

УДК 616.3

Академик АН Республики Таджикистан Г.К.Мироджов,

М.И.Саттарова, Р.И.Одинаев, М.С.Юнусов, С.А.Иноятова

РОЛЬ СТРУКТУРНОГО И НЕСТРУКТУРНЫХ БЕЛКОВ ВИРУСА С В РАЗВИТИИ ХРОНИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА

Основным структурным белком вируса гепатита С является core-протеин, который обладает РНК-связывающей активностью и образует нуклеокаспид вируса [1]. Именно с этим структурным белком связывают прямое цитопатическое действие вируса С на печеночную клетку. Одновременно с этим показано, что данный белок обладает онкогенным эффектом. В эксперименте было установлено, что core-протеин вируса гепатита С подавляет процесс апоптоза и тем самым способствует развитию опухолевого процесса. Однако до настоящего времени все еще не выяснено, коррелирует ли наличие core-протеина с уровнем РНК и различных генотипов вируса.

К неструктурным белкам вируса гепатита С, которые принимают важное участие в процессе его репликации, относятся: NS₂, NS₃, NS_{4A}, NS_{4B}, NS_{5A}, и NS_{5B} [2]. Неструктурный белок NS₂ является цинк-зависимой протеиназой, а NS₃ - серин-протеиназой, участвующей в сборке вириона. Функция NS₄ недостаточно известна, хотя предполагается, что этот белок участвует в качестве Ко-фактора для NS₃ серин-протеазы [3]. Достаточно хорошо выяснена функция белка NS_{5A}. Прежде всего показано, что данный белок является РНК-зависимой РНК-полимеразой - ферментом, который крайне необходим для синтеза вирусной РНК, т.е. репликации вируса С [4]. Рядом авторов [4, 5] установлено, что NS_{5A} подавляет активность интерферона. G. Reyes (2002) показал, что NS_{5A} ингибирует процесс апоптоза и тем самым становится фактором канцерогенеза.

Вместе с тем до настоящего времени не проводились сравнительные исследования на наличия анти-NS₅, РНК вируса, его генотипов в сыворотке крови и структурных изменений печени больных хроническим гепатитом вируса С.

Целью настоящего исследования является выяснение роли структурного и неструктурных белков вируса гепатита С в патогенезе хронического гепатита.

Материалом исследования служили результаты исследования антител к core-протеину, неструктурным белкам NS₃, NS₄ NS₅, а также уровня РНК вируса С у 284 больных хроническим гепатитом. У 15 больных проведена пункционная биопсия печени. Антитела к

структурному и неструктурным белкам вируса С определяли иммуноферментным анализом, а уровень РНК вируса С и его генотипов методом ПЦР*.

Установлено, что наличие анти-HCV в сыворотке крови сопровождается различной степенью виремии. Из 284 больных хроническим гепатитом вируса С высокая виремия (более 100 тыс. копий/мл) обнаружена у 172, а низкая (30 тыс. копий/мл) – у 112 пациентов. Антитела к core-протеину были выявлены у всех 172 (100%) больных с высокой и у 21 (18.8%) с низкой виремией. Эти данные свидетельствуют о том, что антитела к core-протеину не всегда коррелируют с наличием РНК вируса в периферической крови. При низкой концентрации РНК антитела к core-протеину образуются крайне редко.

При изучении антител к неструктурным белкам выявлена следующая картина. Из 172 больных с высокой виремией антитела к NS₃ были обнаружены у 137 (79.6%), а у пациентов с низкой виремией эти антитела выявлялись у 79 (72.3%) из 112. Аналогичная картина была установлена также при изучении антител к NS₄. Из 172 больных с высокой виремией антитела к NS₄ были обнаружены у 126 (73.2%), а из 112 - с низкой – у 81 (72.3%).

Итак, уровень антител к неструктурным белкам NS₃ и NS₄ вируса С не коррелирует с его активной репликацией. Совершенно другая картина наблюдается при исследовании наличия антител к неструктурному белку NS₅. Из 172 больных с высокой репликаций вируса С антитела к неструктурному белку NS₅ были выявлены у 143 (82.5%), а при низкой виремии из 112 – у 46 (41.1%) (табл. 1).

Таблица 1

Наличие анти-core и антител к неструктурным белкам в сыворотке крови больных ХГС с различной степенью виремии

Степень виремии	Всего больных	IgM-к core-протеину	Антитела к NS ₃	Антитела к NS ₄	Антитела к NS ₅
Высокая виремия (>100 тыс. копий/мл)	172	172 (100%)	137 (79.6%)	126 (73.2%)	143 (82.5%)
Низкая виремия (<30 тыс. копий/мл)	112	21 (18.8%)	79 (72.3%)	81 (72.3%)	46 (41.1%)

У 61 больного хроническим гепатитом С с высокой виремией проведено определение генотипов вируса. Одновременно у этих больных сопоставлялись генотипы вируса с наличием антител к NS₅. Из 61 пациентов у 42 (68.8%) был обнаружен генотип 1в, у 10 (16.4%) – 2а, у 7 (11.4%) – 3а и у 2 (3.2%) – 1в+3а.

* Исследования РНК вируса С и его генотипов методом ПЦР проводились в Институте вирусологии им.Д.И.Ивановского РАМН, за что приносим благодарность сотрудникам этого института.

Из 42 (68.8%) больных с генотипом 1в антитела к неструктурному белку NS₅ были выявлены у 38 (87.5%), из 10 (16.4%) - с генотипом 2а- они не обнаруживались, из 7 (11.4%) - с генотипом 3а – они идентифицировались у 2 (28.5%), а из 2 (2.6%) с генотипом 1в+3а – они определялись у всех (100%) (табл. 2).

Таблица 2

Наличие неструктурного белка NS₅ в сыворотке крови больных ХГС
в зависимости от генотипа вируса С

Генотипы	Количество больных	Антитела к NS ₅
1в	42 (68.8%)	38 (87.5%)
2а	10 (16.4%)	-
3а	7 (11.4%)	2 (28.5%)
1в+3а	2 (2.6%)	2 (100%)

При гистологическом исследовании пунктатов печени 11 больных с высокой вирусемией и генотипом 1в, а также наличием антител к core-протеину и NS₅ обнаружена картина хронического активного гепатита. В пунктатах печени выявлялась выраженная жировая (мелко- и крупнокапельная) и гидропическая дистрофия гепатоцитов, инфильтрированные плазмолимфоцитарными элементами очаги некроза, иногда с формированием лимфоидных фолликулов, множество апоптотических тел. Портальные тракты были расширены за счет фиброза и гистио-лимфоцитарной инфильтрации.

В пунктатах печени 4-х больных (у 2-х с генотипом 2а и у 2-х – 3а), у которых не были выявлены признаки высокой вирусемии, антитела к core-протеину и NS₅, обнаруживались признаки хронического гепатита минимальной активности – мелкокапельное ожирение гепатоцитов, единичные очаги некроза и апоптотических тел, умеренное расширение, фиброз и гистио-лимфоцитарная инфильтрация портальных трактов.

Таким образом, нами установлена прямая корреляция между степенью вирусемии вируса С, наличием антител к NS₅ и гистологической активностью процесса в печени. Эти данные свидетельствуют о том, что антитела к неструктурному белку являются также маркером активной репликации вируса С. Более того, нами установлено, что антитела к NS₅ чаще всего обнаруживаются при генотипе 1в и его сочетании с генотипом 3а. В то же время при генотипе 2а они практически не выявляются.

Ряд исследователей [4, 5] показали, что неструктурный белок NS₅ вируса С подавляет активность эндогенного интерферона и тем самым способствует активной репликации вируса, что подтверждается и нашими результатами.

Под влиянием неструктурного белка NS₅ происходит нарушение баланса ионов кальция в гепатоците, в результате которого усиливается развитие окислительного стресса, являющегося важнейшим фактором некроза и коллагеногенеза в печени при гепатите С. Наблюдаемая у больных хроническим гепатитом С выраженная слабость также связана с усилением окислительного стресса [6]. Некоторые авторы выяснили, что неструктурный белок NS₅ подавляет процесс апоптоза инфицированных гепатоцитов и тем самым становится фактором развития гепатоцеллюлярной карциномы [7]. Этот эффект осуществляется путем взаимодействия белка NS₅ с белком P53, который является ключевым регулятором регенерации и апоптоза гепатоцитов. Белок NS₅ резко подавляет функцию P53 и тем самым способствует онкогенезу [8].

Не менее важные исследования выполнены по выяснению взаимоотношения неструктурного белка NS₅ с эндогенным и экзогенным интерферонами. В структуре генома белка NS₅ идентифицирован домен, который получил название «область детерминации чувствительности к ИФН». Резистентность к интерферону реализуется через связывание белка NS₅ с протеинкиназой РНК. В результате происходит подавление синтеза эндогенного интерферона и снижается эффективность интерферонотерапии [9]. Одновременно с этим, как показывают результаты наших исследований, у больных хроническим гепатитом вируса С более часто выявляются антитела к NS₅ при генотипе 1в или его сочетании с 3а. В то же время при генотипе 2а антитела к этому неструктурному белку вируса С практически не обнаруживаются. Эти данные указывают на то, что резистентность к интерферонотерапии у больных с генотипами 1в, возможно, связана с функцией неструктурного белка NS₅. Следовательно, при проведении интерферонотерапии не только необходимо учитывать активность ферментов процесса переаминирования, степень репликации вируса, его генотип, гистологические признаки некроза и фиброза в печени, но и наличие антител к структурному core-протеину и неструктурному белку NS₅.

В ы в о д ы

Наличие структурного core-протеина и неструктурного белка NS₅ вируса С в периферической крови свидетельствует о высокой репликации вируса, что проявляется в повышении уровня РНК вируса с развитием стеатоза, некроза и фиброза печени.

Высокая частота обнаружения неструктурного белка NS₅ у больных хроническим вирусным гепатитом С с генотипом 1в и высоким уровнем РНК подтверждает факт его участия в развитии резистентности к интерферонотерапии.

*Институт гастроэнтерологии
АН Республики Таджикистан*

Поступило 7.09.2006 г.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Srinivas R.B., Ray R.B., Meyer K. - Virus Res., 1996, 45, 87-92.
2. De Francesco R. – J. Hepatol, 1999, 3L, p. 47-53.
3. Gale M.J., Blakey C.M., Kwieciszewski B. - Mol. Cell. Biol. 1998, 18, 5208-5218.
4. Enomoto N., Sauma I., Asahina V. - J. of virology. 1995, v. 96, p. 224-230.
5. Pflugheber J., Frederick B., Sumpter R. - Proc. Natl. Acad. Sci USA., 2002, v. 99, p. 4650-4655.
6. Мансуров Х.Х., Мироджов Г.К., Мансурова Ф.Х. – Пробл. ГАЭЛ, 2005, №1-2, с. 76-83.
7. Lemon S.M., Lerat H., Weinman S.A. - Trans. Am. Climatol. Assoc., 2000, v. 111, p. 146-157.
8. Reyes G.R. - J. Biomedical Sci., 2002, v. 9, p. 187-197.
9. Lusida M.I., Nagano-Fujii M., Nidom C.A. - J. of clinical microb., 2001, v. 39, p. 3858-3854.

Г.К.Мироҷов, М.И.Саттарова, Р.И.Одинаев, М.С.Юнусов, С.Иноятлова

**НАҚШИ САФЕДАҲОИ СОҲТОРӢ ВА ҒАЙРИСОҲТОРИИ ВИРУСИ С ДАР
ИНКИШОФИ ГЕПАТИТИ МУЗМИН**

Муаллифон нишон доданд, ки микдори античисмчаҳо ба мукобили сафедаи сохтории core-протеин ва ғайрисохтории NS5-и вируси С дар хуни беморони гепатити давомнок аз таҷдиди вирус, намуди генотипи 1b ва ҷараёни баланди илтиҳоб ва некрози ҳуҷайраҳои ҷигар шаҳодат медиҳанд.

G.K.Mirojov, M.I.Sattarova, R.I.Oдинаev, M.C.Yunusov, S.Inojatova

**ROLE OF STRUCTURAL AND NON STRUCTURAL PROTEINS OF C VIRUS IN
DEVELOPMENT OF CHRONIC HEPATITS**

The authors shown, that the presence of antibodies in structural core-protein and non structural NS5 to fibers of a C virus in whey of blood of patients having chronic hepatitis specifies high replication phase of virus, especially of its genotype 1b, which correlate with activity of pathological process.