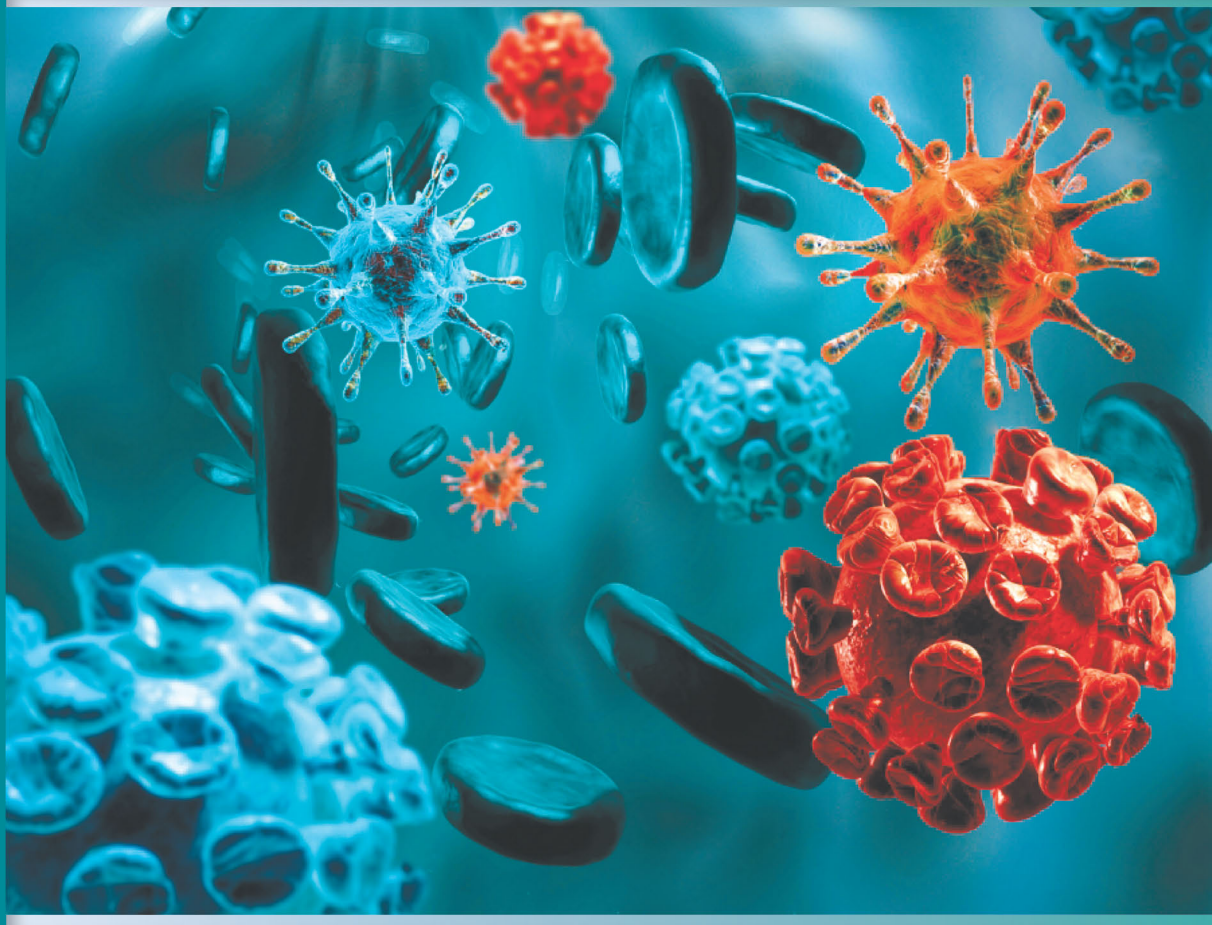
В. В. Малеев, И. Г. Ситников, М. С. Бохонов

ВОПРОСЫ ГЕПАТОЛОГИИ



Санкт-Петербург
СпецЛит

УДК 616.36
М18

Рецензенты:

Волчкова Елена Васильевна — доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой инфекционных болезней Первого Московского государственного медицинского университета им. И. М. Сеченова;

Кожевникова Галина Михайловна — доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой инфекционных болезней с курсом эпидемиологии Российского университета дружбы народов.

Малеев В. В., Ситников И. Г., Бохонов М. С.

М18 Вопросы гепатологии : учебное пособие / под ред. В. В. Малеева. — Санкт-Петербург : СпецЛит, 2016. — 367 с.

ISBN 978-5-299-00667-4

Рекомендовано для обучения и самостоятельной работы студентов высших медицинских учебных заведений, а также для системы послевузовского профессионального образования врачей-интернов, ординаторов, слушателей циклов тематического усовершенствования по специальности «Инфекционные болезни» в качестве учебного пособия по гепатологии, медицинской биохимии и клинической лабораторной диагностике.

Пособие подготовлено в ЦНИИ эпидемиологии и на кафедре инфекционных болезней, эпидемиологии и детских инфекций ЯГМУ. В издании освещены основные вопросы гепатологии, вызывающие определенные трудности в практической работе врачей многих специальностей: особенности современной диагностики вирусных гепатитов и фиброза печени, проведение дифференциальной диагностики желтух, оказание помощи инфекционным больным с использованием современных противовирусных и гепатопротективных средств, своевременная диагностика и лечение печеночной энцефалопатии.

Авторы надеются, что предложенное издание окажется полезным в обучении и практической работе студентов, врачей-инфекционистов, а также врачей других специальностей.

УДК 616.36

ISBN 978-5-299-00667-4

© ООО «Издательство «СпецЛит», 2016

ОГЛАВЛЕНИЕ

Условные сокращения 6

Введение 9

Глава I. Особенности диагностики вирусных гепатитов на современном этапе 12

Острые и хронические вирусные гепатиты 12

Иммуноферментный анализ 13

Метод полимеразной цепной реакции в режиме реального времени . 17

Диагностика гепатита А 19

Диагностика гепатита Е 22

Диагностика гепатита С 23

Диагностика гепатита В 32

Диагностика гепатита D 40

Другие вирусные гепатиты 42

Диагностика перинатального инфицирования и течение вирусных гепатитов В и С у детей 45

Литература 47

Глава II. Функциональная диагностика заболеваний печени 49

Функциональная морфология печени 49

Цитолитический синдром 51

Мезенхимально-воспалительный синдром 57

Гепатодепрессивный синдром 62

Холестатический синдром 68

Синдром портокавального шунтирования печени 75

Синдром регенерации и опухолевого роста печени 78

Литература 79

Глава III. Дифференциальный диагноз при синдроме желтухи 81

Обмен билирубина 81

Патогенез желтухи 85

Обследование пациента с желтухой 87

Методы исследования пигментного обмена 88

Физиологическая желтуха новорожденных 88

Гемолитические желтухи 89
Дифференциальная диагностика доброкачественных гипербилирубинемий 93
Механическая (подпеченочная) желтуха 100
Токсические поражения печени 106
Лекарственный гепатит 107
Алкогольная болезнь печени 110
Аутоиммунные болезни печени 112
Генетически детерминированные болезни печени 115
Синдром желтухи в клинике инфекционных болезней 117
Литература 128

Глава IV. Фиброз печени 130
Патоморфология фиброза печени 131
Патофизиология фиброза печени 132
Методы оценки фиброза печени 135
Биопсия печени 137
Эластография 140
Неинвазивные маркеры фиброза печени 142
Эхографическое исследование печени при фиброзе 149
Фиброз при вирусном гепатите С 151
Фиброз при вирусном гепатите В 153
Литература 155

Глава V. Печеночная энцефалопатия 157
Ключевые патогенетические механизмы печеночной энцефалопатии 159
Классификация печеночной энцефалопатии 167
Клиническая картина 169
Функциональная характеристика печеночной энцефалопатии 183
Инструментальные методы оценки 184
Лечение 186
Профилактика печеночной энцефалопатии 197
Литература 200

Глава VI. Внепеченочные проявления гепатитов В и С 202
Криоглобулинемия 205
Внепеченочные проявления хронического гепатита В 208
Внепеченочные проявления хронического гепатита С 213
Лечебная тактика при внепеченочных проявлениях 218
Тромбоцитопения при хронических заболеваниях печени 220
Литература 226

Глава VII. Основные противовирусные препараты (интерфероны и их индукторы, аналоги нуклеозидов) 229
История изучения интерферонов 229
Классификация препаратов интерферона 236
Индукторы интерферона 237
Отечественные интерфероны первого поколения 242
Препараты интерферонов второго поколения 245
Пегилированные интерфероны 255
Противовирусные химиопрепараты расширенного спектра 258
Нежелательные явления терапии интерферонами и их коррекция . . 268
Будущие варианты терапии хронического гепатита С 275

Литература 281

Глава VIII. Тройная противовирусная терапия хронического гепатита С . 283
Обследование пациента перед началом противовирусной терапии . . 283
Оценка эффективности противовирусной терапии 289
Фармакология телапревира 289
Фармакология боцепревира 291
Стандартная схема двойной терапии больных с генотипом 1 вируса гепатита С 293
Рекомендации по лечению пациентов с генотипом 1 вируса гепатита С 294
Нежелательные явления тройной терапии 296
Лекарственная устойчивость 299
Лекарственные взаимодействия телапревира и боцепревира 300

Литература 305

Глава IX. Гепатопротективные средства в комплексной терапии заболеваний печени 307
Эссенциальные фосфолипиды 308
Препараты, содержащие силимарин 316
Препараты альфа-липоевой кислоты 321
Антиоксиданты 323
Препараты на основе адеметионина 327
Препараты урсодезоксихолевой кислоты 333
Препараты, нормализующие детоксикационную функцию печени . . 337
Гомеопатические препараты 339
Индукторы микросомальных ферментов печени 341
Препараты системной энзимотерапии 342

Литература 344

Приложения 347

Тестовые задания 358

Глава I

ОСОБЕННОСТИ ДИАГНОСТИКИ ВИРУСНЫХ ГЕПАТИТОВ НА СОВРЕМЕННОМ ЭТАПЕ

ОСТРЫЕ И ХРОНИЧЕСКИЕ ВИРУСНЫЕ ГЕПАТИТЫ

Вирусные гепатиты — группа инфекционных заболеваний, которые вызываются различными гепатотропными вирусами и являются самостоятельными нозологическими формами с поражением печени, определяющим течение и исход заболевания. Наиболее частыми симптомами, указывающими на поражение печени, являются желтуха, гепатомегалия, тошнота и снижение аппетита. К настоящему времени идентифицированы и детально охарактеризованы шесть типов вирусов, способных вызывать гепатиты у человека. Наибольшее эпидемическое значение имеют вирус гепатита А (ВГА, HAV), вирус гепатита В (ВГВ, HBV), вирус гепатита С (ВГС, HCV) и вирус гепатита D (дельта-вирус, HDV). Вирусы гепатитов В, С и D являются причиной не только острых, но и хронических форм гепатитов, которые связаны с развитием цирроза печени и гепатокарциномы. Идентификация этиологического агента — решающий фактор при определении прогноза заболевания и выборе эффективной противовирусной терапии.

Вирусные гепатиты не имеют патогномоничных характеристик клинического течения и гистологической картины поражения печени. Поэтому полный диагноз может быть поставлен только на основании специфических лабораторных тестов, к которым относятся иммуноферментный анализ и полимеразная цепная реакция. При подозрении на острый гепатит следует провести тесты для выявления в сыворотке крови антител иммуноглобулинов класса М (IgM) против ВГА, вируса гепатита D, общих антител против ВГС, а также исследование HBs-антигена ВГВ (рис. 1.1).

Клинические проявления хронического вирусного гепатита в типичных случаях выражены слабо, малоспецифичны и вследствие этого нередко остаются незамеченными. Наиболее частыми симптомами хронической формы заболевания являются недомогание и повышенная утомляемость, которые усиливаются к концу дня. Отмечается увеличение печени. Такие симптомы, как тошнота, боли в животе, мышцах или суставах, встречаются реже. Желтуха, потемнение мочи, зуд кожи, плохой аппетит, уменьшение массы тела, телеангиоэктазии и спленомегалия наблюдаются в случае тяжелого варианта течения или развившегося цирроза печени.

Существуют и другие инфекции, вызывающие симптомы поражения печени. Как правило, они проявляют себя как системные заболевания и характеризуются полиорганными нарушениями (лихорадка, лимфоаденопатия, поражения верхних дыхательных путей). В этом случае, а также в случае неустановленной этиологии гепатита необходимы дополнительные исследования: определение антител против цитомегаловируса, вируса Эпштейна — Барр и др.

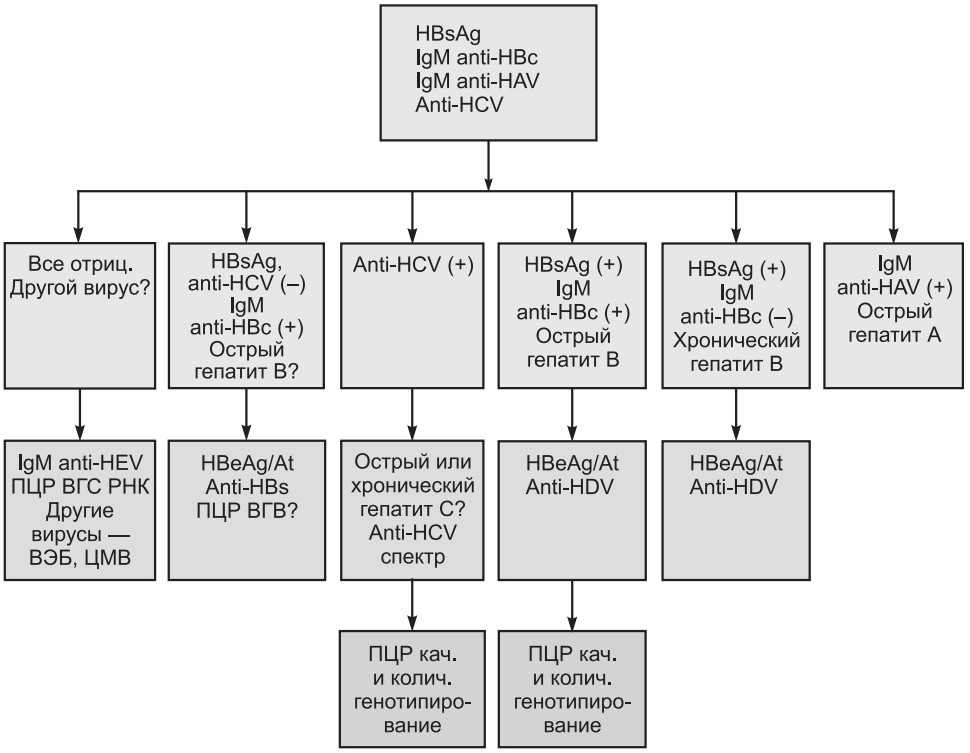


Рис. 1.1. Алгоритм дифференциальной диагностики вирусного гепатита

Для выявления маркеров гепатитов наибольшее распространение получили методы радиоиммунного и иммуноферментного анализа. Ведущее место при этом имеет иммуноферментный анализ, что обусловлено его высокой чувствительностью, возможностью проведения массовых обследований и отсутствием ограничений, связанных с работой с радиоактивной меткой.

Основные серологические маркеры при вирусных гепатитах представлены в Приложении 1.

ИММУНОФЕРМЕНТНЫЙ АНАЛИЗ

Реакции иммуноферментного анализа (ИФА) ставятся либо для выявления антигенов, либо для определения антител. Чувствительность метода повышается за счет развития технологии регистрации сигнала, появляющегося в результате взаимодействия антиген-антитело.

Антигены — это вещества, специфически взаимодействующие с иммуноглобулинами, синтезированными лимфоцитами. В роли антигенов могут выступать любые субстраты, на которых имеются участки (сайты, эпитопы) для продукции к ним антител.

Антителами в организме человека являются плазменные белки — иммуноглобулины. Они образуются в ответ на воздействие антигена и специфически связываются с ним. Поликлональные антитела можно получить путем иммунизации антигеном, содержащим несколько эпитопов. Однако для аналитических целей более важным является использование моноклональных антител, так как они проявляют абсолютную специфичность к определенному сайту.

Иммуноглобулины являются индикаторами нарушения иммунных процессов, и их синтез не всегда связан с состоянием печени. Взаимоотношения иммуноглобулинов и печени приближаются к взаимоотношениям γ-глобулинов и печени.

Иммуноглобулины представляют собой семейство структурно сходных белковых молекул, обладающих функцией антител. Основу их структуры составляют легкие и тяжелые цепи, удерживаемые ковалентными (дисульфидными) и нековалентными мостиками. Цепи в свою очередь состоят из доменов. Домен — структурная единица, включающая 110—120 аминокислот. Легкую цепь образуют два домена (каппа и лямбда), тяжелую — от трех до пяти доменов. Легкие и тяжелые цепи обычно соединены попарно (рис. 1.2).

Выделяют 5 классов иммуноглобулинов — IgA, IgG, IgD, IgE, IgM. Наибольшие различия иммуноглобулинов заключены в разнообразии структур их тяже-

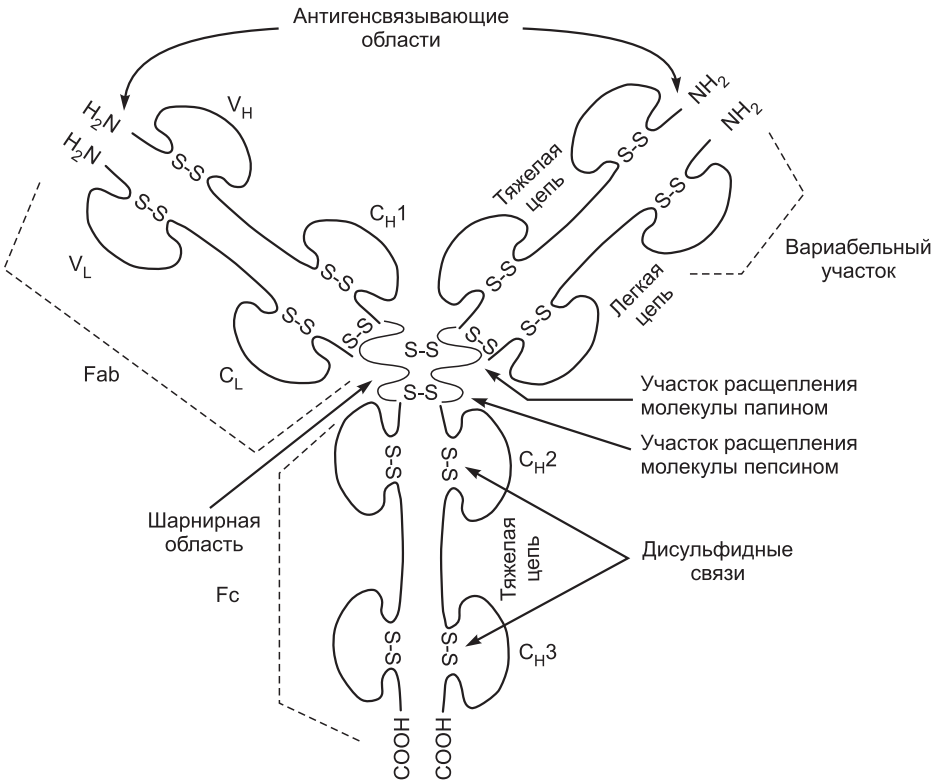


Рис. 1.2. Структура молекулы иммуноглобулина

лых цепей. В гепатологической практике широко используется определение IgA, IgG, IgM.

Иммуноглобулины сыворотки крови человека — это группа γ-глобулинов с идентичной базовой структурой, отличающихся по иммунологическим, биологическим и физическим свойствам. Они синтезируются лимфоцитами В-линии. При антигенной стимуляции В-лимфоциты продуцируют в основном IgM. При пролиферации В-лимфоциты превращаются в плазматические клетки, которые секретируют в кровь высокоспецифичные антитела класса иммуноглобулинов G (IgG), способные связывать дополнительное количество антигенов.

IgG является основным сывороточным иммуноглобулином, в сыворотке его содержится 6—17 г/л. Осуществляет важные защитные функции в отношении патогенных микроорганизмов и токсинов в сосудистом русле, а также в экстраваскулярном пространстве, куда достаточно свободно проникает.

IgM находится в основном в сосудистом русле. Играет важную роль при вирусемии и бактериемиях на ранних стадиях инфекции.

Сывороточный иммуноглобулин А (IgA) составляет менее половины иммуноглобулина А, содержащегося в человеческом организме. Основная часть этого иммуноглобулина содержится в секретах (молоко, секреты кишечного и респираторного трактов, желчь, слюна, слезная жидкость). Осуществляет также защиту слизистых оболочек от патогенных микроорганизмов и потенциальных аутоаллергенов.

Концентрация IgG в сыворотке значительно (более 30 г/л) повышается у больных аутоиммунным гепатитом. Умеренное повышение содержания IgG (20—30 г/л) может наблюдаться при большинстве хронических заболеваний печени.

Содержание IgA в сыворотке часто повышено у больных алкогольной болезнью печени, особенно на стадии цирроза.

Повышение концентрации IgM характерно для больных первичным билиарным циррозом печени.

ИФА — вид иммунохимического анализа, основанный на высокоспецифичной иммунологической реакции антигена с соответствующим антителом с образованием иммунного комплекса, для выявления которого используют в качестве метки фермент или ферментзависимое вещество.

В основе метода ИФА лежит оценка результатов иммунной реакции антигена с антителом. Полученный комплекс определяется следующим образом: в реакционную смесь вводят конъюгат, который включает в себя ферментную метку, а также добавляют специальный хромогенный субстрат. Фермент, взаимодействуя с субстратом, изменяет его окраску. Учет результатов проводят фотометрически.

Для выявления IgM анти-ВГА применяется многослойный «сэндвич»-метод. Общая схема проведения реакции представлена на рис. 1.3.

На твердой фазе адсорбированы антитела к μ-цепям IgM, которые взаимодействуют с антителами класса IgM, находящимися в исследуемой сыворотке (этап 1). После удаления непрореагировавших компонентов добавляется стандартное количество антигена, антитела против которого определяются (этап 2). Удалив непрореагировавшие компоненты реакции, добавляют меченые антитела, реагирующие с антигеном. Чем больше количество антител, тем интенсивнее ферментативная реакция. Для уменьшения вероятности ложнопозитив-

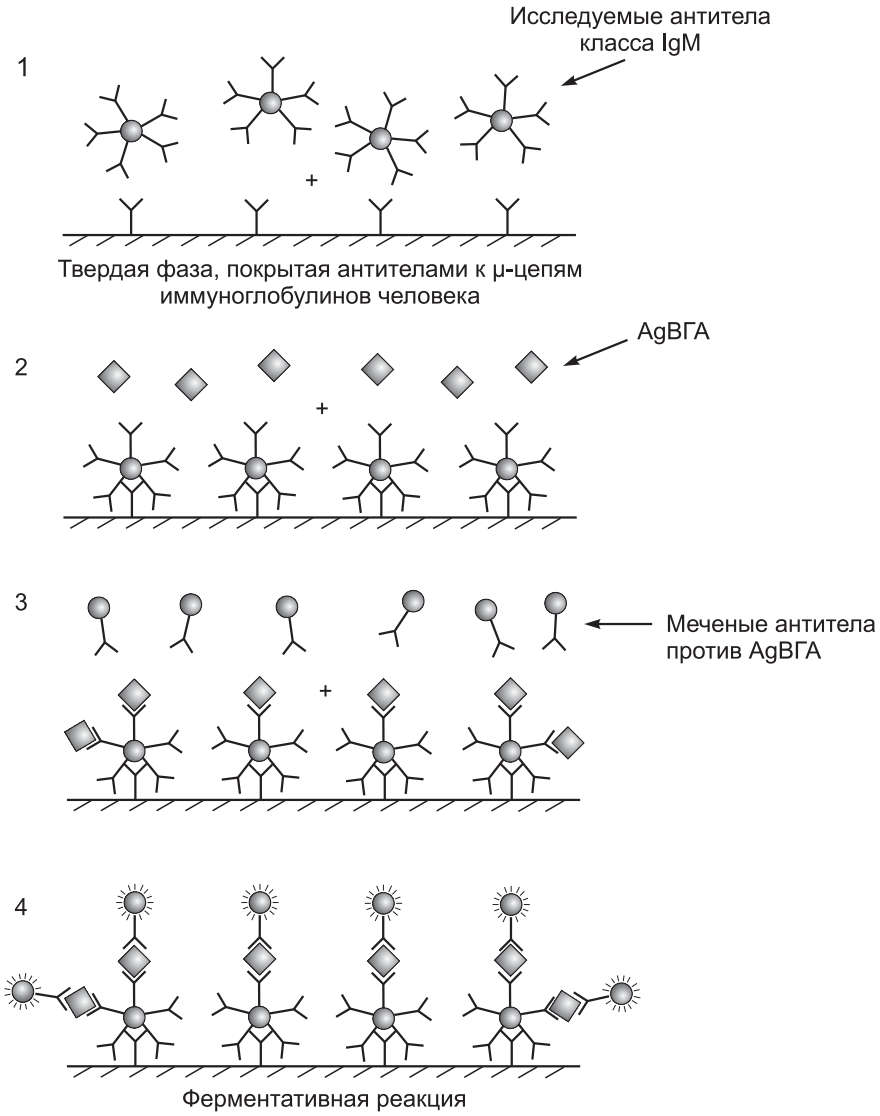


Рис. 1.3. Схема твердофазного ИФА для определения IgM анти-ВГА

ных результатов исследование сывороток крови проводится после их разведения в 10 и более раз. Соответствующие диагностические наборы, включающие все необходимые для постановки теста компоненты и реактивы, выпускаются отечественными и зарубежными промышленными биотехнологическими предприятиями.

Для того чтобы установить точный момент инфицирования и разграничить первичную инфекцию, реинфекцию или реактивацию инфекционного процесса, предложен тест на определение авидности IgG-антител.

По свойствам антител различают аффинность и авидность. Аффинность — степень специфического сродства активного центра к антигенной детерминанте. Авидность — степень прочности связывания молекулы антитела с молекулой антигена. Чем выше аффинность, тем выраженнее и авидитет.

В ИФА-тест-системах используют показатель индекса авидности (ИА). При инкубации тестируемых сывороток с адсорбированными антигенами образуются иммунные комплексы. После промывания планшет в часть лунок добавляют раствор, который способствует удалению «ранних» IgG, отличающихся низкой авидностью. После внесения конъюгата контролируют его связывание с комплексом антиген-антитело с помощью раствора хромогена. Интенсивность окраски пропорциональна количеству антител к антигену в образце. После остановки ферментативной реакции измеряют оптическое поглощение окрашенного раствора с помощью спектрофотометра. Присутствие в исследуемом образце вирусспецифических антител с низкой авидностью определяется снижением интенсивности окрашивания по сравнению с лунками без раствора, удаляющего «ранние» IgG.

Индекс авидности антител испытуемых сывороток рассчитывают (в %) по формуле:

$$\text{ИА} = \text{ОП } 1 / \text{ОП } 2 \times 100\ \%,$$

где ОП 1 — оптическая плотность в лунках с антигенами после обработки раствором, удаляющим низкоавидные IgG; ОП 2 — оптическая плотность в лунках с той же сывороткой, не обработанных раствором.

Выявление в испытуемой сыворотке антител с ИА ниже 15—50 % указывает на свежую первичную инфекцию. Показатель авидности, равный или превышающий 50 %, свидетельствует о наличии в сыворотке высокоавидных антител — маркеров перенесенной в прошлом инфекции или персистирующей инфекции. Показатель авидности антител в интервале 31—49 % может свидетельствовать о поздней стадии первичной инфекции или недавно перенесенной инфекции только при условии выявления антител в высокой концентрации. Интерпретацию результатов определения ИА необходимо проводить в соответствии с рекомендациями фирмы-производителя, так как его величина для одной и той же стадии заболевания может колебаться в широких пределах. Данный тест рекомендуется применять для пациентов, в сыворотке крови которых обнаружены IgM.

МЕТОД ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ В РЕЖИМЕ РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ

Применение полимеразной цепной реакции (ПЦР) для лабораторной диагностики привело к революционному развитию группы диагностических методов, основанных на выявлении генетического материала и объединяемых общим термином «генодиагностика». Присущая ПЦР высокая специфичность анализа обусловлена использованием для ее проведения уникального фрагмента генома возбудителя инфекционного заболевания, не встречающегося у других организ-

мов. Важно также, что ПЦР — прямой метод лабораторной диагностики, т. е. обнаружение нуклеиновой кислоты вируса эквивалентно обнаружению вирусных частиц.

Общий принцип ПЦР основан на многократном увеличении (амплификации) числа копий целевого специфического фрагмента дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) — ДНК-мишени или матрицы — ферментом ДНК-полимеразой. Для синтеза новых комплементарных цепей ДНК-полимераза использует в качестве затравки синтетические одноцепочечные олигонуклеотиды (праймеры), ограничивающие амплифицируемый фрагмент с двух сторон (рис. 1.4).

Реакцию проводят в условиях многократного (25—50 раз) повторения температурного цикла, включающего следующие стадии:

1. Денатурация — разогрев реакционной смеси до высокой температуры (обычно 94—95 °С), при которой диссоциируют все комплексы ДНК, в том числе расплетается и двойная спираль ДНК-мишени;

2. Отжиг праймеров или гибридизация — смесь охлаждается до температуры, при которой праймеры образуют двуцепочечный комплекс с ДНК-мишенью;

3. Элонгация — удлинение цепей ДНК, приводящее к удвоению ДНК-полимеразой специфического фрагмента ДНК.

Использование для ПЦР термостабильного фермента (обычно применяют Taq-полимеразу из бактерии *Thermus aquaticus* или ее рекомбинантные модифицированные варианты) позволяет многократно повторять цикл амплификации с сохранением активности фермента. При отсутствии факторов, препятствующих эффективной амплификации, за один цикл количество копий специфического участка ДНК-мишени (ампликонов) увеличивается вдвое, а после 30 циклов — более чем в 109 раз. Благодаря этому ПЦР нашла применение в лабораторной

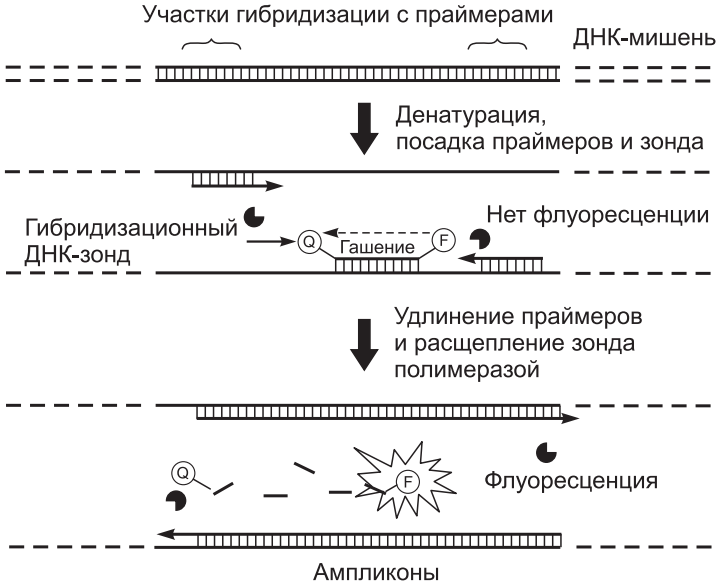


Рис. 1.4. Принцип ПЦР в режиме реального времени

диагностике для определения настолько малых количеств патогенных микроорганизмов, надежное выявление которых без амплификации невозможно. Теоретически при помощи ПЦР можно обнаружить единичную молекулу ДНК-мишени. Но на практике для достоверного анализа необходимо присутствие в пробирке с реакционной смесью нескольких десятков копий специфической ДНК.

Детекция накопления ампликонов происходит при помощи олигонуклеотидного зонда, гибридизирующегося с участком мишени между праймерами. Зонд несет на себе флуорофор (F) и блокирующий флуоресценцию гаситель (Q), расположенный рядом с ним. В ходе синтеза комплементарной цепи полимераза расщепляет зонд, в результате чего возникает флуоресценция.

Рибонуклеиновая кислота (РНК) не может непосредственно выступать в качестве матрицы для ПЦР. С целью выявления специфической вирусной РНК, например вируса иммунодефицита человека (ВИЧ) или ВГС, перед проведением амплификации необходимо предварительно получить ДНК, комплементарную соответствующему участку РНК (кДНК). Эту реакцию обратной транскрипции катализирует фермент обратная транскриптаза (ревертаза).

В начале 90-х гг. XX в. был создан новый метод детекции ампликонов в режиме реального времени (*Real-Time PCR*), благодаря которому появилась возможность корректного определения количества исходной ДНК-мишени в пробе. Разработано множество способов регистрации амплификации в реальном времени. В диагностических ПЦР-наборах наиболее часто применяются методики с использованием комплементарных ампликону флуорогенных зондов или молекулярных маячков, интенсивность флуоресценции которых изменяется пропорционально накоплению ампликона и регистрируется специальными приборами — амплификаторами с оптическим модулем.

ДИАГНОСТИКА ГЕПАТИТА А

Клинические проявления всех острых гепатитов имеют сходство. Это делает трудной этиологическую расшифровку каждого конкретного случая. Лабораторная диагностика гепатита А построена на обнаружении маркеров инфицирования ВГА, которые могут быть выявлены в сыворотке крови и образцах фекалий больного.

ВГА, открытый S. Freinstone [et al.] в 1973 г., относится к пикорнавирусам. Генетическим материалом является однонитчатая РНК с диаметром вирионов 27—30 нм. В отличие от других энтеровирусов репродукция ВГА происходит медленно и измеряется многими днями и даже неделями.

Для каждого периода заболевания (инкубационного, разгара болезни и реконвалесценции) характерно определенное сочетание маркеров инфицирования ВГА (рис. 1.5).

Наиболее надежным маркером гепатита А являются первичные или ранние антитела к ВГА, представленные IgM или макроглобулинами. Они присутствуют в сыворотке с самых первых дней болезни и исчезают не ранее чем через 3—4 мес. У большинства пациентов негативная реакция при определении IgM анти-ВГА регистрируется в эти сроки, тогда как у некоторых реконвалесцентов (13,5 %) позитивный результат продолжает регистрироваться более чем через 200 дней от начала болезни. Учитывая, что случаи хронического гепатита А

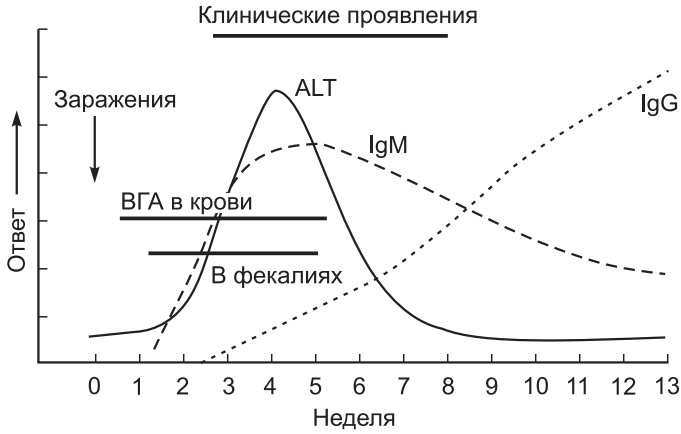


Рис. 1.5. Динамика обнаружения маркеров инфицирования ВГА при остром гепатите А

не описаны, обнаружение этих антител рассматривается в качестве «золотого стандарта». Выявление IgM анти-ВГА является самым надежным критерием постановки диагноза.

Ложнонегативные результаты обнаружения IgM анти-ВГА в разгар острого гепатита А практически не регистрируются. Считается, что чувствительность и специфичность применяемых тестов превышает 99 %. В некоторых случаях первый позитивный результат обнаружения IgM может быть зарегистрирован со 2—4-го дней заболевания.

Ложнопозитивные результаты наиболее часто отмечаются на фоне аутоиммунных процессов (в присутствии ревматоидного фактора), онкологических и кожно-венерологических заболеваний, при гипергаммаглобулинемии.

Еще одной ситуацией, которая может возникнуть в случае обнаружения IgM анти-ВГА без клинических признаков острой инфекции, является недавно проведенная вакцинация против гепатита А. Через месяц после введения вакцины частота определения этих антител уменьшается до 1 %, а затем они элиминируются из организма вакцинированных.

Поздние антитела класса IgG против ВГА появляются в постжелтушный период заболевания, сохраняясь в дальнейшем в течение многих лет. Именно эти антитела обеспечивают защиту от возможного последующего инфицирования ВГА. IgG анти-ВГА синтезируются в организме человека после перенесенного острого гепатита А или после проведенной вакцинации. При этом первостепенное значение имеет концентрация циркулирующих в крови антител. Считается, что защитная концентрация анти-ВГА составляет 20 МЕ/л.

Антитела к ВГА класса иммуноглобулинов А (IgA) играют важную роль в патогенезе заболевания, обеспечивая защиту организма на слизистых оболочках желудочно-кишечного тракта, препятствуя проникновению вируса. Однако до настоящего времени определение IgA анти-ВГА не нашло применения в диагностике гепатита А.

Обнаружение ВГА в экскретах больного имеет высокую диагностическую ценность, являясь доказательством этиологической роли вируса в развитии за-

болевания. Первые работы, посвященные изучению гепатита А, продемонстрировали наличие ВГА в фекалиях и крови больных в инкубационном и в течение 2—3 нед. желтушного периода.

Максимальная концентрация антигена ВГА регистрируется на поздней стадии инкубационного периода и в продроме. В дальнейшем процент положительных результатов его обнаружения постепенно уменьшается ко второй и третьей неделям желтушного периода и составляет 20 и 5 % соответственно.

Определение продолжительности выделения вируса в процессе инфекции имеет важное практическое значение. От того, как долго больной остается опасным для окружающих, зависят сроки его госпитализации в стационаре, время проведения заключительной дезинфекции в очаге и другие противоэпидемические мероприятия.

В сыворотке крови антиген ВГА удается обнаружить значительно реже. Продолжительность виремии меньше (от нескольких часов до нескольких дней), чем период выделения ВГА с фекалиями. Подтверждением факта циркуляции в крови больного ВГА и реальности заражения через инфицированную кровь служат зарегистрированные случаи посттрансфузионного гепатита А.

Разработка и внедрение методов выявления РНК открыли новые возможности в лабораторной диагностике гепатита А. Особое значение имеют результаты обнаружения РНК ВГА в сыворотке крови больных. РНК удается обнаружить в период «окна», т. е. до появления IgM анти-ВГА. Учет данного факта важен при диагностике в инкубационный период и при обследовании лиц из очагов инфекции.

РНК ВГА удается определить и в периоды ранней и поздней реконвалесценции. В типичных случаях время циркуляции вируса может достигать 40 дней. Особенно часто длительное обнаружение РНК ВГА в сыворотке крови регистрируется в случаях затяжного гепатита и у лиц с измененным иммунным статусом.

Наличие разнообразных маркеров инфицирования ВГА и методов их тестирования значительно расширило современные диагностические возможности. В табл. 1.1 представлен перечень этих маркеров с возможной интерпретацией результатов исследования.

Таблица 1.1

Специфические маркеры инфицирования вирусом гепатита А и интерпретация их обнаружения

Маркер инфицирования вирусом гепатита А	Интерпретация результата
IgM анти-ВГА	Острый гепатит А
IgG анти-ВГА (суммарные антитела против ВГА)	Перенесенный гепатит А, защита от гепатита А после вакцинации (> 20 МЕ/л)
IgA анти-ВГА	Перенесенный гепатит А
Антиген ВГА	Репликация вируса
РНК ВГА	Репликация вируса

ДИАГНОСТИКА ГЕПАТИТА Е

В 90-е гг. XX в. эпидемическая форма «ни А, ни В гепатита», вызывающая вспышки в странах с жарким климатом, была обозначена как гепатит Е. Вирус идентифицирован в 1983 г. при проведении эксперимента с заражением добровольца материалами, полученными от больных, у которых был заподозрен гепатит Е (Балаян М. С., 1995). В последующие годы были подробно изучены свойства ВГЕ: это частица сферической формы диаметром 27—34 нм с одноцепочечной РНК, не покрытая оболочкой.

Как и при гепатите А, специфическая лабораторная диагностика гепатита Е строится на тестировании комплекса серологических маркеров инфицирования ВГЕ (анти-ВГЕ классов IgM и IgG), непосредственно вируса и его компонентов. Для гепатита Е характерно последовательное появление и исчезновение маркеров в ходе заболевания и в процессе выздоровления. Обобщенная схема представлена ниже (рис. 1.6).

Острый гепатит Е может быть заподозрен в эпидемических случаях у лиц с острым «ни А, ни В гепатитом». Иммуноферментный анализ позволяет выявить анти-ВГЕ IgM и/или IgG.

Антитела класса IgM присутствуют в сыворотке от 2 до 24 нед. после острого начала болезни. Антитела класса IgG также появляются через 2 нед., и обычно их титр начинает снижаться через 2 года от начала заболевания, хотя иногда высокие титры могут наблюдаться в течение многих лет. Выздоровление от острого заболевания приводит к пожизненному иммунитету.

Основным методом исследования, позитивный результат которого свидетельствует о наличии вируса, является метод ПЦР. По мнению A. Anderson и I. Shresta (2002), обнаружение РНК ВГЕ может рассматриваться как золотой стандарт лабораторной диагностики гепатита Е. Для подтверждения своих слов авторы ссылаются на данные обнаружения ВГЕ в случаях отсутствия антительного ответа, определяемого на момент обнаружения РНК ВГЕ.

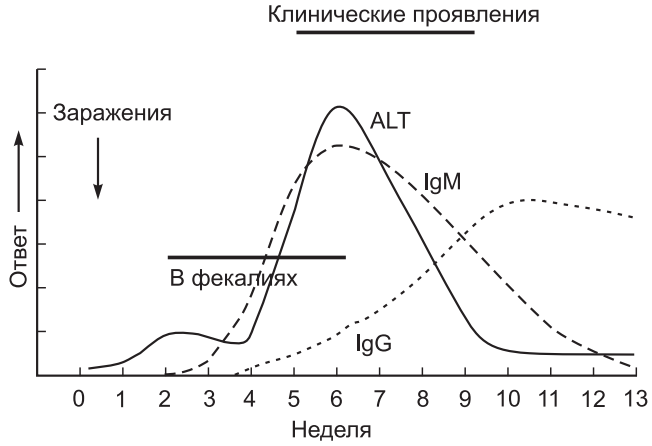


Рис. 1.6. Динамика обнаружения маркеров инфицирования ВГЕ при остром гепатите Е

Антитела класса IgA играют важную роль в патогенезе гепатита Е, обеспечивая защиту организма на слизистых оболочках желудочно-кишечного тракта, препятствуя дальнейшему проникновению ВГЕ в организм человека.

Обнаружение разнообразных маркеров инфицирования ВГЕ значительно расширило современные диагностические возможности. В табл. 1.2 представлен их перечень с возможной интерпретацией результатов исследования.

Таблица 1.2

Специфические маркеры инфицирования вирусом гепатита Е и интерпретация их обнаружения

Маркер инфицирования вирусом гепатита Е	Интерпретация результата
IgM анти-ВГЕ	Острый гепатит Е
IgG анти-ВГЕ (суммарные антитела против ВГЕ)	Перенесенный гепатит Е, защита от гепатита Е
IgA анти-ВГЕ	Перенесенный гепатит Е
Антиген ВГЕ	Репликация вируса
РНК ВГЕ	Репликация вируса

ДИАГНОСТИКА ГЕПАТИТА С

ВГС идентифицирован в 1989 г. американскими исследователями под руководством M. Houghton, когда была выделена нуклеиновая кислота при экспериментальном заражении шимпанзе и в дальнейшем получена ДНК-копия, которую использовали для создания библиотеки клонов. Скрининг образцов из этой библиотеки позволил выявить клон, экспрессирующий антиген, который реагировал с антителами из сывороток людей, больных посттрансфузионным гепатитом «ни А, ни В». Далее был получен рекомбинантный белок, который содержал последовательность из 363 аминокислотных остатков. Эту последовательность обозначили как С-100-3 и использовали в качестве антигена при создании иммуноферментной тест-системы. В результате стало возможным диагностировать гепатит С и начать его всестороннее изучение.

ВГС относится к гепатотропным вирусам, но при этом доказана возможность его внепеченочной репликации, в частности в мононуклеарах крови. Весьма важным свойством этого вируса является способность ускользать из-под иммунного надзора — *immune escape virus*. В основе этой способности лежит перманентное и быстрое изменение антигенной структуры, в результате чего вирус воспроизводит себя не в каком-либо постоянном антигенном варианте, а в целой серии близких, но иммунологически различных штаммов (кажущихся разновидностей — *quasispecies*). В отличие от ВГВ механизм интеграции в геном хозяина ВГС не присущ.

Острый гепатит С, как правило, протекает бессимптомно или с минимальными клиническими проявлениями. 70—80 % больных предъявляют жалобы только на быструю утомляемость и различной степени выраженности слабость, лишь только у 20—30 % больных можно выявить клинически значимые проявления заболевания. Если же имеются признаки желтушного синдрома, то клиническое

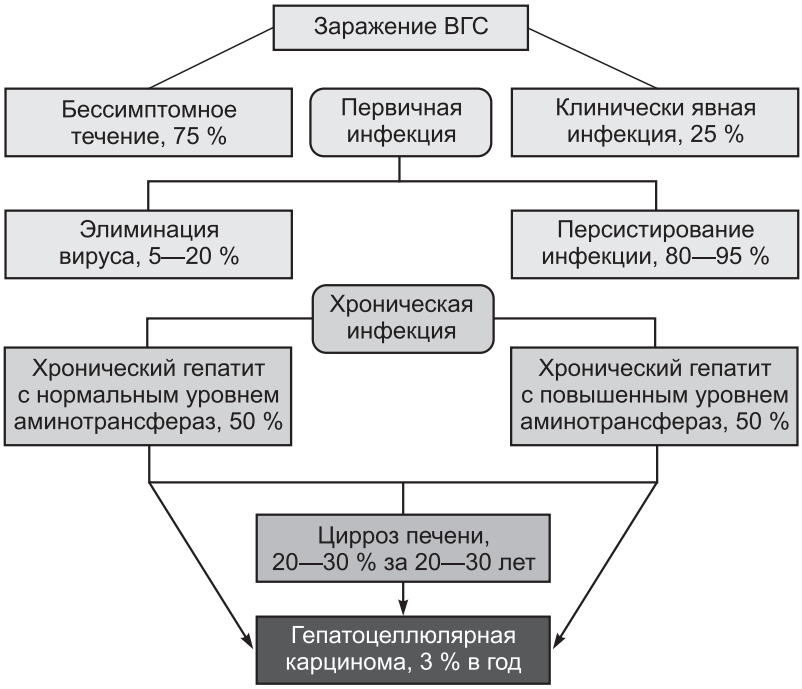


Рис. 1.7. Течение инфекции, обусловленной вирусом гепатита С (цит. по: Garnier L., Inchauspe G., Trepo C., 2002)

течение острого гепатита С, лабораторные биохимические тесты, морфологические изменения в ткани печени ничем не отличаются от других вирусных гепатитов. Уникальной особенностью ВГС является крайне высокая степень развития хронического гепатита С (рис. 1.7). Известно, что в 50—90 % случаев отмечается неспособность организма к спонтанной элиминации инфекции в зависимости от пути передачи, наличия симптомов гепатита, а также возраста, в котором произошло инфицирование.

Учитывая перечисленные особенности клинического течения вирусного гепатита С, само понятие «острый гепатит С» носит скорее символический характер, так как в большинстве случаев инфекция выявляется на хронической стадии заболевания. Условным рубежом, разграничивающим острый и хронический гепатиты С, является срок в 6 мес. от дебюта клинических симптомов.

Только эпидемиологические данные с указанием возможного времени инфицирования анти-HCV после серонегативного периода на фоне персистенции HCV РНК могут достоверно подтвердить диагноз острого гепатита С (рис. 1.8).

Серологическая диагностика гепатита С имеет ряд особенностей. Основным методом является определение антител к вызывающему заболевание вирусу (рис. 1.9). Наибольшее распространение благодаря своей надежности и чувствительности получил иммуноферментный анализ (enzyme immunosorbent assay, ELISA). Существуют три поколения диагностических иммуноферментных систем, которые различаются своей специфичностью.

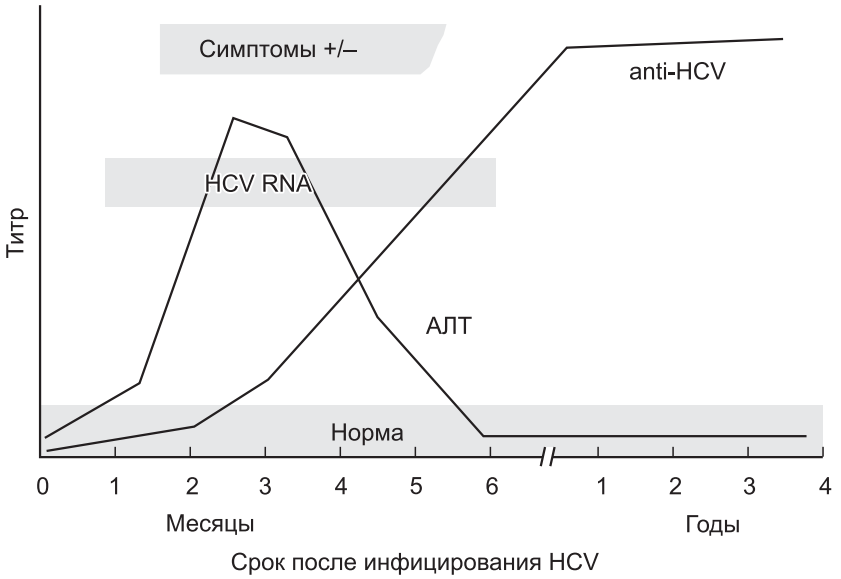


Рис. 1.8. Динамика обнаружения маркеров инфицирования HCV при остром гепатите С с элиминацией вируса

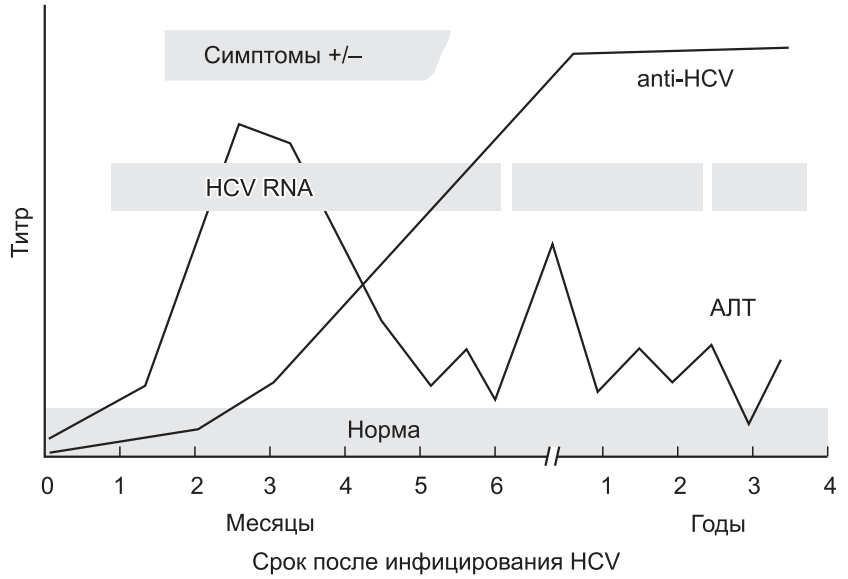


Рис.1.9. Динамика обнаружения маркеров инфицирования HCV при остром гепатите С с хронизацией процесса

Трудности диагностики гепатита С методом ИФА вызваны несколькими причинами:

1) отсутствием активной клиники;
2) очень быстрым изменением вируса по субтипам;
3) присутствием до 20 % HCV в клетках крови;
4) поздним появлением антител против вируса;
5) отсутствием вакцинации.

Необходимо представить структуру ВГС, чтобы понять, с чем связано отсутствие к нему вакцины и трудности лабораторной диагностики.

Геном вируса — одиночная цепь РНК — разделен на зоны, в которых заключена информация о структурных и неструктурных белках (рис. 1.10). Структурная зона представлена следующими участками:

— *core* — кодирует ядерные белки;

— E1 и E2 (*envelop 1* и *envelop 2*, или NS1 — у некоторых авторов) — отвечают за синтез оболочечных белков.

Неструктурная зона также разделена на участки NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A, NS5B, которые содержат информацию о ферментах, определяющих жизнедеятельность вируса.

При детальном молекулярно-генетическом исследовании нуклеиновых последовательностей участка NS5 к настоящему моменту обнаружено 6 вариантов генотипа и большое количество субтипов вируса (номенклатура Simmonds P. [et al.], 1993*)*.

Структурный белок *core* формирует вирусный нуклеокапсид. Он является одним из наиболее иммуногенных белков вируса и индуцирует мощный Т- и В-клеточный ответ. Показано, что в первый месяц острой фазы гепатита С, когда содержание антител незначительно, только количество *core*-белка увеличивается столь же быстро, как и вирусной РНК. Количественный анализ содержания *core*-белка не выявил различий у будущих реконвалесцентов и хронических боль-

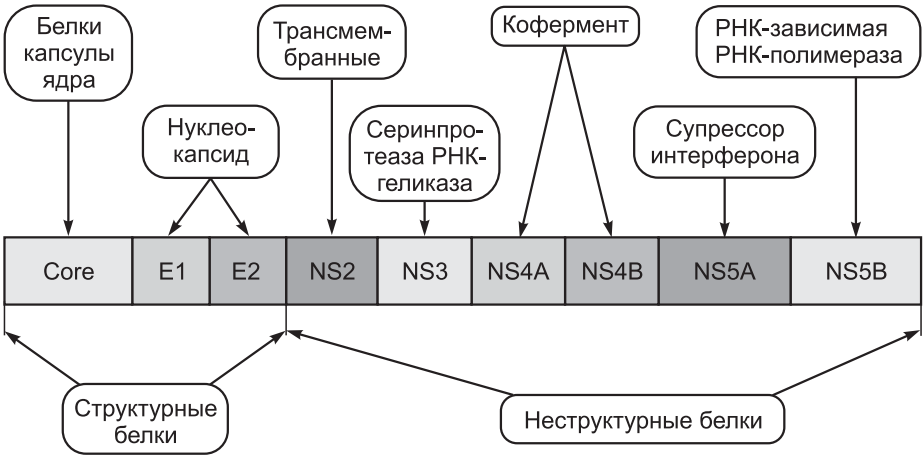


Рис. 1.10. Структура генома вируса гепатита С. Указаны белки вируса, которые кодируются соответствующими участками генома