

БЕЛОК CORE+1/F ВИРУСА ГЕПАТИТА С – ВОЗМОЖНЫЙ ФАКТОР ПРОГРЕССИРОВАНИЯ ХРОНИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА

© 2018 г. **Е. В. Личная^{1*}, М. А. Белопольская^{2,3}, В. А. Ковалева⁴,
Е. В. Эсауленко¹, О. В. Калинина^{1,5,6}**

*E-mail: evlichnaia@gmail.com

¹ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера», Санкт-Петербург, Россия;

²СПбГБУЗ «Клиническая инфекционная больница им. С. П. Боткина», Санкт-Петербург, Россия;

³ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия;

⁴Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И. П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия;

⁵ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова», Санкт-Петербург, Россия;

⁶Санкт-Петербургский государственный технологический институт «Технический университет», Санкт-Петербург, Россия

В работе представлены результаты исследования 105 образцов сыворотки крови больных ХГС, инфицированных субтипами вируса гепатита С (ВГС) 1b и 3a, на наличие антител к белку core+1/F. Полученные данные свидетельствуют об экспрессии белка core+1/F ВГС в ходе естественного течения гепатита С (ГС). Антитела к белку core+1/F ВГС определялись в образцах сыворотки крови больных хроническим гепатитом С (ХГС) независимо от степени выраженности фиброза и субтипа ВГС.

Ключевые слова: вирус гепатита С, хронический гепатит С, цирроз печени, белок core+1/F, ИФА

DOI: 10.31857/S102872210002640-9

Авторы:

Личная Е. В., м.н.с. лаборатории вирусных гепатитов ФБУН «Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера», Санкт-Петербург, Россия;

Белопольская М. А., к.м.н., врач-инфекционист СПбГБУЗ «Клиническая инфекционная больница имени С. П. Боткина»; н.с. ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия;

Ковалева В. А., к.м.н., ассистент кафедры инфекционных болезней и эпидемиологии ПСПбГМУ им. акад. И. П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия;

Эсауленко Е. В., д.м.н., профессор, заведующая лабораторией вирусных гепатитов ФБУН «Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера», Санкт-Петербург, Россия;

Калинина О. В., д.б.н., в.н.с. лаборатории молекулярной эпидемиологии и эволюционной генетики ФБУН «Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера»; профессор кафедры медицинской диагностики и генетики ФГБУ «НМИЦ имени В. А. Алмазова»; профессор кафедры молекулярной биотехнологии Санкт-Петербургского государственного технологического института (Технический университет), Санкт-Петербург, Россия.

Введение. Вирусный гепатит С (ГС) повсеместно распространенное инфекционное заболевание с гемоконтактным путем передачи. В большинстве случаев при остром вирусном

ГС полной элиминации вируса не происходит, что приводит к формированию хронической формы. В основе длительной персистенции вируса гепатита С (ВГС) лежит высокая генетическая вариабельность, обеспечивающая постоянное обновление генетической и антигенной структур вируса, а также несостоятельность иммунной системы при данном инфекционном процессе. Длительное латентное течение заболевания приводит к постепенному формированию фиброза печени, с высоким риском развития цирроза печени и/или гепатоцеллюлярной карциномы (ГЦК). Однако скорость развития фиброза печени у разных больных, инфицированных ВГС, неодинакова.

В настоящее время рассматривается роль белка core+1 или F (frameshift) ВГС, который синтезируется с дополнительной рамки считывания в области core гена независимо от генотипа вируса, в прогрессировании заболевания. Возможная роль белка core+1/F в патогенезе вирусного ГС остается до конца не ясной [1]. В ряде исследований было выявлено наличие иммунного ответа к данному белку у 25% боль-

ных хроническим гепатитом С (ХГС) [2, 3]. Среди больных ХГС с циррозом и/или ГЦК антитела к белку выявляются у 50% [4].

Цель работы — оценить взаимосвязь между наличием антител к белку core+1/F ВГС в образцах сыворотке крови больных ХГС и степенью выраженности фиброза печени.

Материалы и методы. Исследованы образцы сыворотки крови от 105 больных ХГС, наблюдавшихся в Клинической инфекционной больнице имени С. П. Боткина (Санкт-Петербург), средний возраст составил $39,49 \pm 1,86$ лет. Критерии исключения больных из исследования: возраст младше 18 лет; пациенты, получавшие противовирусную терапию (ПВТ); наличие ВИЧ-инфекции и маркеров других острых и хронических вирусных гепатитов; аутоиммунный гепатит; тяжелая соматическая патология.

Стадию фиброза печени оценивали методом непрямой эластографии на аппарате FibroScan® Echosens (Франция). Для определения стадии фиброза по шкале METAVIR от F0 до F4 использовались интервалы, утвержденные производителем.

Наличие суммарных антител (IgG и IgM) к ВГС в сыворотке крови подтверждали с использованием тест-систем «ИФА-АНТИ-НСV», «ДС-ИФА-АНТИ-НСV-СПЕКТР-ГМ» (ООО «НПО «Диагностические системы», г. Нижний Новгород). РНК ВГС выделяли из клинического материала, используя набор «АмплиПраймРибо-преп» (ФБУН ЦНИИЭ, г. Москва) согласно инструкции производителя. Генотип ВГС определяли с помощью набора реагентов для ОТ-ПЦР-диагностики в режиме реального времени «АмплиСенс® НCV-генотип-FL» вариант 1–6 (ФБУН ЦНИИЭ, г. Москва). Антитела к белку core+1/F ВГС выявляли методом иммуноферментного анализа (ИФА) «in-house» с использованием синтетического пептида в качестве антигена в составе иммуносорбента, как описано ранее [5]. Положительными считали образцы, коэффициент позитивности (КП) которых был выше 2,0.

Для оценки статистической значимости отличий между группами для качественных признаков применялся критерий χ^2 . Статистически достоверными считались отличия при $p < 0,05$.

Результаты. По результатам генотипирования ВГС исследуемые больные ХГС были инфицированы двумя субтипами: 1b — 40% (n=42), 3a — 60% (n=63). Фиброз печени F0-F1 регистрировался у 68,57% (n=72) больных ХГС. Не-

смотря на то, что группы с фиброзом F2, F3, F4 были малочисленными, анализ данных проводили в каждой группе отдельно. ХГС протекал без биохимической активности в 33,3% случаев, с минимальной — в 40,4%, с умеренной — в 26,3% случаев.

Методом ИФА выявлены антитела к белку core+1/F у 27 (25,71%) больных ХГС (субтип 1b — 12; субтип 3a — 15). У больных ХГС, инфицированных субтипом ВГС 1b, антитела к белку core+1/F определялись при фиброзе F0-F1 в 24,1%, F2 — 50,0%, F3 — 33,3%, F4 — 25,0%; у больных ХГС, инфицированных субтипом ВГС 3a: при F0-F1 в 20,9%, F2 — в 18,2%, F3 — в 25,0%, F4 — в 60,0%. При анализе наличия антител к белку core+1/F с разной степенью фиброза печени у больных ХГС, инфицированных субтипами 1b и 3a, достоверных различий не выявлено ($p=0,6397$ и $p=0,2612$ соответственно).

При сборе анамнеза установлена предполагаемая продолжительность инфицирования ХГС: менее 3 лет — у 22 больных, от 3 до 8 лет — у 35, более 8 лет — у 42. Статистически значимых различий между наличием антител к белку core+1/F и продолжительностью заболевания не выявлено ($p=0,1070$).

Заключение. Полученные нами данные свидетельствуют о наличии иммунного ответа на белок core+1/F ВГС у больных ХГС *in vivo*. Антитела к белку core+1/F ВГС определялись в образцах сыворотки крови у больных ХГС с разной степенью выраженности фиброза независимо от генотипа, что коррелирует с результатами ряда исследований.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ/REFERENCES

1. Калинина О. В., Дмитриев А. В. Структурно-функциональная организация генома и жизненный цикл вируса гепатита С. Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 2015; 2: 9–12. [Kalinina O. V., Dmitriev A. V. Structural and functional genome organization and life cycle of hepatitis C virus. Molekulyarnaya genetika, mikrobiologiya i virusologiya. 2015; 2: 9–12. (in Russ.)].
2. Vassilaki N., Mavromara P. Two alternative translation mechanisms are responsible for the expression of the HCV ARFP/F/core+1 coding open reading frame. J. Biol. Chem. 2003; 278: 40503–13.
3. Kotta-Loizou I., Vassilaki N., Pissas G., Bakiri L., Bartenschlager R., Mavromara P. Expression of the Novel Hepatitis C Virus Core1/ARF Protein in the Context of JFH1-Based Replicons. J. Virol. 2015; 89 (9):5164–70.
4. Dalagiorgou G., Vassilaki N., Foka P., Boumlic A., Kakkanas A., Kochlios E. et al. High levels of HCV core+1 antibodies in HCV patients with hepatocellular carcinoma. J. Gen. Virol. 2011; 92 (6): 1343–51.

5. Личная Е. В., Климашевская С. В., Обрядина А. П., Вербов В. Н., Белопольская М. А., Эсауленко Е. В., Калинина О. В. Определение антител к белку F вируса гепатита С методом иммуноферментного анализа с использованием синтетического пептида. Клиническая лабораторная диагностика. 2018; 63(3): DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-3-183-186>. [Lichnaia E. V., Klimashevskaya S. V., Obryadina A. P., Verbov V. N., Belopolskaya M. A., Esaulenko E. V., Kalinina O. V. The detection of antibodies to hcv f protein with immune enzyme analysis using synthetic peptide. Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostic) 2018; 63(3): 183–186. (in Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-3-183-186>].

HEPATITIS C VIRUS CORE+1/F PROTEIN AS A POSSIBLE FACTOR IN THE PROGRESSION OF CHRONIC PROCESS

© 2018 E. V. Lichnaia^{1*}, M. A. Belopolskaya^{2,3}, V. A. Kovaleva⁴,
E. V. Esaulenko¹, O. V. Kalinina^{1,5,6}

*E-mail: evlichnaia@gmail.com

¹Saint-Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russia;

²Botkin Infectious Diseases Hospital, St. Petersburg, Russia;

³Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russia;

⁴Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Saint-Petersburg, Russia;

⁵Almazov National Medical Research Centre, St. Petersburg, Russia;

⁶State Institute of technology (Technical University), St. Petersburg, Russia

The study presents the results of a research of 105 serum samples from patients infected with HCV subtypes 1b and 3a for the presence of antibodies to the core+1/F protein. The obtained data show expression of the HCV core+1/F protein in the natural course of hepatitis C. Antibodies to the HCV core+1/F protein were detected in serum samples of patients with HCV, regardless of the severity of fibrosis and HCV subtype.

Key words: hepatitis C virus, chronic hepatitis C, cirrhosis, core+1/F protein, ELISA

Authors:

Lichnaia E. V., ✉ junior research associate, Laboratory of viral hepatitis Saint-Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russia; E-mail: evlichnaia@gmail.com;

Belopolskaya M. A., PhD, infectious disease physician Botkin Infectious Diseases Hospital, St. Petersburg, Russia; researcher Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russia;

Kovaleva V. A., PhD, assistant Infectious Diseases and Epidemiology Department Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Saint-Petersburg, Russia;

Esaulenko E. V., DrSci (Medicine), Professor, Head of Laboratory of Viral Hepatitis Saint-Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russia;

Kalinina O. V., DrSci (Biology), Leading researcher Laboratory of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics Saint-Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russia; Professor Medical Diagnostics and Genetics Department Almazov National Medical Research Centre, St. Petersburg, Russia; Professor Molecular Biotechnology Department State Institute of technology (Technical University), St. Petersburg, Russia.