

УДК 616.36-002-15-07

## МЕТОД ПОЛІМЕРАЗНОЇ ЛАНЦЮГОВОЇ РЕАКЦІЇ ТА ДИФЕРЕНЦІЙНА ДІАГНОСТИКА ХРОНІЧНИХ ГЕПАТИТІВ

Козлова Н.В.

Луганський державний медичний університет, м. Луганськ

**Ключові слова:** хронічний гепатит, диференційний діагноз, полімеразна ланцюгова реакція

**Вступ.** Хронічний гепатит (ХГ) – етіологічно гетерогенне захворювання, яке може бути викликано вірусами (В, С, D та ін.), аутоімунними процесами, впливом лікарських засобів, метаболічними порушеннями [3]. Діагностика хронічного гепатиту базується на клінічних, епідеміологічних, лабораторних та інструментальних даних. Лабораторні дослідження при хронічному гепатиті включають специфічні, морфологічні і біохімічні методи [2]. Дані клінічних досліджень показують, що трактування результатів визначення аланінамінотрансферази у хворих на хронічні гепатити є досить складним. Як відзначають деякі автори, дослідження аланінамінотрансферази а також співвідношення аспартатамінотрансферази до аланінамінотрансферази (АсАТ/АлАТ) може бути використане як неінвазивний метод оцінки ушкодження печінки – ступеня активності патологічного процесу, розвитку фіброзу і цирозу [7]. Інші вказують на відсутність вірогідної кореляції між показниками АлАТ та гістологічними даними. Однак, у крові донорів, ідентифікованих як хронічні носії вірусу С, РНК вірусу виявлялося частіше при підвищених рівнях трансамінази, ніж при нормальних [6]. Як відзначають ряд авторів, нормальний рівень трансферази припускає наявність більш легких форм гепатиту. Таким чином, викликає інтерес дослідження маркерів вірусних гепатитів та їх співвідношення з рівнем АлАТ.

Для виявлення вірусної інфекції в крові широко використовується метод імуноферментної діагностики. Так, скринінг-тестом для визначення вірусу гепатиту С є анти-НСV, для вірусного гепатиту В – HBsAg, анти-НВс, які вказують лише на наявність інфекції і не дозволяють судити про активність процесу (реплікації вірусу) а також про перебіг захворювання [5, 7, 12]. У численних дослідженнях, проведених останнім часом, не виявлено кореляції між наявністю антитіл до тих чи інших білків вірусу та стадією захворювання, перебігом процесу та життєвим циклом вірусу, отже виявлення антитіл не має прогностичної цінності [11].

Багато питань, на які не дає відповіді імуноферментний аналіз, можуть бути вирішені завдяки впровадженню сучасного методу полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) для діагностики вірусних ушкоджень печінкової паренхіми [3, 4, 10]. ПЛР є найбільш досконалим діагностичним методом для етіологічної розшифровки вірусних гепатитів [1, 8, 13].

**Мета дослідження:** вивчити у хворих на хронічний гепатит частоту виявлення різних маркерів вірусної інфекції, їх співвідношення з клінічною картиною захворювання та активністю патологічного процесу.

**Матеріали та методи.** Обстежено 98 хворих (чоловіків -89, жінок -9); вік хворих - від 20 до 59 років; тривалість захворювання - від 2 до 7 років. Діагноз хронічного гепатиту встановлювали на підставі анамнезу, об'єктивного обстеження, комплексу лабораторних та інструментальних методів дослідження. Для уточнення етіології хронічного гепатиту у всіх обстежених було проведено вивчення сироватки крові на наявність маркерів вірусних гепатитів В (HBsAg і анти-НВс), С (анти-НСV) та D (анти-НДV) за допомогою імуноферментного аналізу (ІФА), визначення ДНА HBV, RNA HCV за допомогою полімеразної ланцюгової реакції. У хворих перебіг хронічного гепатиту характеризувався мінімальним – 40 чоловік (40,8%), середнім – 45 чоловік (45,9%) і вираженим - 14 (14,2%) ступенем активності патологічного процесу. Комплексне використання імуноферментного аналізу і методу полімеразної ланцюгової реакції дозволило провести диференційну діагностику хронічного гепатиту вірусної та невірусної етіології.

**Результати та їх обговорення.** Хронічний гепатит вірусної етіології був діагностований у 51 пацієнта (52,0%), з них маркери вірусного гепатиту В (ВГВ) були виявлені у 25 пацієнтів (49,0%), вірусного гепатиту С – у 19 (37,3%), ураження вірусами гепатиту В та С було

документовано у 5 хворих (9,8%), В та D – у 2 (3,9%) (рис. 1).

Встановлено, що хворі, які страждали на хронічний гепатит С (ГС), були вірогідно молодшими, ніж у групах пацієнтів з іншою етіологією даного захворювання. Наявність вірусу В та С у сироватці крові визначали у осіб, які мали в анамнезі вживання наркотиків. Посилання на гемотрансфузії удалося встановити у 5 пацієнтів.

Хронічний гепатит невірусної етіології був встановлений у 47 пацієнтів (48%), з них: хронічний токсичний гепатит у 35 хворих (74,5%); пов'язаний зі вживанням алкоголю у 9 (19,1%) хворих; з тривалим вживанням лікарських засобів у 10 (21,3%); пострадіаційний у 16 (34,0%) хворих.

Хронічний криптогенний гепатит діагностовано у 12 (25,5%) чоловік. При

дослідженні причин розвитку хронічного ураження печінки було встановлено, що 7 пацієнтів страждали впродовж останніх 3-7 років патологією гастродуоденальної системи (хронічний гастрит, пептична виразка 12-палої кишки, гастродуоденіт), у 5 пацієнтів чинники розвитку хронічного гепатиту встановити було неможливо.

При хронічному гепатиті В – HBs Ag був виявлений у всіх пацієнтів (25 хворих), при цьому анти-HBc визначалися тільки у 12 (48%) хворих. При дослідженні сироватки хворих за допомогою ПЛР, ДНК вірусного гепатиту В була визначена у 19 пацієнтів, що вказувало на реплікативну форму вірусної інфекції у даних хворих.

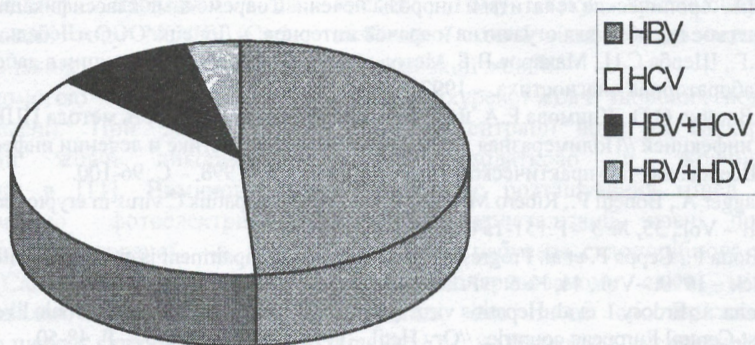


Рис. 1. Частота виявлення маркерів вірусу В, С і D у хворих на хронічний гепатит

У 11 хворих на хронічний гепатит у крові виявлено анти-HCV та відзначався підвищений рівень аланінамінотрансферази. Проте, RNA HCV у крові були визначені за допомогою ПЛР у 19 пацієнтів. Таким чином, 8 пацієнтів були серонегативні, що вірогідно може бути пов'язано з імунodefіцітним станом, мікст-ураженням та ін. У 3 із 8 серонегативних пацієнтів рівень трансаміназ не відхилявся від такого у практично здорових осіб.

Становлять особливий інтерес дані про ураження печінкової паренхіми декількома видами вірусної інфекції, що обумовлено більш важким перебігом захворювання, труднощами у діагностиці. Відомо, що з вірусом гепатиту В тісно асоційований дефектний вірус гепатиту D, маркерами якого є антитіла до дельта-антигену, які циркулюють в периферичній крові. Ураження вірусами гепатиту В та D було діагностовано у 2 пацієнтів.

У групі було 6 пацієнтів, у сироватці яких ДНК HBV не була виявлена, у 3 із них при відсутності ДНК вірусу були виявлені антигени HBV і антитіла до них. Ці випадки відносилися до мікст-інфекцій, коли поряд з маркерами HBV у пацієнтів виявлялися як РНК HCV, так і антигени й антитіла до гепатиту С. Вищенаведені дані відповідають даним літератури, які свідчать, що активна реплікація вірусу С здатна пригнічувати

реплікацію вірусу гепатиту В, внаслідок чого ДНК HBV у крові відсутні, або їх кількість знижується до рівня, який не визначається за допомогою ПЛР [9].

У групі хворих на хронічний гепатит вірусної етіології була діагностована мінімальна активність патологічного процесу у 20 пацієнтів (39,2%) – HBV інфекція була документована у 75,0% хворих, HCV – у 25,0%. У групі хворих із середньою активністю патологічного процесу 25 хворих (49,0%) HBV інфекція була виявлена у 36% хворих, HCV – у 48%, HBV/HCV – 12% і HBV/HDV – у 4% пацієнтів. У групі з максимальною активністю (7 хворих – 13,7%) HBV інфекція документована у 14,3%, HCV – 28,6%, HBV/HCV та HBV/HDV – у 42,9% і 14,3% пацієнтів відповідно.

У обстеженій групі хворих клінічно хронічний гепатит характеризувався наявністю астеничного, диспепсичного, абдомінального, больового, вегето-дистонічного, суглобового, гарячкового, жовтяничного синдромів. Для хронічного вірусного гепатиту В у досліджених хворих була більш характерна наявність гепатомегалії, больового, диспепсичного синдромів. Для перебігу хронічного гепатиту В був характерний прямий кореляційний зв'язок між активністю патологічного процесу в печінці та клінічною картиною захворювання. Перебіг хронічного

гепатиту С характеризувався перевагою у хворих астеничного, вегето-дистонічного, суглобового синдромів. Для цих хворих був більш характерним середній ступінь активності процесу. Перебіг мікст-інфекції (HBV+HCV і HBV+HDV) характеризувався наявністю в тій чи іншій мірі усіх клінічних синдромів та вираженим ступенем активності процесу. У групі пацієнтів на хронічний криптогенний гепатит найбільше було хворих з мінімальним ступенем активності патологічного процесу. У клінічній картині

переважали нечітко виражені больовий, диспепсичний синдроми.

**Висновок.** Таким чином, поєднання традиційних (імуноферментна діагностика) та сучасних молекулярно-біологічних методів, таких як полімеразна ланцюгова реакція, дозволяє проводити диференційну діагностику хронічних уражень печінки та більш точно встановлювати наявність вірусної інфекції печінки з етіологічно розшифрованою кожного конкретного випадку. Подібний підхід є актуальним для виявлення серонегативних пацієнтів, мікст-інфекцій.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Антоненко С.В., Кравченко О.Н., Петренко Е.В. Метод полимеразной цепной реакции: применение в диагностике инфекционных болезней, проблемы, перспективы //Лабораторная диагностика. – 1999. – № 3(9). – С. 21-25.
2. Громашевская Л.Л. Биохимические исследования при гепатите С: решенные и нерешенные вопросы //Лаб. диагностика. – 1998. – № 3. С. 3 – 9.
3. Губергриц Н.Б. Хронические гепатиты и циррозы печени. Современные классификация, диагностика и лечение. Учебно-методическое пособие для студентов и врачей интернов. – Донецк: ООО «Лебедь», 1998. – 68 с.
4. Дубинина И.Г., Щерба С.Н., Макаров В.Б. Метод полимеразной цепной реакции в лабораторной практике //Клиническая лабораторная диагностика. – 1997. – № 7. – С. 4-6.
5. Ющук Н.Д., Знойко О.О., Климова Е.А. и др. Диагностическая значимость метода ПЦР при обследовании больных с HCV инфекцией //Полимеразная цепная реакция в диагностике и лечении инфекционных заболеваний: Материалы 2-й Всерос. научно-практической конференции. – М., 1998. – С. 96-100.
6. Diodati G., Tagger A., Bonetti P., Ribero M.L. et al. Antibody to hepatitis C virus in cryptogenic chronic liver disease. //J. Med. Virol.- 1991. – Vol., 35, № 3 – P.151-154.
7. Giannini E., Botta F., Ceppa P. et al. Progressive liver functional impairment is associated with an increase in AST/ALT ratio //Dig. Dis. Sci. – 1999. –Vol., 44, № 6. – P.1249-1253.
8. Par A., Luminita S., Erdosy I. et al. Hepatitis virus (HBV, HCV, HDV) markers in chronic liver diseases. Comparative studies in two East-Central European countries //Orv Hetil. –1992. – Vol.5, № 133. – P. 48-50.
9. Peter J. Polymerase chain reaction – improvement our potentials //Rev. Infect.Dis. – 1991. – Vol. 13. – P. 166-171.
10. Pontisso P. et al. Clinical and virological profiles in patients with multiple hepatitis virus infections// Gastroenterology.- 1993.- Vol. 105.- P. 1529-1533.
11. Weiner A.J., Shyamala V., Hall J.E. et al. Diagnosis of human viruses by polymerase chain reaction technology / Eds. Y.Becker, G.Darai. – Berlin, 1992. – P.86-100.
12. Yoshikura H., Hijikata M., Shimiw Y. Viral hepatitis and liver disease /Eds.K. Nisioka, H. Suzuki, S.Mishiro, T. Oda.- Tokio, 1994. – P. 101-103.
13. Yun-Fan Liaw Role of hepatitis C virus in dual and triple hepatitis virus infection// Hepatology.- 1995.- Vol. 22, № 4.- P. 1101-1108.

## SUMMARY

### THE METHOD OF POLYMERASE CHAIN REACTION AND THE DIFFERENTIAL DIAGNOSIS OF CHRONIC HEPATITIS

**Kozlova N.V.**

In this paper the possibilities of the use of polymerase chain reaction method in differential diagnosis of chronic hepatitis is being viewed. Polymerase chain reaction helps us to establish the presence of virus infection within serum-negative patients, the presence of viremia within the patients having the normal transaminase level, the determination of the virus infection phase, the presence of mixed infections. These are the reasons why the use of PCR-analysis in clinical practice is the obligatory condition for examining and diagnosis of chronic hepatitis etiology.

**Key words:** chronic hepatitis, differential diagnosis, polymerase chain reaction