

УДК 616.36-022:577.27

Г.М. КУРМАНОВА, Э.А. МАСИМОВА, З.Р. МУХТАРОВА, А.Т. АЛПАРОВА,
М.Д. МОЛДАХАНОВА, Н.А. ТУРЕНИЯЗОВА

Казахский национальный медицинский университет им. С.Д. Асфендиярова, г. Алматы

СЕРОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ВИРУСНЫХ ГЕПАТИТОВ В, С И D

В обзоре представлены основные методы и алгоритмы диагностики вирусных гепатитов В, С и D – одной из наиболее актуальных проблем глобального характера. Для диагностики вирусных гепатитов применяются метод иммуноферментного анализа (ИФА) и полимеразная цепная реакция (ПЦР). Интерпретация результатов ИФА и ПЦР позволяет не только диагностировать наличие вирусного гепатита, но и фазу развития инфекционного процесса.

Ключевые слова: вирусные гепатиты, маркерная диагностика, геном вирусов В и С.

Вирусные гепатиты являются глобально распространенной инфекцией. По разным оценкам инфицированность гепатитом В и С достигает от 1 до 2 млрд. людей, из них ежегодно от разных форм ВГ В погибает около 2 млн. человек: 100 тыс. – от фульминантного гепатита, 500 тыс. – от ОВГ и его осложнений, 700 тыс. – от цирроза печени, 300 тыс. – от гепатоцеллюлярной карциномы (ГЦК). При этом не учитывается смертность от внепеченочных (системных) проявлений HBV и HCV-инфекции [1, 2, 3, 5, 6].

В Казахстане по данным официальной статистики ежегодно 30-50 тыс. человек заболевают вирусными гепатитами. Не менее 25% больных, инфицированных HBV, и 65-75%, инфицированных HCV, имеют высокий риск

развития хронической как печеночной, так внепеченочной (системной) патологии [3, 6].

Диагностика гепатита В

HBV-инфекция – это системное заболевание, характеризующееся поражением лимфоидной и не лимфоидной ткани, в том числе гепатоцитов, клинически проявляющееся от бессимптомных форм до фульминантных, частым развитием хронических форм, цирроза печени и ГЦК [3].

Эпидемиология. Пути передачи вируса гепатита В являются парентеральный, половой, перинатальный, а также контактно-бытовой, реализующийся, вероятно, при тесном контакте с открытыми повреждениями и ранами. Исходя из эпидемиологии вирусов, обследованию на

Таблица 1 – **Контингенты обследуемых лиц на ХВГ В и С**

Контингенты обследуемых лиц на ХВГ В и С		
Диагностические	По эпид. показаниям	Профилактические
Больные с патологией гепатобилиарной системы. Дети, рожденные инфицированными матерями. Пациенты с патологией, которая может указывать на внепеченочные (системные) проявления вирусных гепатитов. Лица, у которых наблюдалось повышение активности аминотрансфераз или любой другой биохимический синдром гепатита	При вспышках, единичных или групповых заболеваниях ВГ. Лица в окружении больных острыми, хроническими ВГ	Доноры, беременные. Исследования при определении напряженности иммунитета против вируса гепатита В

Таблица 2 – **Контингенты, подлежащие мониторингу и вакцинации [1]**

Группа риска	Профилактические мероприятия	Частота обследования
Доноры и реципиенты	Не пренебрегать элементарной гигиеной (личная зубная щётка, бритва). Не допускать проведения пирсинга, стрижки и маникюра необработанным или нестерильным инструментом. Нельзя сдавать кровь, если у донора носительство вируса гепатита В.	Доноры и реципиенты должны проверяться каждые 6 месяцев!
Медицинские работники; Студенты высших и средних учебных заведений медицинского профиля	При контакте с кровью применять барьерные средства (перчатки). Одноразовые шприцы с иглами без предварительного промывания, дезинфекции, разбора и деформирования сбрасываются в коробки для безопасной утилизации. Загрязненные, режущие и колющие инструменты многократного использования сразу для последующей обработки помещать в жесткие, влагонепроницаемые (дно и стенки), маркированные контейнеры.	Все медицинские работники проверяются 1 раз в год!
Контактные лица в очагах гепатита В		Проверяются на маркеры HBV каждые 6 месяцев.
Лица подлежащие гемодиализу и трансплантации		
Пациенты с врожденными иммунодефицитами любого генеза		
Онко-гематологические больные, а также больные, получающие иммуносупрессивные препараты		
Впервые выявленные ВИЧ-инфицированные		

маркеры гепатитов В и С подлежат лица из групп риска (табл. 1, 2).

Особенности вируса. Вирус гепатита В относится к группе гепаднавирусов. Центральное положение занимает нуклеокапсид или «ядро» – «core». Нуклеокапсид имеет 27 nm в диаметре, в его состав входит т.н. «серцевинный антиген» НВсAg, а также антиген НВеAg. Нуклеокапсид окружен оболочкой толщиной около 4 nm, белок которой назван «поверхностным» или НВsAg. Широко распространён синоним его названия – «австралийский антиген». Поверхностный антиген производится в большом избытке, в крови инфицированных людей его нитевидные и сферические частицы обнаруживаются даже в отсутствие нуклеокапсида.

Группа вирусных частиц гепатита В: вирионы, имеющие оболочку из поверхностного белка и два «обнажённых» нуклеокапсида.

Строение генома. Геном вируса представляет собой кольцевую молекулу ДНК, состоящую из двух цепей – минус-цепь и плюс-цепь [3]. Плюс-цепь короче минус-цепи и составляет от 50 до 80% ее длины. Считывание информации об определенном вирусном белке происходит путем скользких «рамок». В геноме HBV на минус-цепи ДНК идентифицированы четыре открытые рамки считывания (рис. 1).

Ген S содержит информацию о НВs антигене. Этому гену предшествуют две зоны: pre-S1 и pre-S2. Область pre-S1 кодирует белок, прикрепляющийся к рецептору IgA на поверхности гепатоцита, тем самым способствуя проникновению вируса в клетку. Область гена pre-S2 несет информацию об участке связывания с полимеризованным альбуминовым рецептором, локализованным также на гепатоците. Синтез белков внешней оболочки вируса происходит в цитоплазме, причем он избыточен, часть антигена, не использованная для сборки вируса, попадает через межклеточное пространство в кровь. По своей антигенной характеристике НВsAg неоднороден. Он

включает общую, группоспецифическую детерминанту α и две из четырех субтипных детерминант – d, y, w, r. Соответственно выделяют 4 основных субтипа НВsAg: adw, adr, ayw, ayr. Выделяют и другие субтипные детерминанты – g, x, f. Субтипы распространены географически неоднородно. В России в основном регистрируются субтипы ayw и adw. В Казахстане распространены те же субтипы. Высокий уровень НВsAg в крови при относительно низком содержании анти-НВs приводит к образованию циркулирующих иммунных комплексов.

Ген С имеет участки, кодирующие синтез белка-предшественника антигенов НВcore, НВе и регулирующие синтез ДНК вируса. В эндоплазматической сети из белка-предшественника, кодируемого как «precore», так и «core» участком гена С, образуется сердцевинный НВcore антиген и НВе антиген. НВе антиген существует в двух антигенных вариантах – НВе-1 и НВе-2, отличающихся по степени связывания с НВcoreAg. Он в дальнейшем секретируется из инфицированных гепатоцитов, не включаясь в состав вириона, свободно циркулирует в крови. С НВеAg связывают инфекционность сывороток крови больных. Циркулирующий НВеAg играет важную роль в защите вируса от иммунной системы организма: он подавляет продукцию ИНФ, может блокировать процесс распознавания Т-лимфоцитами мембраносвязанных антигенов вируса, подавляет специфическое антителообразование. НВсAg при сборке вириона включается в состав нуклеокапсида вируса и может определяться только внутриклеточно, главным образом, в ядрах гепатоцитов.

Ген Р кодирует синтез РНК-зависимой ДНК-полимеразы (НВpol) и частично – НВcoreAg.

Ген Х кодирует синтез НВxAg, который обладает транскрипционной трансактивирующей функцией, возможно связанной с репликацией вируса. Считается, что он тоже входит в состав нуклеокапсида вируса и является регуляторным белком: он усиливает синтез и экспрессию вирусных антигенов, возможно, играет особую роль в развитии гепатоцеллюлярной карциномы (ГЦК) [7].

Исследованиями последних лет показано, что становление и длительное течение хронической вирусной инфекции, вызванной HBV, сопровождаются постепенным изменением генотипа возбудителя с селекцией и накоплением мутантных штаммов, способных избежать иммунный надзор. Идентифицировано много мутантных штаммов HBV, персистенция которых изменяет течение инфекционного процесса [4].

Мутация в «precore» участке генома вируса приводит к задержке синтеза НВеAg, и у больного определяется ДНК вируса, но не определяется НВеAg. Однако в клинических условиях чаще наблюдается смешанная инфекция мутантным и «диким» штаммом вируса, и НВеAg у пациента может определяться. Для полной замены диких штаммов мутантом требуется несколько лет. НВеAg-отрицательный мутант обнаруживается в крови у больных в период элиминации НВеAg и появления анти-НВе (сероконверсия) при наличии HBV ДНК. Показано, что после сероконверсии НВеAg подавляющее большинство больных имели мутации в precore зоне, однако большинство из них находилось в устойчивой клинической ремиссии. Замену



Рисунок 1 – Структура генома вируса гепатита В (HBV)

диких вирионов мутантным штаммом может ускорить непродолжительная кортикостероидная терапия: у 56% больных после курса кортикостероидов в течение года наблюдения отмечалось появление HBeAg-негативного мутанта в значительных количествах. У пациентов контрольной группы (не получавших кортикостероиды) – в 12% случаев [4].

Важное клиническое и эпидемиологическое значение имеют мутанты вируса гепатита В, у которых изменена структура а детерминанты HBsAg, поэтому вакцинация HBs-вакцинами не предохраняет от инфицирования таким мутантом. Такие мутанты выявляются у детей, рожденных от матерей-носительниц HBsAg, которые инфицировались HBV, несмотря на вакцинацию. В настоящее время предпринимаются попытки создания вакцины против такого мутантного штамма [2].

Патогенез. Репликация генома вируса гепатита В во многом отлична от таковой у других ДНК-содержащих вирусов. Она начинается с проникновения вириона в гепатоцит с разрушением внешней оболочки частицы Дейна. При помощи ДНК-полимеразы происходит достройка одноцепочечных участков короткой цепи ДНК ВГВ с образованием РНК-репликативного посредника (прегенома) с одновременной транскрипцией и трансляцией, т. е. с синтезом вирусспецифических белков. Образовавшийся пренуклеоид включает в себя прегеномную РНК- и ДНК-полимеразу. Следующим этапом репликации является обратная транскрипция, т. е. синтез полной цепи ДНК на РНК матрице при помощи вирусспецифической ДНК-полимеразы, обладающей свойствами обратной транскриптазы (ревертазы) с последующим разрушением прегеномной РНК. Затем на минус цепи ДНК ВГВ происходит синтез неполной цепи ДНК ВГВ. Образовавшаяся кольцевая структура ДНК ВГВ вместе с ДНК-полимеразой включается в нуклеокапсид вируса и мигрирует в цитоплазму гепатоцита, где формируется наружная оболочка вируса, состоящая из HBsAg и липидов клетки. Как только новая вирусная частица выходит из гепатоцита, синтез плюс-цепи ДНК ВГВ прекращается. Различия во времени выхода из гепатоцита вирусных частиц определяют вариативность длины плюс-цепи ДНК ВГВ. Кроме включения ДНК ВГВ в состав потомства вирусных частиц, она может интегрироваться в геном гепатоцита [3].

Установить вирусную природу гепатита и получить информацию об его этиологии возможно только путем выявления серологических маркеров вирусов гепатита. К таким маркерам относят вирусные белки (антигены),

специфические антитела, вырабатываемые организмом в ответ на инфекцию, и нуклеиновые кислоты вируса (ДНК или РНК), представляющие его геном.

HBsAg – основной серологический маркер ВГВ. При остром гепатите HBsAg может быть выявлен в крови обследуемых в инкубационный период ВГВ и в первые 4–6 недель клинического периода (рис. 2). Обнаружение поверхностного антигена вируса гепатита В в крови дольше 6 месяцев после начала болезни свидетельствует о возможной хронизации процесса. Возможно пожизненное носительство HBsAg. HBsAg способен активизировать клеточные протоонкогены. Через достаточно длительный срок (более 20 лет) возможно развитие гепатокарциномы [1].

Анти-HBs. Антитела к поверхностному антигену гепатита В появляются к концу острого гепатита В, чаще через 3 мес от начала инфекции. Сохраняются в среднем около 10 лет. Анти-HBs свидетельствуют о приобретенном иммунитете. Период, в который отсутствуют и HBsAg, и анти-HBs, называется фазой серологического «окна» (рис. 2). Сроки появления анти-HBs зависят от особенностей иммунологического статуса больного. Продолжительность фазы «окна» чаще составляет 3–4 мес. с колебаниями до года. Факт появления анти-HBs рассматривается как надежный критерий развития постинфекционного иммунитета, т. е. выздоровления после ВГВ. Раннее появление анти-HBs, обнаружение их в острую стадию ВГВ, сразу после исчезновения HBsAg, должно насторожить лечащего врача. Такая динамика системы HBsAg – анти-HBs рассматривается как прогностически неблагоприятная, предвещающая угрозу фульминантного течения ВГВ. Анти-HBs могут сохраняться пожизненно. В некоторых случаях в течение последующих нескольких лет после перенесенного острого гепатита В концентрация анти-HBs может постепенно снижаться.

HBeAg – антиген инфекционности, показатель интенсивной вирусной репликации, высокой инфекционности крови и высокого риска перинатальной передачи вируса. Представляет собой сердцевинный белок, кодируется тем же геном, что и HBcore антиген. Определяется в крови больного в период вирусемии. Появляется после HBs антигена, циркулирует недолго (меньше, чем HBsAg), исчезает к концу желтушного периода (примерно к 9 неделе с начала болезни).

Циркуляция HBe антигена инфекционности в течение 2 месяцев и более является признаком хронизации гепатита В. HBe антиген может не определяться в крови при инфицировании pre-core-мутантами вирусами. При хроническом вирусном гепатите В с высокой репликативной активностью возможно обнаружение его в течение нескольких лет. Обнаружение HBe антигена в крови беременной указывает на высокую опасность инфицирования новорожденного ВГВ. Вероятность заражения от HBsAg/HBeAg-положительных матерей достигает 50%, в то время как от HBsAg/анти-HBe-положительных – 10–30%.

Анти-HBe. Синтез антител к HBeAg в организме начинается после элиминации антигена инфекционности, они свидетельствуют о прекращении репликации (размножения) вируса в организме. В более 90% больных имеют анти-HBe. В период выздоровления анти-HBe могут исчезать. Однако, наличие анти-HBe не является показателем отсутствия инфекционности кон-

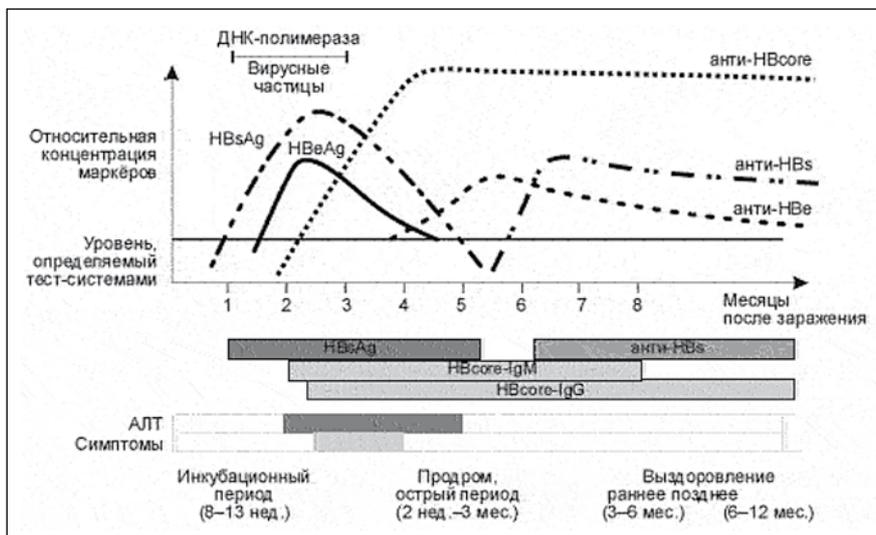


Рисунок 2 – Инфекционный процесс при гепатите В [3]

Таблица 3 – Маркеры вирусного гепатита В

Маркеры	Результат	Интерпретация	Дальнейшее действие
Вирусный гепатит В			
HBsAg	Отрицательный	Данных за вирусный гепатит В нет.	Рекомендовать вакцинацию против вирусного гепатита В
Anti-HBs	Отрицательный		
Анти-НВс IgG	Отрицательный		
Анти-НВс IgM	Отрицательный		
HBeAg	Отрицательный		
Анти-НВе	Отрицательный		
HBsAg	Отрицательный	Постинфекционный иммунитет, т.е. выздоровление после острого ВГ В	Anti-HBe должен исчезнуть в течение года. Анти-НВс IgG должен исчезнуть в сроки до 3 лет. Повторить обследование в сроки 6, 12, 18 месяцев – ИФА и ПЦР на HBV ДНК для подтверждения элиминации вируса (выздоровления)
Anti-HBs	Положительный		
Анти-НВс IgG	Положительный		
Анти-НВс IgM	Отрицательный	ПЦР HBV ДНК – отрицательный	
HBeAg	Отрицательный		
Анти-НВе	Положительный		
HBsAg	Отрицательный	Успешная вакцинация	Уровень антител к HBsAg (anti-HBs) проверяется через 1 месяц после третьей ревакцинации Протективный уровень anti-HBs >10 МЕ/мл
Anti-HBs	Положительный		
Анти-НВс IgG	Отрицательный		
Анти-НВс IgM	Отрицательный		
Анти-НВе	Отрицательный		
HBeAg	Отрицательный		
ДНК HBV	Отрицательный		
HBsAg	Положительный	Острый вирусный гепатит	Выздоровление 80% Переход в хроническую – 20% Сдать анализы на все маркеры через 6 месяцев
Anti-HBs	Отрицательный		
Анти-НВс IgG	Отрицательный		
Анти-НВс IgM	Положительный		
HBeAg	Положительный		
Анти-НВе	Отрицательный		
ДНК HBV	Положительный	Хронический вирусный гепатит В в фазе репликации. В данном случае HBsAg может быть ложноотрицательный (т.е. HBsAg есть, в связанном состоянии в составе ЦИК)	Если HBe – отрицательный, а ПЦР на HBV ДНК положительный – у пациента HBe-мутантный штамм вируса гепатита В
HBsAg	Отрицательный/ Положительный		
Anti-HBs	Отрицательный		
Анти-НВс IgG	Отрицательный		
Анти-НВс IgM	Положительный		
HBeAg	Положительный		
Анти-НВе	Положительный/ отрицательный	Хронический вирусный гепатит В в фазе интеграции	В фазе интеграции продукция HBsAg может сохраняться или отсутствовать
ДНК HBV	Положительный		
HBsAg	Положительный/ отрицательный		
Anti-HBs	Отрицательный		
Анти-НВс IgG	Положительный		
Анти-НВс IgM	Отрицательный		
HBeAg	Отрицательный	Вероятности интерпретации: 1. Перенесенный ВГ → 2. Ложноположительный результат Анти-НВс → 3. Оккультный (скрытый) ВГ*	Перепроверить через 6 месяцев
Анти-НВе	Положительный/ отрицательный		
ДНК HBV	Отрицательный		
HBsAg	Отрицательный		
Anti-HBs	Отрицательный		
Анти-НВс IgG	Положительный		
Анти-НВс IgM	Отрицательный		
HBeAg	Отрицательный		
Анти-НВе	Отрицательный		
ДНК HBV	отрицательный		

Примечание. Сокращения (кроме приведенных в тексте) s – surface – поверхностный; c – core – ядро; e – ental – внутренний.

кретной сыворотки крови. Показано, что у ряда больных в ходе развития гепатита В (около 10%) под влиянием “иммунного давления” на вирус возникают мутантные формы, которые “избегают” иммунного надзора и не элиминируются. В случае благоприятного развития ВГ В у больных постепенно происходит замещение в крови HBeAg на антитела к нему (сероконверсия HBeAg – анти-HBe). На ранней стадии сероконверсии оба эти маркера могут обнаруживаться одновременно. Исчезновение HBeAg и быстрое нарастание титра анти-HBe у больного практически исключает угрозу хронизации ГВ. Отсутствие такой динамики и выявление монотонно низких концентраций анти-HBe, наоборот, может свидетельствовать о развитии хронического ГВ с невысокой репликативной активностью (HBeAg-негативный хронический ГВ). Длительное сохранение HBeAg в крови больного и отсутствие анти-HBe могут быть показателями угрозы развития хронического гепатита с высокой репликативной активностью ВГВ (HBeAg-позитивный хронический ГВ). Таким образом, динамический контроль за системой HBeAg – антиHBe позволяет уже в острую стадию ГВ надежно прогнозировать его исход.

Наличие в крови анти-HBe и высокой концентрации (>105 копий/мл) ДНК ВГВ соответствует мутации гена в ргсого-зоне вирусной ДНК и образованию «е-»-штамма ВГ В. Такие показатели указывают на формирование у обследуемого больного HBeAg-негативного ХГ В с высокой репликативной активностью. Установлено, что после перенесенного гепатита В анти-HBe могут сохраняться в крови человека от 5 мес. до 3–5 лет.

Анти-HBcor. HBcoreAg можно обнаружить только в биоптатах печени в ядрах гепатоцитов инфицированного ВГВ человека, а в его крови он в свободном виде не циркулирует. Сердцевинное положение HBcoreAg в вируоне определяет его высокую иммуногенность и обуславливает раннее появление антител к этому антигену (анти-HBcore).

• **HBcore-IgM** – основной серологический маркер острого ГВ, который обычно циркулирует в крови больных в течение 6–12 мес. и исчезает после выздоровления. При хронических формах ГВ HBcore-IgM определяются в крови в фазе обострения.

• **HBcore-IgG** – появляются практически в те же сроки, что и HBcore-IgM. Наличие в крови человека Анти-HBcor IgG говорит о наличии иммунитета к вирусу гепатита В

результате перенесённой в прошлом инфекции или вакцинации против этого вируса.

***Скрытая (окультная) инфекция HBV.** Окультная инфекция HBV может быть определена как персистенция (сохранение вируса в функционально активном состоянии в клетках организма) ДНК HBV в ткани печени (и в некоторых случаях в сыворотке крови) пациентов, у которых HBsAg не определяется в крови, с наличием или отсутствием анти-HBc [8, 9].

Окультная инфекция HBV распространена по всему миру, но ее частота связана с распространенностью явной инфекции HBV в специфических географических областях. Окультная инфекция HBV передается при переливании крови и пересадке органов. Окультный гепатит представляет собой дополнительный фактор риска развития ГЦК у анти-HCV-позитивных пациентов. Также она может быть связана с прогрессированием хронического заболевания печени, вызванного иными причинами. Окультный гепатит В может быть реактивирован в течение длительной противоопухолевой химиотерапии и иммуносупрессорного лечения, что позволяет ей стать явной хронической инфекцией HBV. Предварительное лечение таким пациентам не требуется, однако во время проведения иммуносупрессорной терапии они должны динамически обследоваться на уровень АЛТ и HBsAg [8].

В случае если пациент не смог избавиться от вируса, заболевание переходит в **хроническую форму**. Течение заболевания в таком случае можно разделить на четыре фазы [1, 3] (рис. 3):

1. Иммунотолерантная
2. Иммуноактивная
3. Низкорепликативная
4. Реактивация.

В иммунотолерантной фазе у пациентов обнаруживаются HBeAg, HBsAg и высокий уровень ДНК вируса гепатита В в сыворотке. При этом отсутствуют симптомы заболевания, сохраняется нормальная активность АЛТ, повреждение печени минимально.

В иммуноактивной фазе появляются признаки и симптомы активного гепатита. В эту фазу инфицированные вирусом гепатоциты распознаются и уничтожаются иммунной системой. Это ведет к повышению уровня АЛТ, что свидетельствует о цитолизе, и к падению уровня ДНК вируса гепатита В в сыворотке крови. В крови обнаруживается HBeAg. У большинства пациентов заболевание находится в этой фазе многие годы. Постоянное разрушение инфицированных гепатоцитов ведет к прогрессирующему поражению печени. У некоторых пациентов усиление противовирусного иммунитета ведет к HBeAg-сероконверсии (HBeAg перестает определяться, появляется anti-HBeAg). Средняя частота спонтанной сероконверсии варьирует от 8 до 15% у взрослых и детей с повышенной активностью АЛТ. Этот показатель достоверно ниже у детей-азиатов. HBeAg сероконверсия – это показатель частичной ремиссии заболевания, который ассоциируется с нормализацией АЛТ, супрессией HBV ДНК, и, в перспективе, с уменьшением клинических проявлений и улучшением выживаемости. HBeAg-сероконверсия в большинстве случаев свидетельствует о переходе заболевания в низкорепликативную фазу или фазу неактивного носительства.

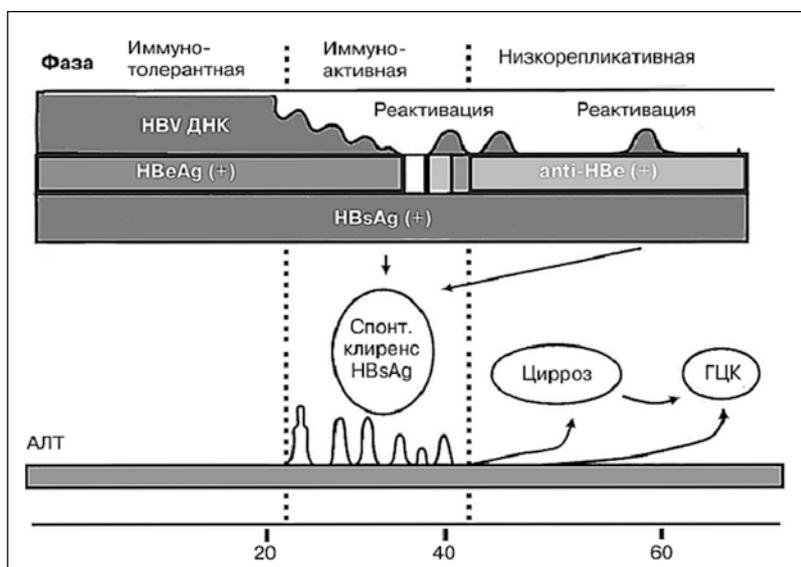


Рисунок 3 – Фазы хронического вирусного гепатита В

Низкорепликативная фаза или фаза неактивного носительства характеризуются низким уровнем ДНК ВГВ и нормальной активностью АЛТ. Репликация ДНК ВГВ продолжается, но на низком уровне, будучи подавлена иммунным ответом пациента. Симптомы у больных, как правило, отсутствуют и заболевание печени кажется неактивным. Заболевание может остаться в этой фазе до конца жизни или может произойти следующее:

- HBsAg сероконверсия (HBsAg перестает определяться, появляется anti-HBsAg) – это наиболее благоприятный исход заболевания, т.к. он означает ремиссию хронической инфекции и эффективный контроль вируса иммунной системой. Стоит отметить, что HBsAg-сероконверсия – это очень редкий исход заболевания, который встречается с частотой менее 1% в год в эндемических регионах;

- Развитие HBeAg-негативного ХВГВ. У некоторых пациентов происходит спонтанная реактивация репликации вируса после HBeAg-сероконверсии. Это фаза реактивации, которая характеризуется высоким уровнем ДНК ВГВ в крови и высокой активностью АЛТ в результате селекции репликативно-компетентных HBV вариантов с мутацией в пресердцевинном или сердцевинном промотерном регионе, которые не способны или имеют сниженную способность продуцировать HBeAg. Эта форма заболевания называется HBeAg-негативным ХВГВ.

Иммунный ответ против инфицированных гепатоцитов приводит к воспалительным и некротическим изменениям в печени и, если некровоспаление продолжается долго, поврежденные клетки замещаются соединительной тканью. Фиброз в конечном итоге может привести к компенсированному и, возможно, декомпенсированному циррозу. На поздних сроках заболевания у пациента обычно имеются желтуха, анорексия, слабость, тошнота и боли в животе. В последних стадиях заболевания у пациента могут развиваться асцит, расширение вен пищевода и печеночная недостаточность. ГЦК – это следующее серьезное последствие хронической HBV-инфекции. ГЦК может быть напрямую не связана с повреждением печени, воспалением и регенерацией, а быть следствием того, что хроническая HBV-инфекция может непосредственно активировать клеточный онкогенез или инактивировать гены, ответственные за онкосупрессию. Значительное повреждение печени, приводящее к печеночной недостаточности и ГЦК, в конце концов заканчивается летальным исходом [7, 10, 11].

Вирус гепатита С HCV-инфекция – это системное заболевание, характеризующееся поражением лимфоидной и нелимфоидной ткани, в том числе гепатоцитов, и клинически протекающее преимущественно в хронической форме с развитием цирроза печени и ГЦК [5].

Вирусный гепатит С – РНК-содержащий, мелкий вирус из семейства Flaviviridae с однонитчатой линейной РНК, диаметром 30-38 нм. HCV об-

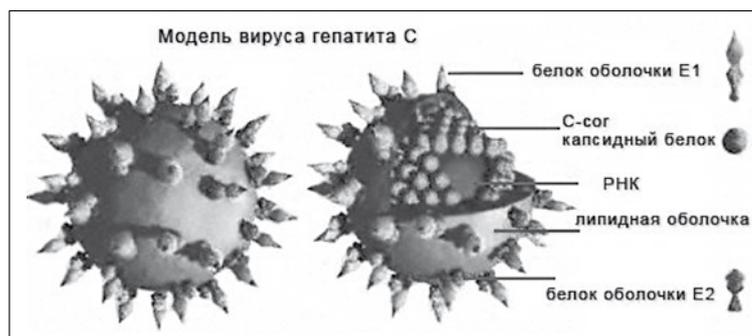


Рисунок 4 – Строение вируса гепатита С

ладает выраженными мутационными способностями.

В настоящее время открыто 10 генотипов вируса, из них первые 6 наиболее клинически изучены. В странах Европы и Азии чаще встречаются 1, 2, 3-й генотипы [1]. Строение вириона показано на рис. 4.

Течение заболевания. Острая, клинически выраженная (желтушная) форма вирусного гепатита С (ОГС), встречается примерно в 20% случаев. Из числа заболевших самовыздоровление наступает в среднем в 15% случаев, а у остальной части пациентов (85%) заболевание принимает многолетнее латентное или малосимптомное течение, большей частью остающееся нераспознанным. В дальнейшем в зависимости от активности хронического гепатита в 10-15% случаев возможно развитие цирроза печени и первичной гепатоцеллюлярной карциномы (ГЦК) в течение 10-30 лет [6, 7]. Инфекция ВГС ассоциируется с развитием ряда внепеченочных ее проявлений, включая лейкоцитокластический васкулит, мембранопролиферативный гломерулонефрит, позднюю порфирию кожи.

Диагностика. Кандидатами на серологическое обследование являются лица, относящиеся к группам риска. Окончательный диагноз вирусного гепатита С устанавливается только после выявления в крови РНК возбудителя. Основной маркер – антитела к HCV (анти-HCV). Наличие текущей инфекции подтверждается обнаружением РНК HCV. Анти-HCV обнаруживаются в фазе выздоровления и перестают определяться через 1-4 года после острого вирусного гепатита (рис. 5). Повы-

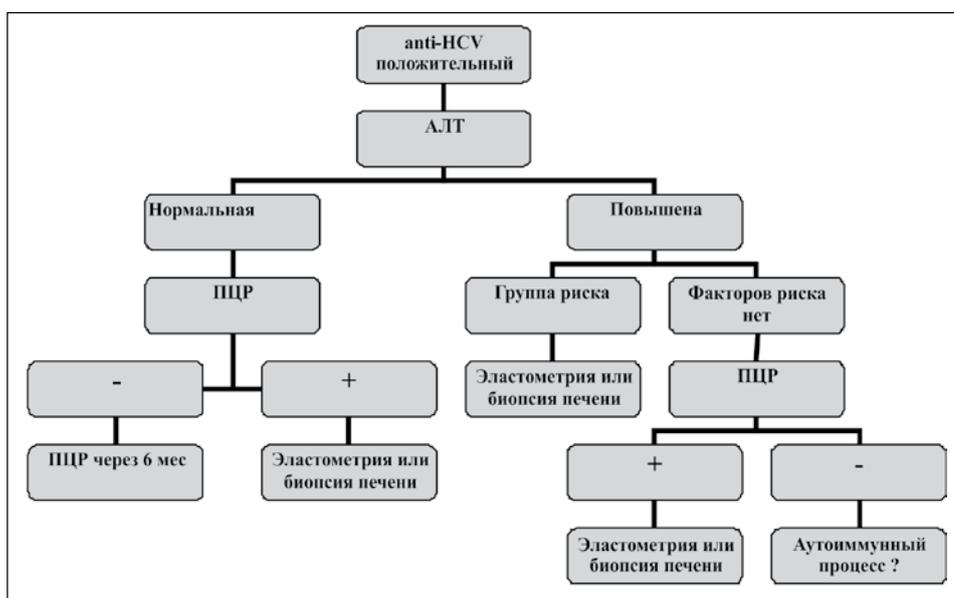


Рисунок 5 – Алгоритм обследования пациента с anti-HCV + [1]

шение этих показателей свидетельствует о хроническом гепатите. При HCV-инфекции отчетливо наблюдается традиционная последовательность событий в печени: острый вирусный гепатит – хронический гепатит – цирроз – цирроз-рак печени. Риск развития гепатоцеллюлярной карциномы (ГЦК) при HCV-инфекции в три раза выше, чем при инфекции вирусом гепатита В.

Необходимо помнить, что у пациентов, инфицированных вирусом гепатита С возможны несовпадения между результатами определения антител и РНК вируса.

Ложноотрицательные результаты в ИФА при положительной ПЦР имеет место в трёх ситуациях [7]:

- исследование произведено в ранние сроки после заражения или в так называемую фазу «серологического окна», которое длится от 2 недель до 6 месяцев. Это является основной причиной того, что методами ИФА в сыворотке крови не всегда удается обнаруживать антитела против вируса гепатита С;

- у иммуносупрессивных пациентов, в частности, у ВИЧ-инфицированных, онкологических и туберкулёзных больных;

- при инфицировании редкими генотипами HCV-инфекции, например, 4 и 5 субтипами вируса С.

Негативная ПЦР при положительном ответе в ИФА чаще всего бывает вследствие низкой концентрации вируса в крови (порог аналитической чувствительности) или при действительной элиминации вируса из организма, но при этом антитела к вирусу гепатита С ещё могут циркулировать в крови до двух лет. В целом необходимо помнить, что серологическая диагностика HCV-инфекции, т.е. выявление специфических антител класса М и G, решает задачу этиологического диагноза ВГ, но не определяет характер и прогноз инфекционного процесса.

Таким образом, применение ПЦР позволяет выявлять вирус гепатита С на самом раннем этапе инфекционного процесса, поскольку РНК вируса гепатита С может обнаруживаться в сыворотке крови уже через неделю после инфицирования. Ещё одной уникальной возможностью, которой обладает метод ПЦР, является определение генетической полиморфности вируса гепатита С. В настоящее время выделяют 6 основных генотипов вируса

гепатита С, которые в свою очередь делятся на множество субтипов. В странах СНГ преобладающими являются 1, 2 и 3 генотипы ВГ С, причем наличие субтипа 1b является наименее благоприятным признаком течения и успешной терапии HCV-инфекции [5].

Коинфекция гепатит В+С

5-10% больных вирусным гепатитом в мире инфицированы вирусами В и С одновременно. Коинфекция HCV и HBV увеличивает риск тяжелого течения гепатита или развития его фульминантной формы. Пациенты, инфицированные двумя вирусами, имеют больший риск развития цирроза печени и ГЦК в сравнении с теми, кто инфицирован только одним вирусом. В Казахстане, как в зоне высокой и средней эндемичности по гепатиту В, 22-25% больных хроническими вирусными гепатитами инфицированы одновременно вирусами В и С, таким образом практически каждый второй-третий больной гепатитом С одновременно инфицирован вирусом гепатита В. Только у части из них в крови определяются все маркеры гепатита В [7]. Чаще наблюдается феномен вирусной интерференции – экспрессия антигенов вируса В подавлена вирусом С и у больного наблюдается скрытая (окультная) инфекция гепатита В (рис. 6).

HDV – является уникальным патогеном, занимающим промежуточное положение между вирусами и вириоидами. Вирус гепатита D является «дефектным», что обусловлено отсутствием собственной оболочки вокруг вирусной РНК. Для этой цели вирус гепатита D использует HBsAg, посредством которого и происходит адгезия к мембране гепатоцита. Эта инфекция может встречаться в двух формах [10] (рис 7).

1. Коинфекция HBV/HDV, что приводит к более тяжелому течению гепатита с более высокой смертностью, но редко заканчивается хронизацией процесса.

2. Суперинфекция HDV у HBV-инфицированных, что приводит к манифестации процесса тяжелым «острым» гепатитом у ранее асимптомных лиц, или обострению существующего хронического гепатита В. В отличие от коинфекции HBV/HDV суперинфекция HDV практически всегда приводит к хронизации обоих вирусов с развитием цирроза печени, печеночной декомпенсации и



Рисунок 6 – Варианты взаимодействия вирусов В и С.

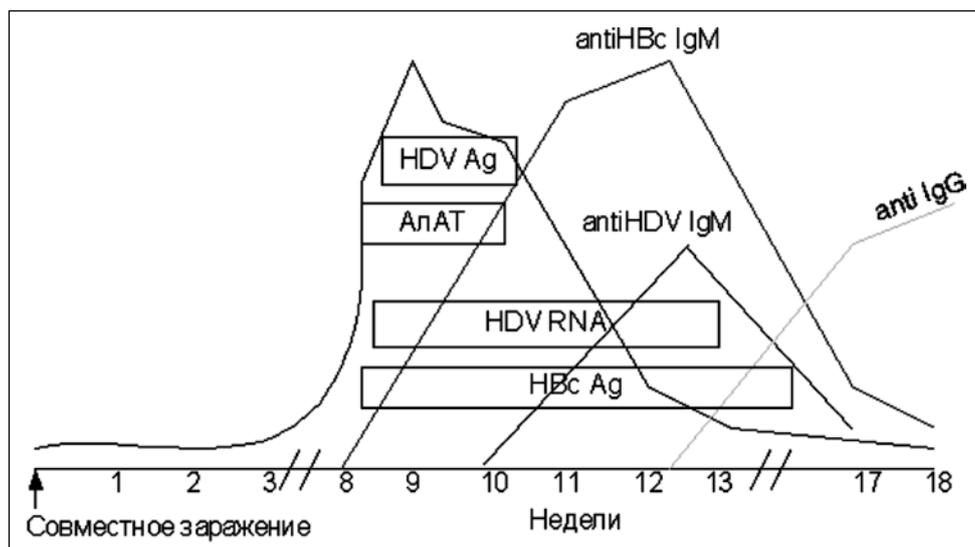


Рисунок 7 – Динамика инфекционного процесса при В+D гепатите

ГЦК в сравнении с теми, кто инфицирован одним только HBV [10, 11].

Эпидемиология, клиника, лечение, диагностика и профилактика HBV соответствуют HDV. Лабораторное обследование на наличие вируса гепатита D обязательно всем пациентам только после обнаружения маркеров HBV-инфекции.

Диагностика вирусного гепатита D производится на основании лабораторных исследований крови: повышения титра антивирусного иммуноглобулина G и иммуноглобулина M. Основные маркеры гепатита D:

- IgM анти-HDV – антитела класса M к вирусу гепатита D маркируют репликацию HDV в организме;
- IgG анти-HDV – антитела класса G к вирусу гепатита свидетельствуют о возможной инфицированности HDV или перенесенной инфекции;
- HDAg антиген вируса HDV – маркер наличия HDV в организме;
- HDV-RNA – РНК вируса HDV – маркер наличия и репликации HDV.

Скрининг на наличие гепатоцеллюлярной карциномы (ГЦК)

Гепатоцеллюлярная карцинома (ГЦК) – одна из гастроинтестинальных опухолей с плохим прогнозом. Приблизительно в 70% случаев ГЦК сопровождается циррозом и, как правило, является следствием гепатита В или С [6, 7, 11]. При естественном течении очень быстро наступает фатальный исход.

Главными факторами риска развития ГЦК являются:

- Хроническая инфекция вирусами гепатита В или С.
- Алкогольный цирроз.
- Неалкогольный стеатогепатит.
- Цирроз печени сам по себе, вне зависимости от этиологии.

Риск развития ГЦК у пациентов, инфицированных HBV, возрастает при:

- Вирусной нагрузке
- Мужском поле
- Пожилом возрасте
- Наличии цирроза печени
- Контакте с афлатоксином.

Риск развития ГЦК у пациентов, инфицированных HCV и при наличии цирроза печени, возрастает в комбинации с:

- Сопутствующим злоупотреблением алкоголем
- Ожирением/инсулинрезистентностью
- Предыдущей или конкурирующей ко-инфекцией HBV.

Целью скрининга является выявление опухолей менее 3 см в диаметре (предпочтительно менее 2 см), что дает возможность проведения эффективного лечения. Скрининг на ГЦК показан всем пациентам с циррозом печени, поскольку у них имеется наибольший риск развития опухоли (рис. 8).

Уменьшить заболеваемость ГЦК и увеличить выживаемость больных можно, только применяя методы первичной профилактики: вакцинации (HBV), лечение фоновых заболеваний печени (в первую очередь противовирусная терапия у больных с HCV и HBV), активный скрининг в группах риска.

Выводы

ВГ В, занимая одно из ведущих мест в инфекционной патологии человека, относится к наиболее актуальным проблемам здравоохранения всех стран мира. Хроническая HBV-инфекция ответственна за большинство случаев ассоциированной с ВГ В заболеваемости и смертности: приблизительно 25% пациентов, инфицированных в детстве, и 15% – в более старшем возрасте, умирают от цирроза или рака печени.

Хронически инфицированные пациенты выигрывают годы жизни, если оценка состояния и/или лечение начато рано, до манифестации симптомов. Основная цель лечения ХГВ заключается в снижении риска развития цирроза печени, печеночной недостаточности, ГЦК, а также необходимости в трансплантации печени. Поскольку активная репликация HBV является ключевым механизмом, ведущим к повреждению печени и прогрессированию болезни, элиминация HBV или, по меньшей мере, постоянная супрессия HBV является ключом к прекращению или профилактике прогрессирования заболевания. В заключение следует упомянуть о необходимости комплексного обследования больного с привлечением новейших достижений медицинской и биологической науки для правильной диагностики вирусных гепатитов и назначения адекватной терапии больному.

Для эффективной диагностики вирусных гепатитов В и С следует применять развёрнутый иммунофермент-

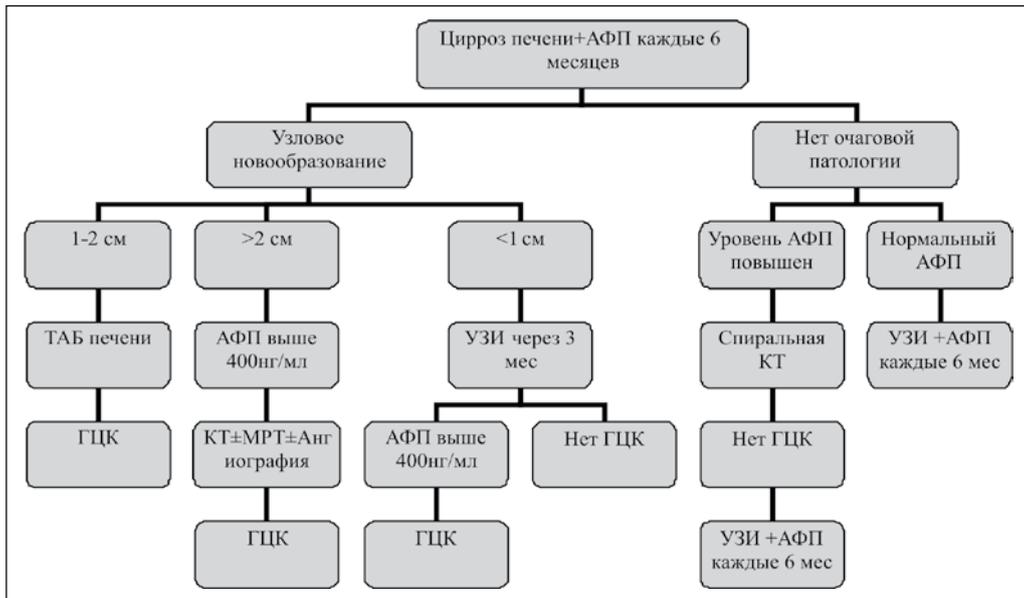


Рисунок 8 – Скрининг ГЦК. Врачебная тактика по El-Serag, 2007 [1]
ТАБ – тонкоигольная аспирационная биопсия, АФП – альфа-фетопротеин,
КТ, МРТ – компьютерная и магнитно-резонансная томография.

ный анализ с определением всех известных маркёров данных инфекций. Для выявления маркёров репликации у лиц положительных на ВГ В и ВГ С по данным ИФА необходимо дополнительно использовать полимеразную цепную реакцию. Для эффективной профилактики вирусного гепатита В у иммунокомпрометированных пациентов с заболеваниями крови следует проводить их вакцинацию.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Asian Pacific Association for the Study of the Liver Consensus Statements on the Diagnosis, Management and Treatment of Hepatitis C Virus Infection// J Gastroenterol Hepatol. – 2007; 22(5): 615-633
- 2 Dan Bekku; Makoto Arai; Fumio Imazeki; Yutaka Yonemitsu; Tatsuo Kanda; Keiichi Fujiwara; Kenichi Fukai; Kenichi Sato; Sakae Itoga; Fumio Nomura; Osamu Yokosuka. Long-term Follow-up of Patients with Hepatitis Be Antigen Negative Chronic Hepatitis B// J Gastroenterol Hepatol. – 2011; 26(1):122-128
- 3 Chien-Jen Chen; Hwai-I Yang. Natural History of Chronic Hepatitis B // J Gastroenterol Hepatol. – 2011; 26 (4): 628-638
- 4 D. Vassilopoulos; I. Rapti; M. Nikolaou; E. Hadziyannis; S. J. Hadziyannis. Cellular Immune Responses in Hepatitis B Virus E Antigen Negative Chronic Hepatitis B// J Viral Hepat. 2008;15(11):817-826
- 5 Loomba R., Rivera M.M., McBurney R., Park Y., Haynes-Williams V., Rehmann B., Alter H.J., Herrine S.K., Liang T.J., Hoofnagle J.H., Heller T. The Natural History of Acute Hepatitis C. Clinical Presentation, Laboratory Findings and Treatment Outcomes// Alimentary Pharmacology & Therapeutics. 2011;33(5):559-565
- 6 Jason Grebely, B.Sc., Gregory J. Dore. What is Killing People With Hepatitis C Virus Infection?// Semin Liver Dis. 2011;31(4):331-339
- 7 Scott R Walter; Hla-Hla Thein; Heather F Gidding; Janaki Amin; Matthew G Law; Jacob George; Gregory J Dore. Risk Factors for Hepatocellular Carcinoma in a Cohort Infected With Hepatitis B or C// J Gastroenterol Hepatol. 2011;26(12):1757-1764

8 Li-Wei Chen; Rong-Nan Chien; Cho-Li Yen; Jia-Jang Chang; Ching-Jung Liu; Chih-Lang Lin. Therapeutic Effects of Pegylated Interferon Plus Ribavirin in Chronic Hepatitis C Patients with Occult Hepatitis B Virus Dual Infection// J Gastroenterol Hepatol. 2010;25(2):259-263. © 2010

9 Hollinger F.B., Sood G. Occult Hepatitis B Virus Infection: A Covert Operation// J Viral Hepat. 2010;17(1):1-15

10 Buti M., Homs M., Rodriguez-Frias F., Funalleras G., Jardí R., Sauleda S., Tabernero D., Schaper M., Esteban R. Clinical Outcome of Acute and Chronic Hepatitis Delta Over Time. A Long-term Follow-up Study // J Viral Hepat. 2011; 18(6):434-442

11 Bruix J, Sherman M. Management of hepatocellular carcinoma: An update. Hepatology 2011; 53: 1020–2

Т Ұ Ж Ы Р Ы М

**Г.М. КУРМАНОВА, Э.А. МАСИМОВА,
З.Р. МУХТАРОВА, А.Т. АЛПАРОВА,
М.Д. МОЛДАХАНОВА, Н.А. ТУРЕНИЯЗОВА**
С.Ж. Асфендияров атындағы Қазақ Ұлттық
Медицина Университеті

ВИРУСТЫ В, С, Д ГЕПАТИТТИ СЕРОЛОГИЯЛЫҚ ДИАГНОСТИКАЛАУ ӘДІСТЕРІ

Вирусты гепатиттер – басты әлемдік өзекті мәселелердің бірі. Вирусты гепатиттерді диагностикалау үшін иммуноферментті анализ (ИФА) және полимеразды тізбекті реакция (ПЦР) қолданылады. ИФА және ПЦР қорытындыларын талдау вирусты гепатиттерді диагностикалау қана қоймай, инфекциялық үрдістің дамуын бақылауда маңызы зор.

Негізгі сөздер: вирусты гепатиттер, маркерлы диагностикалау, вирус В, С, Д геномдары.

S U M M A R Y

**G.M. KURMANOVA, E.A. MASIMOVA,
Z.R. MUKHTAROVA, A.T. ALPAROVA,
M.D. MOLDAKHANOVA, N.A. TURENIYASOVA**
Kazakh National Medical University
named after S.D. Asfendiyarov

SEROLOGICAL DIAGNOSTIC OF VIRAL HEPATITIS B, C AND D

The viral hepatitis are one of the most global problems of medicine. The laboratory diagnostic of viral hepatitis based on immune enzyme assay (ELISA) and polymerase chain reaction (PCR). The interpretation of ELISA and PCR results shows not only presence of HCV or HBV infection, but also study of infection process.

Key words: viral hepatitis, serological marks, hepatitis B and C viruses.

Рецензент: зав. кафедрой инфекционных и тропических болезней КазНМУ им. С.Д. Асфендиярова, д.м.н., профессор А.К. Дуйсенова.

УДК 576.31/535-08

В.Ю. ЮГАЙ

Областной клинико-диагностический медицинский центр, г. Тараз

ЦИТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЙ СКРИНИНГ ИППП В ПРАКТИКЕ ЦИТОЛОГИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРИИ

В данной статье представлены материалы результатов массового цитологического скрининга, проведенного в лаборатории цитоморфологии областного клинико-диагностического медицинского центра г. Тараз. Были обследованы жительницы городов Тараз и Шу и пяти районов Жамбылской области. Возраст обследуемых от 30 до 60 лет, проведен гинекологический профилактический осмотр по методу Папаниколау для ранней диагностики предрака и раковых заболеваний шейки матки. В связи с широкой распространенностью урогенитального хламидиоза был проведен поиск наиболее информативного цитологического исследования и место взятия биологического материала. Большую роль хламидийная инфекция играет в развитии фоновых и предраковых заболеваний шейки матки.

Ключевые слова: репродуктивная система, злокачественные заболевания.

Удельный вес опухолей репродуктивной системы в структуре заболеваний злокачественными опухолями у женщин составляет 35,9%. Высоким остается не только уровень онкопатологии, но и уровень запущенных стадий (III–IV стадия до 42%) и одногодичной летальности (при раке молочной железы 12,4%, раке шейки матки – 20,6%) [1].

Рак шейки матки имеет непосредственную связь с сексуальными отношениями мужчин и женщин, что подтверждается следующими наблюдениями:

- у девственниц заболевание встречается крайне редко;
- у замужних женщин частота рака шейки матки выше, чем у одиноких;
- заболеваемость выше у женщин, рано вышедших замуж или рано начавших половую жизнь;
- риск заболеваемости возрастает среди женщин, имеющих много половых партнеров или повторно выходящих замуж за мужчин, имевших много половых партнеров;
- заболеваемость связана с социально-экономическими условиями: высока в группах с плохим социальным положением;
- частота заболеваний увеличивается с ростом числа беременностей, однако эти данные недостаточно проверены;
- связь вируса простого герпеса 2 го типа (HSV-2) и человеческой папилломы в настоящее время интенсивно исследуется и все больше подтверждается обнаружением вируса папилломы 16 и 18 в опухолевых компонентных инвазивных формах рака шейки матки.

Та роль, которая отводится урогенитальной инфекции в развитии интраэпителиальной неоплазии и рака урогенитальной области в свете современных представлений, способствует заинтересованности цитологов в своевременной диагностике этой инфекции у больных.

По данным эпидемиологических исследований, от 5 до 10% сексуально активных взрослых людей инфицировано хламидиями; в дерматовенерологических учреждениях Казахстана случаи хламидийной инфекции наблюдают в 2–3 раза чаще, чем гонореи. Медико-

социальная значимость этого заболевания подчеркнута тем, что с 1994 г. хламидиоз включен в ряд инфекционных заболеваний, подлежащих обязательному статистическому учету [2].

Высокий уровень распространенности скрытых половых инфекций требует совершенствования работы по координации деятельности кожно-венерологического диспансера со всеми другими заинтересованными медицинскими службами города.

Для организации выявления онкологических заболеваний репродуктивной сферы у женщин в городе развернута централизованная цитологическая лаборатория, которая проводит массовый цитологический скрининг и раннюю диагностику при патологических процессах вульвы, шейки матки и эндометрия.

Цитоморфологическая лаборатория (ЦМЛ) ОКДМЦ осуществляет бактериоскопию на половые инфекции мазков, доставляемых из женских консультаций, гинекологических, родильных отделений, лечебно-профилактических учреждений. Объем исследований составляет свыше 5 тыс. исследований в год.

По приказу №145 от 16 марта 2011 г. О внесении изменений приказа и.о. МЗ РК от 10 ноября 2009г. №685 «Об утверждении Правил проведения профилактических медицинских осмотров целевых групп населения», проводится онкоцитологическое обследование женщин, которым исполнилось 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60 лет. Лаборатория проводит гинекологический профосмотр по методу Папаниколау, для ранней диагностики предрака и раковых заболеваний шейки матки, который внедрен 2008 году в октябре месяце.

В 2012 году скринингу по методу Папаниколау подлежали женщины – 1952 г.р.; 1957 г.р.; 1962 г.р.; 1967 г.р.; 1972 г.р.; 1977 г.р.; 1982 г.р. К ОКДМЦ прикреплены: Гп-1, ГП-4, ГП-5, Жамбылский р/н, Байзакский р/н, Жулынский р/н, Мойынқумский р/н., Шуйский р/н, г. Шу (табл. 1, 2, 3).

Из таблицы 4 видно, что выявление предраковых форм заболеваний (CIN-I, CIN-II, CIN-III) увеличилось на 0,1%, C-g – выявлено 0.

По договору проводились диагностические цитологические исследования по методу Романовского – ГП №2, Шуская ГП, с. Толе би ЦРБ, Мойынқумский р/н.