

DOI: 10.25205/978-5-4437-1691-6-104

**ЗНАЧИМОСТЬ ВЫЯВЛЕНИЯ АНТИТЕЛ К В-КЛЕТОЧНЫМ ДЕТЕРМИНАНТАМ
ОБОЛОЧЕЧНЫХ БЕЛКОВ ВИРУСА ГЕПАТИТА С****SIGNIFICANCE OF ANTIBODY DETECTION TO B-CELL DETERMINANTS
OF ENVELOPE PROTEINS OF HEPATITIS C VIRUS**М. Д. Стучинская^{1,2}, Л. И. Николаева², Н. С. Шастина¹¹*Институт тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова, Москва*²*Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии
им. почетного акад. Н. Ф. Гамалеи Минздрава России, Москва*M. D. Stuchinskaya^{1,2}, L. I. Nikolaeva², N. S. Shastina¹¹*Lomonosov Institute of Fine Chemical Technologies, Moscow*²*Gamaleya National Research Center for Epidemiology and Microbiology, Moscow*

✉ mayastaya@mail.ru

Аннотация

Цель исследования — выявить антитела к пептидам, воспроизводящим консервативные В-клеточные эпитопы оболочечных белков E1 и E2 ВГС, и оценить их возможную значимость для прогноза элиминации вируса. Синтез пептидов осуществляли твердофазным методом. По результатам иммуноферментного анализа установлено, что наличие антител к одному из анализируемых пептидов связано с достижением устойчивого вирусологического ответа.

Abstract

The aim of the study was to analyze infected human antibody response to peptides reproducing B-cell epitopes of HCV envelope proteins to assess their possible association with virus elimination. The synthesis of peptides was carried out by the solid phase method. According to the results of enzyme-linked immunosorbent assay, it was found that the presence of antibodies to one of the analyzed peptides was associated with achieving a sustained virological response.

Вирусный гепатит С является широко распространенным заболеванием, которым, по оценкам Всемирной организации здравоохранения за 2022 г., страдает около 58 млн человек [1]. При этом ежегодно регистрируется примерно 1,5 млн новых случаев заражения. После первичной инфекции примерно у 70–85 % развивается хронический гепатит С, который может привести к циррозу печени и гепатоцеллюлярной карциноме. Спонтанное или самопроизвольное разрешение инфекции связано с выработкой ранних и интенсивных клеточных и гуморальных иммунных ответов. В 2023 г. показатель заболеваемости хроническим гепатитом С в России составил 31,63 на 100 тыс. населения [2]. Несмотря на внедрение высокоэффективных противовирусных препаратов прямого действия (ПППД), противовирусное лечение не оказало серьезного влияния на ограничение инфекции. Устойчивый вирусологический ответ (УВО) достигается в 90 % случаев. Однако из-за высокой доли упущенных диагнозов и высоких затрат на препараты лечением охвачено около 10 % инфицированных людей. Более того, лица, прошедшие успешное лечение, не защищены от повторного заражения.

Оболочечные гликопротеины E1 и E2 ВГС взаимодействуют с рецепторами, участвуют в процессе проникновения вируса в клетки хозяина и являются основными мишенями вируснейтрализующих антител. Нейтрализующие антитела являются важными компонентами иммунного ответа хозяина. Считается, что они препятствуют процессу проникновения вируса.

Ранее было продемонстрировано, что наличие антител к комплексу E1E2 до начала лечения ассоциировано с достижением УВО на терапию ПППД, т. е. может являться предиктивным маркером [3]. Однако до сих пор не выяснена роль отдельных В-эпитопов оболочечных белков ВГС.

Цель исследования — выявить антитела к пептидам, воспроизводящим консервативные В-клеточные эпитопы оболочечных белков E1 и E2 ВГС, и оценить их возможную значимость для прогноза элиминации вируса.

На основании анализа литературных данных по детерминантам оболочечных белков ВГС были выбраны и синтезированы 6 значимых пептидов, представляющих собой иммуногенные В-клеточные эпитопы.

Пептиды были получены с использованием твердофазного синтеза на смоле Ванга по Fmoc-протоколу в ручном режиме методом активированных эфиров. Очистку пептидов осуществляли обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографией (офВЭЖХ), структуру синтезированных пептидов подтверждали масс-спектрометрией MALDI-TOF. Чистота полученных препаратов пептидов, по данным аналитической офВЭЖХ, составила более 95 %. Выходы пептидов составили от 18 до 25 %.

Для подтверждения инфицирования ВГС выявляли геном вируса методом ОТ-ПЦР («РеалБест РНК ВГС», качественный или количественный вариант, Вектор-Бест, РФ) и специфические антитела методом ИФА («Реком-биБест анти-ВГС IgM» и «Бест анти-ВГС — спектр», Вектор-Бест, РФ).

При наличии нормального распределения для оценки достоверности различий использовали *t*-критерий Стьюдента, при ином распределении применяли точный метод Фишера. Различия между сравниваемыми величинами считали достоверными при $p < 0,05$.

Были исследованы образцы сывороток крови пациентов, имеющих хронический гепатит С и получивших лечение ПППД ($N = 53$). 29 участников достигли УВО, остальные 24 участника завершили терапию неудачно. Изучение иммунореактивности на сыворотках крови людей, инфицированных ВГС, проводилось стандартным методом твердофазного иммуоферментного анализа. У 94,3 % участников были обнаружены антитела к анализируемым пептидам. Данные по частоте выявления антител указаны в таблице.

Для пептида (V) были получены результаты, отвечающие критериям статистической значимости ($p = 0,002$): участники, имеющие антитела к данному пептиду до начала терапии, чаще достигали УВО, чем участники, у которых не были обнаружены антитела. Данный пептид воспроизводит консервативный иммунодоминантный В-эпитоп из E2, антитела к которому обладают способностью нейтрализовать ВГС разных генотипов.

Анализ взаимосвязи между достижением УВО и частотой выявления антител к пептидам

Пептид	Частота выявления антител (n), %		p-value
	Участники с УВО, N = 29	Участники без УВО, N = 24	
I	48,3 ± 9,6 (14)	37,5 ± 9,9 (9)	0,579
II	44,8 ± 9,6 (13)	33,3 ± 9,6 (8)	0,416
III	37,9 ± 9,3 (11)	16,7 ± 7,6 (4)	0,127
IV	62,1 ± 9,3 (18)	41,7 ± 10,1 (10)	0,173
V	69,0 ± 8,9 (20)	25,0 ± 8,1 (6)	0,002
VI	82,8 ± 7,3 (24)	62,5 ± 9,9 (15)	0,124

Таким образом, можно предположить, что наличие или отсутствие антител к пептиду (V) может являться одним из прогностических маркеров для оценки исхода терапии ПППД.

Литература

1. Hepatitis C: Key Facts // WHO. 2022.
2. Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2023 г.: гос. докл. М., 2024.
3. Virlogeux V., Berthillon P., Bordes I. et al. Anti-E1E2 antibodies status prior therapy favors direct-acting antiviral treatment efficacy // Clin. Res. Hepatol. Gastroenterol. 2018. Vol. 42 (4). P. 313-318.