,0 %, 95 % ДИ = 1,4–11,1), Q129R/N (3/75, 4,0 %, 95 % ДИ = 1,4–11,1), F/Y134I/V (3/75, 4,0 %, 95 % ДИ = 1,4–11,1) и S143L (1/75, 1,3 %, 95 % ДИ = 0,2–7,2 %). Также выявлены мутации, связанные с ускоренным прогрессированием заболевания: A1762T+G1764A(BCP), W28* и G29D (PreCore), F24Y, E64D, E77Q и A80T/V (Core), а также мутации гена Core, связанные с ускоренным прогрессированием заболевания и ускользанием от иммунитета: E113Q, L116I/V, T114V, A131P и T146N. Во всех исследуемых полногеномных последовательностях была выявлена хотя бы одна мутация гена X, связанная с прогрессированием заболевания, при этом тройная мутация V5M/L + K130M + V131I выявлена в 29 последовательностях (38, 7 %, 95 % ДИ = 28,5–50,0 %), двойная мутация V5M/L + V131I — в 4 (5,3 %, 95 % ДИ = 2,1–12,9 %), мутация V5M/L — в 41 (54,7 %, 95 % ДИ = 43,4–65,4 %). Среди других обнаруженных мутаций гена X следует отметить H94Y, обнаруженную в 14,7 % (11/75, 95 % ДИ = 8,4–24,4 %).

Заключение

Филогенетический анализ показал циркуляцию единственного генотипа ВГВ (генотип Е) в изучаемой выборке. Широкая распространенность мутаций иммунного ускользания и мутаций, связанных с ускоренным прогрессированием заболевания, представляет собой серьезную проблему и может косвенно объяснить причину эндемичности ВГВ и высокой частоты ГЦК в регионе Западной Африки. Актуализация данных по генотипическому разнообразию ВГВ позволяет отслеживать пути передачи, появление и распространение новых вариантов вирусов, в том числе с клинически значимыми мутациями.