Возбудитель ВГ В принадлежит к семейству Hepadnaviridae. Его полный вирион - частица Дейна - имеет ядро с кольцевой двухцепочечной молекулой ДНК, окруженное оболочками. Внешняя оболочка состоит из белков, на которых находится HBsAg с альбуминовым рецептором для прикрепления к гепатоцитам. HBsAg синтезируется в цитоплазме гепатоцитов, часть секретируется в межклеточное пространство и циркулирует в крови.

Внутренняя оболочка представлена HBcAg, в состав которого входит HBeAg. В сыворотке крови выявляют свободный HBeAg, отражающий степень вирусной репликации. В геноме вируса определены последовательности ДНК, ответственные за синтез белков и репликацию вируса, которая идет через промежуточное звено - синтез РНК. Гепатоциты не единственные клетки организма, где происходит синтез HBV. Последовательности ДНК и другие белки вируса идентифицированы в клетках почек, поджелудочной железы, костного мозга, мононуклеарах периферической крови, селезенки и лимфатических узлах. Доказано, что вирус может поражать различные системы и органы, но максимальная экспрессия генов HBV, и прежде всего S-гена, осуществляется в печени. ДНК HBV может также интегрироваться в геном гепатоцита. Идея о существовании интегративного компонента при ВГ В принадлежит С. Хиршману и М.В. Жданову. В процессе инфекции может происходить встраивание всего генома вируса или участка, отвечающего за синтез HBsAg, в клеточные гены, что приводит к синтезу вирусных антигенов. Интегрирование в ДНК генома клетки-хозяина позволяет HBV избегать иммунное распознание.

Сложная схема репродукции HBV определяет повышенную возможность ошибок во вновь синтезированных цепях ДНК. Ошибки в Core-, S-, X-, P-генах приводят к возникновению мутантных форм вируса. Они прежде всего выявляются в зоне pre-core и приводят к блокированию синтеза HBeAg. HBeAg-отрицательный мутант выявляется у больных преимущественно в период элиминации HBeAg, когда отмечается наибольшая активность болезни и, несмотря на наличие анти-HBe, в сыворотке тестируется ДНК HBV. Проявление штаммов HBV с мутациями в оболочечных генах приводит к потере иммунокомпетентными клетками способности обнаруживать HBsAg, что позволяет вирусу персистировать в организме, несмотря на наличие анти-HBs. По мере удлинения течения болезни отмечается увеличение процента содержания мутанта, который может полностью и необратимо заменить «дикий» тип. При достижении уровня 20% общей виремии мутантный штамм может оказывать влияние на ответ терапии ИФН-альфа. Появление pre-core мутантов на фоне лечения указывает на неэффективность дальнейшей терапии.

В настоящее время установлены и другие мутации, возникающие при применении ламивудина, фамцикловира, которые локализуются в P-гене (в обратной транскриптазе). Возникновение мутантов изменяет мишень для иммунной системы и позволяет вирусу избегать иммунного надзора и элиминации. Это дает основание по-новому оценивать роль мутантных штаммов в патогенезе ВГ В.

Вирус гепатита С (HCV) открыт в 1989 году методом клонирования ДНК-копии вируса, вызывавшего парентеральный гепатит ни А ни В, у инфицированных шимпанзе. Это первый вирус, идентифицированный на основании расшифровки последовательности нуклеотидов задолго до его электронно-микроскопической визуализации. Токсономически он отнесен к семейству Flaviviridae и выделен в отдельный род hepacivirus. Из-за низкого уровня виремии и отсутствия надежных клеточных культур для накопления вируса структура его изучена недостаточно.

Геном HCV представлен однонитевой позитивной линейной молекулой РНК протяженностью около 9400 нуклеотидов. Он содержит два некодирующих региона и одну большую открытую рамку считывания, кодирующую структурные и неструктурные белки. Гены, кодирующие структурные белки, расположены в 5'-области генома, а неструктурные - в 3'-области. К структурным белкам относятся core, E1 и E2 белки. Core-белок является белком нуклеокапсида, он обладает РНК-связывающей активностью, модулирует транскрипцию и трансляцию некоторых клеточных генов и обладает онкогенным потенциалом. Именно с core-белком связывают выраженность прямого цитопатического эффекта HCV. E1 и E2 белки - гликопротеины внешней оболочки вируса, высоковариабельны, а их С-концевые части гидрофобны и могут принимать участие во взаимодействии с клеточной мембраной. В структурной зоне кодируется также пептид p7, играющий важную роль в высвобождении вириона из инфицированной клетки.

Неструктурная область вирусного генома кодирует 6 белков - NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A и NS5B. Функции NS2 и NS4 предположительно связывают с клеточной мембраной. Кроме того, белок NS2 является вирусной цинк-зависимой протеиназой и вместе с клеточными пептидазами участвует в аутокаталитическом нарезании самого себя из вирусного полипротеина. Белок NS3 - это вирусная протеиназа, играющая важную роль в процессинге вирусных белков. Белок NS4A действует как эффектор или кофактор для NS3, он регулирует фосфорилирование белка NS5A, который обладает функцией репликазы. Имеется ряд доказательств, что от NS5A зависит резистентность к IFN-α, так как в нем выделен регион, участвующий в ингибировании индуцируемой IFN-α протеинкиназы. Белок NS5B является вирусной РНК-зависимой РНК-полимеразой. Согласно современным представлениям, в инфицированной клетке белки NS4A, NS4B, NS5A и NS5B вместе с белком NS3 ассоциируются в некую структуру, которая играет важную роль в вирусной репликации. Высокая консервативность 5′- и 3′- некодирующих регионов и их роль в трансляции и репликации вируса делают их предпочтительными мишенями в развитии генной терапии (противосмысловых олигонуклеотидов, рибозимов). Дальнейшее изучение структуры ферментов HCV (протеиназы, геликазы, РНК-зависимой РНК-полимеразы) будет способствовать созданию ингибиторов их функций.

HCV так же, как и HBV, обладает тропизмом не только к печени, но и другим тканям и органам. Он способен реплицироваться в клетках иммунной системы, включая моноциты/макрофаги и В-клетки. Показано, что инфицированные лимфоидные клетки могут быть причиной заражения здоровой печени при ее трансплантации больному ВГ С. Внепеченочный резервуар инфекции может служить источником реактивации болезни после прекращения интерферонотерапии, а также играть роль в развитии таких патологических процессов иммунной системы, как лимфома В-клеток, смешанная криоглобулинемия.

Вопрос о роли лимфоцитов в развитии ВГ С активно обсуждается. Результаты Mellor J (1998) указывают, что выявление РНК HCV в мононуклеарах периферической крови варьируют в широких пределах - от 24% до 100% обследованных. По оценке B.Muratori доля инфицированных клеток крови составляет всего 0,2-8,1%. Мнение авторов о количественной оценке РНК HCV в крови при стандартных исследованиях плазмы или сыворотки тоже противоречиво. Одни авторы считают, что количество РНК в сыворотке более точно отражает уровень репликации вируса в печени, поскольку этот показатель представляет вирусные частицы, собранные и активно экспортированные из гепатоцитов. Другие указывают на то, что значительное количество вируса может адсорбироваться на поверхности клеток и входить в состав циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) и уходить в осадок, становясь недоступным для определения. При низких титрах внутрипеченочной РНК может наблюдаться активный вирусный гепатит. Несоответствие

между количеством выявленных геномной и репликативной форм РНК в печени и уровнем виремии объясняется элиминацией вируса (с помощью специфических антител); поступлением HCV в периферическую кровь не только из печени, но и из других органов и тканей; нарушением процесса высвобождения вируса из клеток печени под действием лекарственных средств.

Одной из важнейших особенностей генома HCV является его выраженная гетерогеность, обусловленная высоким уровнем репродукции и частотой возникновения ошибок при репликации. Скорость продукции вирусных частиц достигает 10^{11}-10^{12} в сутки с периодом полужизни вирусных частиц 2,2-7,2ч, тогда как при HBV он составляет 26,4ч. Подверженность мутациям отдельных участков генома различна, наиболее вариабельными являются нуклеотиды внешней оболочки E2 и E1. Подобная мультивариантность HCV приводит к постоянному состязанию между образованием новых антигенных вариантов и продукцией нейтрализующих антител, что обеспечивает "ускользание" из-под иммунологического надзора, а также формирование резистентности к противовирусным препаратам и персистенцию HCV.

В литературе обсуждается проблема о том, что у больных, инфицированных HCV генотипом 1b, наблюдалось более тяжелое течение болезни с большей вероятностью развития рецидивов и цирроза печени, а также меньшая эффективность интерферонотерапии. Но однозначного ответа по этому вопросу не получено и требуется дальнейшее его изучение.

При ВГ С не регистрируются интегративные формы. HCV, генетическим материалом является РНК, вирус не способен к интеграции в геном инфицированных гепатоцитов. Однако недавнее открытие комплементарной ДНК РНК-содержащего вируса LCMV позволяет предположить возможность использования данного механизма и HCV.

Установлены географические различия в распространении разных генотипов. Так, в Японии, на Тайване, частично в Китае, регистрируются преимущественно генотипы 1b, 2a, 2b, тип 1b даже называют "японским". Генотип 1a называют "американским", но он превалирует и в странах Северной Европы, а в Южной Европе заметно возрастает доля генотипа 1b.

В России у взрослых чаще регистрируется генотип 1b (69,6%), далее с убывающей частотой - 3a, 1a, 2a. В Санкт-Петербурге практически с одинаковой частотой выявляются генотипы 3a и 1a (33,3% и 31%), чуть реже - 1b (21,4%) и существенно реже 2a (2,2%). У одного и того же пациента могут выявляться различные генотипы HCV (обычно это больные гемофилией и пациенты, которым многократно проводились переливания крови и кровезаменителей). У больных, инфицированных HCV генотипа 1b, наблюдается тяжелое течение болезни с большей вероятностью развития рецидивов и цирроза печени, а также меньшая эффективность лечения. Однако последние исследования указывают на то, что все выделенные генотипы потенциально способны вызывать тяжелые формы заболевания, а сам по себе генотип не может служить решающим фактором в определении эффективности терапии.

Диагноз устанавливается при наличии серологических маркеров к вирусам гепатитов В и С и при отрицательных результатах определения маркеров вирусного гепатита А (antiHAVIgM) и (antiHDVIgM) с помощью тест-систем различных производителей.

Особенностями диагностики смешанной инфекции (HBV+HCV) является более чем двухкратное снижение частоты обнаружения серологических и молекулярно-генетических

маркеров обеих инфекций, как в крови, так и в ткани печени, вследствие взаимного подавляющего влияния вирусов и высокая частота (до 100%) одновременного обнаружения ядерного протеина вируса гепатита В и третьего неструктурного протеина вируса гепатита С в печени иммуногистохимическим методом.

Метод полимеразной цепной реакции (PCR)

В России внедрен способ обнаружения вирусов и бактерий в организме человека - метод полимеразной цепной реакции (PCR), который обладает высокой чувствительностью и специфичностью.

Идея открытия метода PCR принадлежит К. Б. Мюллису, который предложил процесс получения копии генов в неограниченных количествах в одной пробирке и назвал его полимеразной цепной реакцией (1983), с тех пор произошли существенные усовершенствования PCR - технологии.

В настоящее время PCR представляет собой процесс, протекающий в одной пробирке и состоящий из повторных циклов амплификации (размножения, копирования) специфической последовательности молекулы ДНК с целью получения достаточно большого количества копий, которые могут быть выявлены обычными методами детекции.

Одним из существующих приемуществ PCR является высокая чувствительность; возможности, заложенные в PCR - анализе, позволяют достичь непревзойденной аналитической специфичности, показывающей отсутствие перекрестных реакций.

К перечню достоинств PCR - диагностики относятся: предельно высокая чувствительность: от нескольких копий до одного возбудителя в пробе; специфичность метода равна 100% ; для PCR - диагностики пригоден любой материал, в т. ч. и гистологические препараты; метод позволяет контролировать виремию (бактеремию) в процессе лечения; простота использования и возможность автоматизации; результат получают в течение одного рабочего дня.

Таким образом, PCR открывает возможность быстрого синтеза миллионов копий индивидуальной последовательности ДНК, в результате цепной амплификации образуются идентичные фрагменты специфичной ДНК, сразу осуществляется клонирование и/или секвенирование продуктов реакции. Матрицей для PCR - амплификации служит как геномная ДНК, таки ДНК, синтезированная путем обратной транскрипции РНК. Чувствительность метода позволяет обнаружить и амплифицировать единственную молекулу ДНК.