

Додає
цінність діагнозу



ЕКСПЕРТ У ЛАБОРАТОРНІЙ
ДІАГНОСТИЦІ

Вірусний гепатит В: експресія дефектних поверхневих антигенів і патогенез

Вірус гепатиту В (HBV) є одним з найважливіших і найпоширеніших патогенів людини. Станом на 2016 р. поверхневий антиген HBV (HBsAg) мали 290 млн осіб, тобто 3,9% світової популяції. HBV уражає переважно гепатоцити та викликає широкий спектр клінічних проявів від безсимптомного носійства до гострого та хронічного гепатиту з подальшим прогресуванням у цироз і гепатоцелюлярну карциному. Для лікування пацієнтів з хронічним гепатитом В сьогодні застосовують інтерферон- α й аналоги нуклеотидів, проте ефективність лікування не така, як мала б бути. Краще розуміння молекулярного патогенезу HBV-інфекції може сприяти розробленню нових методів лікування та профілактики.

Особливості реплікації HBV

HBV належить до родини *Hepadnaviridae* і є невеликим, вкритим оболонкою вірусом із геномом у вигляді частково дволанцюжкової ДНК розміром близько 3,2 кб. Протягом життєвого циклу HBV прегеномна РНК транскрибується з ковалентно замкненої циркулярної ДНК і слугує шаблоном для реплікації ДНК HBV шляхом зворотної транскрипції, опосередкованої полімеразою вірусу. Оскільки остання позбавлена коректувальної функції, геном HBV еволюціонує зі швидкістю від 1×10^{-3} до 1×10^{-6} замін нуклеотидів на 1 цикл реплікації. Реплікація HBV включає зворотну транскрипцію, подібну до такої у ретровірусів, проте складна структура геному HBV обмежує спектр і швидкість мутацій. Водночас цей унікальний спосіб реплікації забезпечує велику різноманітність геномів HBV, що в контексті довготривалої еволюції HBV веде до появи різних генотипів, субтипів, мутантів, рекомбінантів і навіть квазівидів вірусу. У низці досліджень продемонстровано, що поява варіантів HBV відіграє важливу роль у прогресуванні HBV-асоційованих хвороб печінки. Одним із типів мутації з великою клінічною значимістю є мутація, яка спричиняє експресію дефектного поверхневого антигену.

Біологія поверхневих антигенів HBV

Три білки оболонки вірусу – великий (LHB, або L-HBsAg), середній (MHB, або M-HBsAg) та малий (SHB, або S-HBsAg) поверхневі антигени – експресуються з єдиної відкритої рамки зчитування (S-ORF), але транслюються з двох різних мРНК. LHB кодується субгеномною РНК довжиною 2,4 кб, MHB та SHB – субгеномною РНК довжиною 2,1 кб. Ці субгеномні РНК керуються промоторами preS1 та preS2/S відповідно, що дозволяє здійснювати варіабельну регуляцію експресії протеїнів. Промотор preS1 розташований у висхідному регіоні S-ORF, тоді як промотор preS2 відвідає домену preS1. Таким чином, транскрипція субгеномною РНК 2,1 кб також регулюється доменом preS1 (рис.).

Поверхневі протеїни мають однаковий карбокситермінальний регіон, а їх неоднакова довжина зумовлена різними амінотермінальними регіонами. Через це LHB містить preS1 + preS2 + S (389 або 400 амінокислотних залишків), MHB – preS2 + S (281 амінокислотний залишок), а SHB – лише S-домен (226 амінокислотних залишків). Крім того, існує усичений і мутований preS2/S, що є продуктом інтегрованих вірусних послідовностей, дефектних для реплікації. LHB, MHB та SHB є важливими для структури та життєвого циклу HBV. Шляхом зв'язування preS1 домену (амінокислотної послідовності 2-48) з рецептором HBV на гепатоцитах (таурохолат-котранспортним поліпептидом – NTCP) LHB забезпечує потрапляння вірусу в клітину з подальшим інфікуванням, а також є необхідним для побудови та збірки віріонів. Вважають також, що LHB реранжує свою структуру протягом дозрівання віріонів HBV і таким чином регулює вивільнення й інфективність віріонів. Точна роль MHB та SHB не встановлена.

Ранні дослідження свідчили, що MHB не є обов'язковим для реплікації HBV і побудови віріона; водночас є дані, які вказують на роль MHB у секретії віріонів. Зокрема, MHB взаємодіє з церулоплазміном і впливає на продукування позаклітинних віріонів. SHB як домінуючий компонент вірусних часток є необхідним для продукування віріонів і субвірусних часток. У зрілих (інфекційних) віріонах співвідношення LHB, MHB та SHB в оболонці становить орієнтовно 1:1:4. Зміна цієї пропорції порушує продукування та вивільнення віріонів. Щодо субвірусних часток, то їх кількість у 10000-1000000 разів перевищує таку віріонів, і ці частки серологічно ідентифікуються як HBsAg. Секретія

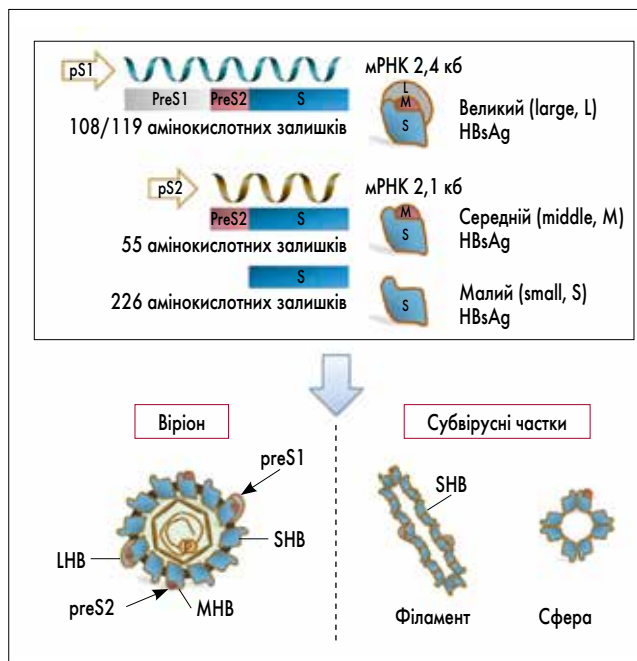


Рис. Транскрипція та експресія поверхневих білків вірусу гепатиту В

субвірусних часток може дозозалежно пригнічуватися під дією LHB, що переключає S-білок на побудову віріона.

Домен preS1, preS2 та S містять низку епітопів В- і Т-лімфоцитів, що може мати значення для розвитку імунної відповіді. Великий гідрофільний регіон (MHR) у межах амінокислотної послідовності 100-169 SHB, особливо а-детермінантний регіон у послідовності 124-147, є найважливішою антигенною детермінантою у поверхневих білках HBV, а також необхідний для ідентифікації HBsAg та розроблення вакцини проти HBV. Отриманий з плазми крові рекомбінантний HBsAg використовувався для створення вакцин і викликав потужну специфічну захисну відповідь. Вважається, що наявність анти-HBs-антитіл забезпечує достатній імунітет проти HBV-інфекції. Натомість велика кількість циркулюючого HBsAg у пацієнтів із хронічною HBV-інфекцією, ймовірно, є свідченням порушеної імунної відповіді. Дефектна HBsAg-специфічна відповідь Т-лімфоцитів у хронічно інфікованих осіб корелює з сироватковими титрами HBsAg. Це є свідченням того, що надлишкове продукування HBsAg впливає на імунну систему у спосіб, вигідний для вірусу. *In vitro* HBsAg може змінювати функцію Toll-подібних рецепторів і стимулювати продукування інтерлейкіну-10 купферівськими клітинами. Нещодавно було встановлено, що в осіб із хронічною HBV-інфекцією HBsAg може полегшувати індукцію мієлоїдних супресорних клітин. HBsAg також асоціюється з індукцією регуляторних Т-лімфоцитів. Отже, HBsAg є не лише структурним компонентом віріонів і субвірусних часток, а й важливим модулятором імунної відповіді.

Експресія дефектного HBsAg і її наслідки

Мутанти HBsAg уперше виявили в осіб, які були вакциновані проти HBV, але захворіли на HBV-інфекцію попри наявність захисних анти-HBs-антитіл. Ці мутанти характеризуються зниженою здатністю зв'язуватися з анти-HBs-антитілами та нижчою реактивністю у лабораторних тестах. Найбільш відомими мутаціями HBsAg є sG145R та sK122I, за яких порушується нейтралізація і кліренс HBsAg при HBV-інфекції. Інші мутації, наприклад sT123N, можуть впливати на секретію HBsAg.

На сьогодні відомо, що мутації, які ведуть до появи дефектного HBsAg, можуть виявлятися при гострій

HBV-інфекції, хронічному гепатиту В, носійстві HBV та асоційовані з тяжкими хворобами печінки, зокрема цирозом, фульмінантним гепатитом В і гепатоцелюлярною карциномою. Поки не встановлено, чи мутанти за HBsAg виникають внаслідок адаптації вірусу до запалення і зниження функції печінки, чи вони є причиною тяжкого ураження печінки.

З'являються дані про те, що експресія дефектних поверхневих антигенів бере участь у патогенезі фульмінантного гепатиту. Делеції preS і мутації в а-детермінантному регіоні спричиняють секретію дефектного HBsAg, який може посилювати синтез та ампліфікацію ковалентно замкненої циркулярної ДНК, полегшуючи реплікацію HBV. Накопичення дефектного HBsAg у клітині може викликати стрес ендоплазматичного ретикулуму з подальшою аутофагією, що ще більше посилює реплікацію вірусу. У свою чергу, посилена реплікація HBV призводить до подальшого накопичення дефектного HBsAg, за механізмом позитивного зворотного зв'язку формується хибне коло, збільшується ушкодження гепатоцитів. Цей процес супроводжується швидким розвитком запалення з надмірною реакцією цитотоксичних Т-лімфоцитів, що сприяє прогресуванню фульмінантного гепатиту.

Експресія дефектних антигенів також може брати участь у безсимптомному носійстві HBV. Останнє характеризується наявністю дуже низьких рівнів ДНК HBV у плазмі крові та/або печінці в осіб з негативними результатами тесту на HBsAg. Небезпека безсимптомного носійства полягає у можливій передачі вірусу через кров, під час трансплантації органів, гемодіалізу або від матері до дитини, потенційному розвитку цирозу та гепатоцелюлярної карциноми. Реактивація HBV часто спостерігається після хіміотерапії, імуносупресивної терапії, після трансплантації, а також у пацієнтів з коінфекцією вірусом імунодефіциту людини або гепатиту С, що може призводити до розвитку фульмінантного гепатиту та смерті.

Мутації поверхневих антигенів, зокрема делеції preS, можуть порушувати транскрипцію субгеномною РНК HBV (2,4 та 2,1 кб), що веде до зниження рівнів трьох поверхневих білків HBV. Крім того, дефектні поверхневі антигени з делеціями preS і мутаціями в а-детермінантному регіоні відрізняються зниженою секретією. Одиничні або множинні мутації MHR у межах амінокислотних залишків 99-169 SHB, особливо в а-детермінантному регіоні (124-147), можуть викликати конформаційні зміни HBsAg. Мутований HBsAg погано визначається імуноферментними методами, що в деяких випадках може розцінюватися як безсимптомне носійство HBV.

Висновки

- Поверхневі антигени HBV є корисними маркерами для діагностики HBV-інфекції та клінічного спостереження.
- У разі хронічної інфекції геном HBV може набувати й накопичувати мутації та делеції, які ведуть до експресії дефектних поверхневих антигенів HBV.
- Дефектні поверхневі антигени можуть брати участь у прогресуванні HBV-асоційованих захворювань та ускладнювати визначення HBsAg імуноферментними методами на основі антитіл.
- Сучасні препарати для лікування пацієнтів з HBV-інфекцією, як-от аналоги нуклеотидів, ефективно пригнічують синтез ДНК HBV, але не впливають на експресію генів. Через це білки HBV (включно з поверхневими антигенами) продовжують продукуватися на тлі терапії.
- Перспективним є розроблення специфічних засобів, які блокують патогенний потенціал білків HBV, наприклад шляхом сайленсінгу РНК.

Список літератури знаходиться в редакції.

Стаття друкується у скороченні.

Wu C.-C. et al. Hepatitis B virus infection: Defective surface antigen expression and pathogenesis. *World J Gastroenterol.* 2018 Aug 21; 24(31): 3488-3499.

Переклад з англ. **Олексій Терещенко**

