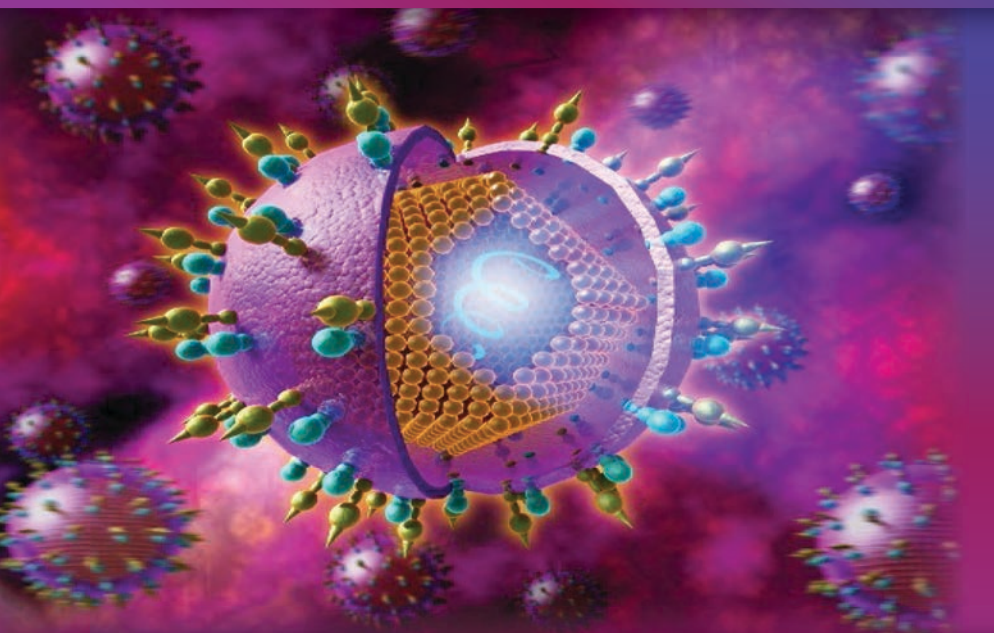


А. Г. Рахманова, А. А. Яковлев,
В. А. Кащенко, В. В. Шаройко

ХРОНИЧЕСКИЙ ВИРУСНЫЙ ГЕПАТИТ С И ЦИРРОЗ ПЕЧЕНИ

Руководство для врачей
Под редакцией А. Г. Рахмановой



Санкт-Петербург
СпецЛит

УДК 616.3-616.9

X88

Авторский коллектив:

А. Г. Рахманова — доктор медицинских наук, профессор; *А. А. Яковлев* — доктор медицинских наук, профессор; *В. А. Каценко* — доктор медицинских наук; *В. В. Шаройко* — доктор биологических наук, доктор медицины Каролинского института (Стокгольм)

Рецензенты:

В. Е. Жолобов — доктор медицинских наук, профессор кафедры социально значимых инфекций Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И. П. Павлова

Хронический вирусный гепатит С и цирроз печени : руководство для врачей / под ред. А. Г. Рахмановой. — Санкт-Петербург : СпецЛит, 2016. — 380 с. : ил. — ISBN 978-5-299-00750-3

В руководстве представлены результаты многолетнего труда авторов по проблемам вирусных гепатитов, преимущественно прогрессирующих хронических и тяжелых форм с учетом оригинальных исследований выдающихся представителей ленинградской-петербургской школы эпидемиологов-инфекционистов, хирургов, патоморфологов и биохимиков. С новых позиций освещены важнейшие направления лабораторной диагностики и мониторинга противовирусной терапии хронического гепатита разной степени активности, а также в цирротической стадии заболевания и гепатоцеллюлярной карциномы.

Приведены оригинальные методы прогноза, лечения и профилактики осложнений портальной гипертензии у больных с цирротической стадией заболевания путем совершенствования хирургической тактики и комплексного применения современных эндоскопических и эндоваскулярных технологий. Обсуждаются подходы фармакотерапии вирусных гепатитов с ВИЧ-коинфекцией. В книге содержатся переработанные и дополненные сведения из руководства для врачей «Хронические вирусные гепатиты и цирроз печени» 2006 г. под редакцией А. Г. Рахмановой.

Издание предназначено для широкого круга специалистов: врачей общей практики, терапевтов, инфекционистов, гастроэнтерологов, врачей-лаборантов, хирургов, реаниматологов.

УДК 616.3-616.9

ISBN 978-5-299-00750-3

© Рахманова А. Г., 2016

© ООО «Издательство „СпецЛит“», 2016

ОГЛАВЛЕНИЕ

Условные сокращения	8
Предисловие	11
Введение	14
Глава 1. Молекулярная биология вируса гепатита С	17
1.1. Строение вируса гепатита С	17
1.2. Организация генома вируса гепатита С	19
1.3. Белки гепатоцита, структурные и неструктурные белки вируса гепатита С, участвующие в его жизненном цикле	20
1.4. МикроРНК и вирус гепатита С	27
<i>Литература</i>	28
Глава 2. Сведения об эпидемиологии вируса гепатита С и его профилактике	33
2.1. Общие положения	33
2.2. Лабораторная диагностика вирусного гепатита С	38
2.3. Организация диспансерного наблюдения за больными гепатитом С и лицами с наличием антител к HCV	40
2.4. Профилактика	45
<i>Литература</i>	47
Глава 3. Классификация хронических вирусных гепатитов, их формы течения	49
3.1. Варианты и формы течения хронических вирусных гепатитов и цирроза печени	49
3.2. Внепеченочные проявления и нейropsychические расстройства при хронических вирусных гепатитах	63
3.3. Морфологическая оценка активности некровоспалительных процессов при вирусных гепатитах	69
3.4. Окультные гепатиты В и С, их взаимосвязь и необходимость противо- вирусной терапии для предотвращения развития цирроз-рака печени	74
<i>Литература</i>	91
Глава 4. Молекулярные маркеры в ранней диагностике гепатоцеллю- лярной карциномы и перспективы их использования	98
4.1. Молекулярные маркеры в ранней диагностике гепатоцеллюлярной карциномы	98
4.2. Гепатоцеллюлярная карцинома у больных хроническим вирусным гепатитом	106
4.3. Роль генотипов в развитии первичного рака печени	107
<i>Литература</i>	112
Глава 5. Хирургические аспекты лечения осложнений хрониче- ских вирусных гепатитов и цирроза печени	117
5.1. Патологические изменения при портальной гипертензии	117
5.2. Некоторые диагностические аспекты при циррозе печени и портальной гипертензии	121

5.3. Кровотечения портального генеза	146
5.4. Отдаленные результаты применения эндоскопических методов гемостаза при пищеводно-желудочных кровотечениях портального генеза	204
<i>Литература</i>	215
Глава 6. Терапия хронических вирусных гепатитов и печеночной комы. .	222
6.1. Печеночная кома при вирусных гепатитах.	222
6.2. Биохимия острой недостаточности печени (печеночной комы)	243
6.3. Роль гипераммониемии в развитии печеночной недостаточности . . .	245
6.4. Основные направления терапии	259
6.5. Специальные методы лечения острой печеночной недостаточности (печеночной комы)	268
6.6. Восстановительное лечение больных с печеночной недостаточ- ностью	279
<i>Литература</i>	283
Глава 7. Препараты прямого противовирусного действия для лечения хронического вирусного гепатита С и ВИЧ-инфекции	285
7.1. Общая характеристика препаратов прямого противовирусного действия	285
7.2. Опыт применения симепревира в терапии вирусного гепатита С. Перспективы его использования в сочетании с софосбувиром и другими препаратами.	288
7.3. Викайра Пак — комбинированный противовирусный препарат	293
7.4. Нарлапревир — новый отечественный ингибитор протеазы вируса гепатита С.	304
7.5. Препараты даклатосвир и асунапревир, их комбинации в различных схемах	305
7.6. Софосбувир — нуклеотидный аналог ингибитора РНК-зави- симой РНК-полимеразы в сочетаниях при лечении хрониче- ского гепатита С.	323
7.7. Комбинация софосбувира с даклатасвиром, возможность лечения хронического гепатита С с генотипом 3а	328
7.8. Другие препараты прямого противовирусного действия	328
<i>Литература</i>	329
Приложения	337
<i>Приложение 1. Первый опыт работы хирургической службы Центра профилактики и борьбы со СПИД и инфекционными заболеваниями Санкт- Петербурга</i>	338
<i>Приложение 2. Рекомендации Европейской ассоциации по изучению печени (EASL) по лечению гепатита С 2015 г.</i>	341

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ ВИРУСА ГЕПАТИТА С

1.1. Строение вируса гепатита С

В середине 1970-х гг. было отмечено, что некоторые партии донорской крови инфицированы неопознанным агентом, вызывающим посттрансфузионный, так называемый «вирусный гепатит ни-А, ни-В» (Feinstone [et al.], 1975). В 1977 г. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) включила «гепатит ни-А, ни-В» в разрабатываемую тогда номенклатуру вирусных гепатитов. Только в 1989 г. была впервые расшифрована нуклеотидная последовательность вируса «гепатита ни-А, ни-В» и было установлено, что возбудителем является РНК-содержащий вирус, имеющий оболочку. Этому вирусу присвоили название «вирус гепатита С» (HCV). HCV — мелкий РНК-содержащий вирус, относящийся к семейству *Flaviviridae*, роду *Hepacivirus* (рис. 1.1).

Вирусный нуклеокапсид имеет форму икосаэдра (Ray [et al.], 2009). Вирусные частицы HCV содержатся в крови в следовых количествах и ассоциированы с липопротеинами низкой плотности и антителами к белкам HCV. Вирусы, выделенные из комплексов с липопротеинами и антиHCV антителами, имеют диаметр 50—70 нм. При электронно-микроскопическом исследовании на поверхности вириона найдены отчетливо выраженные выступы высотой 6—8 нм — «гликопротеиновые шипы».

Вирионы HCV имеют широкий диапазон плотностей, а наиболее контагиозная фракция имеет плотность в диапазоне 1,15—1,17 г/мл (Kaito [et al.], 2006). Во внутренней оболочке HCV диаметром 30—35 нм имеется нуклеокапсид (*core*), в котором инкапсулирована одноцепочечная молекула вирусной РНК (+ цепь) длиной 9600 нуклеотидов (см. рис. 1.1). Репликация РНК HCV происходит в цитоплазме гепатоцитов, т. е. геном HCV не внедряется в ядро клетки (Балаян, 1999; Михайлов, 2009).

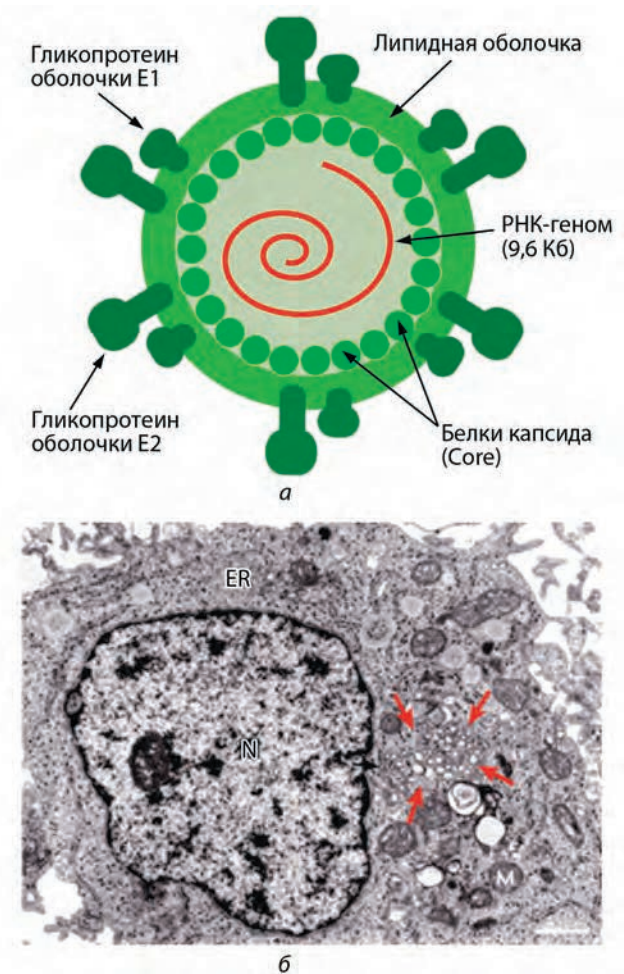


Рис. 1.1. Вирус гепатита С:

a — схема строения вириона вируса гепатита С. Белок капсида (core) HCV взаимодействует с вирусной геномной РНК, образуя нуклеокапсид. Два мембраносвязанных гликопротеина E1 и E2 частично погружены в липидную оболочку (Shimoike [et al.], 1999; Wakita [et al.], 2005); *б* — локализация вируса гепатита С в цитоплазме гепатоцита (обозначен красными стрелками); электронная микрофотография; ER — эндоплазматический ретикулум; М — митохондрия; N — ядро (Gosert [et al.], 2003)

1.2. Организация генома вируса гепатита С

Организация генома HCV схематически показана на рис. 1.2. Вирусная РНК-генома имеет открытую рамку считывания (ORF) с 5'- и 3'-нетранслируемыми регионами (UTR). Сама структура РНК играет важную роль в репликации большого количества молекул РНК-вируса. 5'- и 3'-нетранслируемые участки генома высококонсервативны и содержат элементы трансляции вирусного полипептида

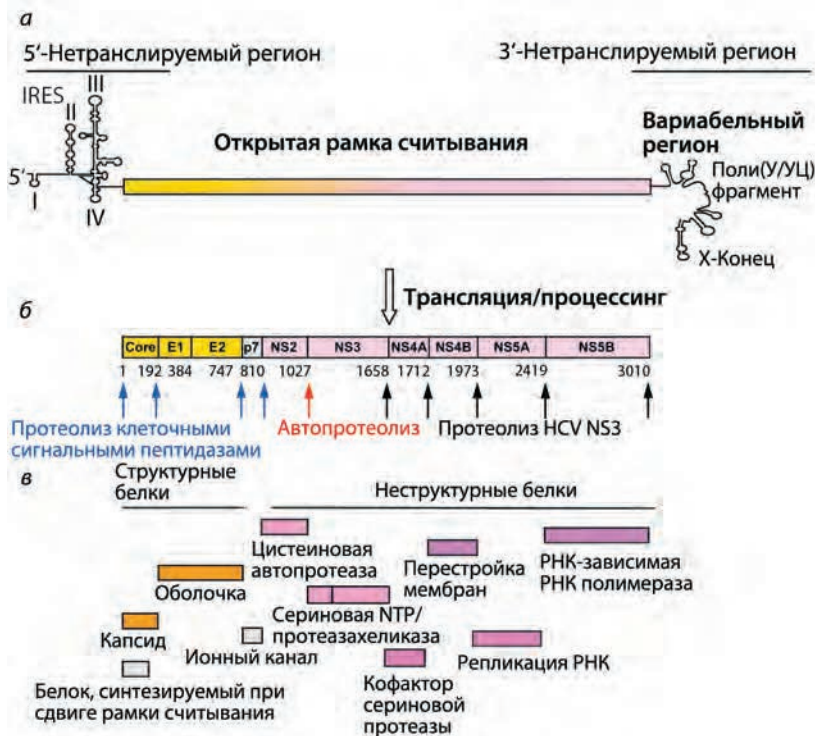


Рис. 1.2. Организация генома вируса гепатита С:

а — одноцепочечная РНК генома кодирует ORF, на 5'- и 3'-концах которой находятся нетранслируемые регионы, имеющие сигналы для активации синтеза вирусных белков и РНК, а также координации этих процессов. Трансляция начинается с вхождения во внутренний участок рибосомы (IRES) 5'-нетранслируемого региона; У — уридин; Ц — цитидин; *б* — полипептид, полученный в результате трансляции, подвергается посттрансляционной модификации (процессингу) при действии клеточных и вирусных протеаз. Цифры под полипептидом обозначают сайты протеолиза; *в* — функции структурных и неструктурных белков вируса (Rehermann, 2009)

и репликации вирусной РНК. 5'-UTR (+) состоит из 341 нуклеотида и содержит нуклеотидный фрагмент, необходимый для входа во внутренний участок рибосомы (IRES). IRES складывается из четырех петель: I, II, III и IV. IRES требуется для *cap*-независимой трансляции вирусной РНК на рибосомах клетки хозяина. Домен IIId IRES является ключевым фрагментом, который связывается с участком субъединицы 40S рибосомы и направляет рибосому к иницирующему кодону (АУЦ) в позиции 342, после чего начинается синтез полипептида (Lukavsky [et al.], 2000). Домены III—IV IRES также являются активаторами протеинкиназы *R* (PKR) (Shimoike [et al.], 2009). Тем не менее эта активация не мешает *cap*-независимой трансляции вирусных белков HCV. PKR также известна как протеинкиназа, которая активируется интерфероном и двухцепочечной РНК, также ее называют фактором-2 α -2 инициации трансляции эукариот (EIF2AK2) (Feng [et al.], 1992). Известно, что белок ядра HCV взаимодействует с 5'-UTR + цепи RNA (Fan [et al.], 1999). 3'-UTR (+) состоит из 200 нуклеотидов и участвует в репликации РНК. Три разные домена UTR участвуют в этом процессе: поли(У/УЦ)-фрагмент длиной 80 нуклеотидов, вариабельный регион, практически инвариантный X-фрагмент из 98 нуклеотидов, образованный петлями (3'SLI, 3'SLII и 3'SLIII) (Song [et al.], 2006).

Наличие в 3'-UTR-регионе РНК HCV различных изолятов высококонсервативного участка определяет интерес к этому фрагменту как потенциальной мишени для фармакологического воздействия (Thelu [et al.], 2004).

1.3. Белки гепатоцита, структурные и неструктурные белки вируса гепатита С, участвующие в его жизненном цикле

HCV кодирует единственный полипептид (NH₂-C-E1-E2-P7-NS2-NS3-NS4A-NS4B-NS5A-NS5B-COOH), состоящий из 3010 аминокислот (см. рис. 1.2). Структурные белки (ядро, E1 и E2) и белок p7 высвобождаются из полипептида после протеолиза, который происходит при действии сигнальных пептидаз эндоплазматической сети гепатоцитов. Неструктурные белки (NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A и NS5B) получают при воздействии на полипептид вирусными протеазами NS2-3 и NS3-4A. В конечном итоге протеолитический процессинг исходного полипептида при участии протеаз вируса и гепатоцита дает 10 зрелых вирусных белков. На все эти белки в организме больного вырабатываются антитела (антиHCV), которые и определяют иммунохимическими методами.

Нуклеокапсидный белок

Белок *core* является основным белком, который в комплексе с РНК формирует вирусный нуклеокапсид. Он участвует в сборке вириона, связываясь с неструктурными белками. Его С-терминальный фрагмент необходим для правильной укладки полипептидной цепи (Kunkel [et al.], 2004). На своей поверхности нуклеокапсидный белок несет различные высококонсервативные В-клеточные эпитопы, существование которых крайне необходимо и важно для выявления антиНСV в лабораторной диагностике инфекции иммунологическими методами.

Нуклеокапсидный белок генерируется из полипептида, кодируемого РНК НCV при действии протеазы эндоплазматического ретикулула (Targett-Adams [et al.], 2008). Показано, что нуклеокапсидный белок может подвергаться самосборке НCV-подобных частиц (HCVLPs) на мембранах эндоплазматического ретикулула (Ait-Goughoulte [et al.], 2006). Участок аминокислот нуклеокапсидного белка со 112-й по 152-ю имеет важное значение для его ассоциации не только с эндоплазматическим ретикулулом, но и с внешней мембраной митохондрий (Suzuki [et al.], 2005). Установлена способность нуклеокапсидного белка проходить через эндоплазматический ретикулум в митохондрии и участвовать в регуляции Ca^{2+} -зависимых путей передачи сигнала и апоптоза (Williamson [et al.], 2009). Также нуклеокапсидный белок взаимодействует с митохондриальным белком прохихитином (молекулярный шаперон митохондриальных белков). Это приводит к нарушению взаимодействия цитохром с-оксидазы с прохихитином. В результате чего увеличивается уровень оксидативного стресса в НCV-инфицированных гепатоцитах (Tsutsumi [et al.], 2009).

Нуклеокапсидный белок взаимодействует с иммунной системой, блокируя продукцию интерферона и инактивируя ферменты, которые в обычных условиях метят РНК вируса для его дальнейшего уничтожения. Нуклеокапсидный белок экстрацеллюлярно взаимодействует с иммунной системой, ингибируя активацию и пролиферацию Т-лимфоцитов. Кроме того, нуклеокапсидный белок участвует в развитии гепатоцеллюлярной карциномы (ГЦК), стеатоза печени, канцерогенезе. Идентифицировано три формы нуклеокапсидного белка. Полноразмерная (p21) с молекулярной массой 21 кДа и укороченная (p19) были обнаружены в мембране эндоплазматического ретикулула. Нуклеокапсидный белок может оказывать влияние на онкогены, задействованные в развитии ГЦК

у пациентов с хроническим HCV путем супрессии отдельных генов гепатоцитов. Установлено, что p19 и p21 влияют на транскрипционную активность опухолевого репрессора p53. В результате подавляется апоптоз инфицированных вирусом гепатоцитов (Shiu [et al.], 2013).

Нуклеокапсидный белок контролирует взаимодействие структурных белков HCV с мембранами липидных капель (Miyanaŕi [et al.], 2007). Липидные капли являются внутриклеточными органеллами, участвующими в хранении липидов, и принимают участие во внутриклеточном транспорте везикул (Roingeard [et al.], 2008). Кроме того, HCV использует липидные капли для своей репликации. Получены экспериментальные данные о том, что нуклеокапсидный белок играет ключевую роль в патогенезе стеатоза печени путем активации синтеза *de novo* высших жирных кислот и взаимодействия с аполипопротеином АII, компонента липидных капель. Нуклеокапсидный белок связывается с липидными каплями благодаря домену 2 (D2), что является одним из этапов продукции вируса и вносит вклад в развитие стеатоза через накопление триглицеридов в печени (Roingeard [et al.], 2008). Клинические исследования показали, что вирус-индуцированный стеатоз является наиболее тяжелым в случае инфицирования HCV с генотипом 3 по сравнению с другими генотипами (Hourieux [et al.], 2007). Следует отметить, что нуклеокапсидный белок, полученный от HCV с генотипом 3а, активирует синтез высших жирных кислот в большей степени, чем нуклеокапсидный белок, полученный от HCV с генотипом 1b. Тем не менее никаких генетических или функциональных различий не отмечалось между генотипом 3а и 1b. Таким образом, это свидетельствует о возможной роли и других вирусных белков в развитии стеатоза (Piodi [et al.], 2008). Последние исследования показали, что нуклеокапсидный белок HCV увеличивает содержание холестерина в клетках гепатомы через сигнальный путь с участием транскрипционного фактора SREBP2 (sterol regulatory element-binding protein) и миРНК-185-5p (Li [et al.], 2015).

Белки оболочки E1 и E2

E1 и E2 — гликопротеины оболочки вируса, необходимые для структурной сборки вируса, его прикрепления к гепатоциту. Содержит гипервариабельный участок (Н/Н1); вариабельность этого участка играет важную роль в способности вируса уклоняться от воздействия иммунной системы человека. Несмотря на высокую вариабельность E2, остатки цистеина высококонсервативны во

всех генотипах вируса и играют важную структурную и функциональную роль. Белки E1 и E2 подвергаются посттрансляционной модификации путем N-гликозилирования в эндоплазматическом ретикулуме. Понимание механизмов, посредством которых HCV инфицирует клетки и вызывает реинфекцию после трансплантации печени, является чрезвычайно важным.

Структурные исследования корового эктодомена гликопротеина E2 и N-концевого домена гликопротеина E1 методом электронной микроскопии и малоуглового рентгеновского рассеяния, проведенные в последние годы, сделали большой прорыв в понимании трехмерной организации гликопротеинов HCV (El Omari [et al.], 2014; Khan [et al.], 2014; Kong [et al.], 2013). Исследования E1 и E2 выявили их новые свойства и отсутствие признаков вирусных белков слияния с мембранами клеток, что служит основанием предполагать существование нового механизма вхождения HCV в клетку. Установление детальной структуры гликопротеинов HCV является значимым прорывом на пути к разработке вакцины и созданию ингибиторов вхождения вируса в клетку. Недавно проведенные испытания на добровольцах, которым вводили рекомбинантные гликопротеины E1 и E2, выявили наличие в крови перекрестно-реагирующих антител, нейтрализующих все основные генотипы HCV, что создает, таким образом, основу для разработки вакцины с использованием рекомбинантных гликопротеинов (Law [et al.], 2013). Гликопротеин E2 связывается с человеческим рецептором CD81, который экспрессируется в различных типах клеток, включая гепатоциты и В-лимфоциты (Pileri [et al.], 1998).

Белок p7

Небольшой мембраносвязанный гидрофобный белок. Формирует ионные каналы в липидных мембранах, которые необходимы для эффективной сборки и выхода из клетки вирионов HCV (Steinmann [et al.], 2010; Foster [et al.], 2011).

Белок NS2

Является трансмембранным белком с ММ 23 кДа. Его С-конец находится в просвете цистерн эндоплазматического ретикулума, а N-конец — в цитозоле. В комплексе с ионами Zn^{2+} формирует каталитически активную цистеиновую аутопротеазу, которая отщепляет белок NS2 от белка NS3. Участвует в эффективной сборке вирионов (Lindenbach [et al.], 2005).

Белок NS3

Белок с ММ 70 кДа. Обладает трифункциональной активностью: является сериновой протеазой, «разрезающей» полипротеин вируса на неструктурные белки (NS3/NS4A, NS4A/NS4B, NS4B/NS5A и NS5A/NS5B), обладает геликазной и нуклеотидтрифосфатной активностью. При репликации HCV NS3 белок связывается с поли-U-последовательностью на 3'-конце вирусного генома своим РНК-связывающим доменом, после чего происходит раскручивание двухцепочечной РНК. При этом одновременно происходит гидролиз фрагментов ДНК, осуществляемый другим доменом NS3 (Moradpour [et al.], 2007).

Также NS3 нарушает функцию белков MAVS (митохондриальный противовирусный сигнальный белок) и TRIF (аналог домен-рецептора толл/интерлейкин-1, содержащий адаптер индукции IFN- β), являющихся промежуточными звеньями в каскадах синтеза ИФ- α и ИФ- β . Этот эффект может значительно ухудшать иммунный ответ на инвазию HCVNS3, ингибирует внутриклеточные пути передачи сигнала, участвующие во врожденном иммунитете (Meylan [et al.], 2005). NS3 способен специфически взаимодействовать с каталитической субъединицей клеточной протеинкиназы A, участвующей в передаче клеточных сигналов, индуцируя переход гепатоцита в состояние неконтролируемого деления (Brun [et al.], 2010). С другой стороны, взаимодействие NS3 с иммунной системой организма хозяина может влиять на течение заболевания либо со спонтанной элиминацией HCV, либо развитием хронической HCV-инфекции (Zhdanov [et al.], 1998).

Белки NS4A и NS4B

В аминокислотной последовательности белка NS4 выделяют два фрагмента — NS4A и NS4B, которые кодируют два гидрофобных белка с ММ 8 и 26 кДа, соответственно. Белок NS4A играет роль кофактора сериновой протеазы NS3, существенно повышая ее эффективность, т. е. образует комплекс с NS3, улучшая протеазную и геликазную функции NS3. Также NS4A закрепляет комплекс на эндоплазматическом ретикулуме. Регулирует гиперфосфорилирование NS5A (Moradpour [et al.], 2007).

Белок NS4B индуцирует формирование мембранозной сети, содержащей комплексы, в которых происходит репликация вируса. Другими функциями белка NS4B является регуляция клеточного цикла и иммунного ответа. NS4B активирует клеточные белки,

регулирующие жизненный цикл и онкогенную трансформацию клетки: Bcl-2 (белок из В-клеточной лимфомы-2, подавляет апоптоз), MMP-2 (матриксная металлопротеиназа-2, разрушает внеклеточный матрикс), STAT3 (передатчик сигнала и активатор транскрипции-3), изоформы протеинкиназы С и подавляет RIG-I опосредованную продукцию ИФ- β путем прямого связывания с STING (стимулятор экспрессии гена интерферона; Li [et al.], 2012; Nitta [et al.], 2013).

Белки NS5A и NS5B

NS5-фрагмент полипротеина построен из двух крупных белков — NS5A с ММ 56 кДа и NS5B с ММ 65 кДа. Они высвобождаются из полипротеина при действии протеазного комплекса NS3-NS4A.

NS5A является фосфорилированным белком и необходим для репликации вируса и, предположительно, обеспечивает место прикрепления РНК в репликационном комплексе. Ингибирует апоптоз инфицированных клеток. Некоторые мутации NS5A способствуют улучшению ответа на терапию интерфероном (Kumthip [et al.], 2011). Белок NS5B является вирусной РНК-зависимой РНК-полимеразой, которая способна синтезировать как отрицательно полярную РНК на матрице геномной вирусной РНК, так и положительно полярную цепь РНК (Ranjith-Kumar [et al.], 2002).

Белки гепатоцита (клетки хозяина)

Трансмембранные рецепторы эндоцитоза HCV

Известно четыре трансмембранных фактора, участвующих в эндоцитозе HCV: рецептор тетраспанин CD81, липопротеиновый скавенджер-рецептор класса В типа I (SR-BI) и трансмембранные белки клаудин-1 (CLDN1) и окклюдин (OCLN) (Zeisel [et al.], 2009). Наряду с CD81 и OCLN, SR-BI и CLDN1 в высокой степени экспрессируются в печени и вносят свой вклад в тропность HCV к клеткам печени. Рецептор эпидермального фактора роста (EGFR) недавно был описан как дополнительный фактор интернализации HCV в клетки (Lupberger [et al.], 2011).

Циклофилин А

Циклофилин А представляет собой фермент цис-транс-пептидил-пролизомеразу. Прикрепляется к вирусным белкам NS5A и NS5B, модулирует пространственную укладку, процессинг и транспорт вирусных белков (Yang [et al.], 2008). Является ключе-

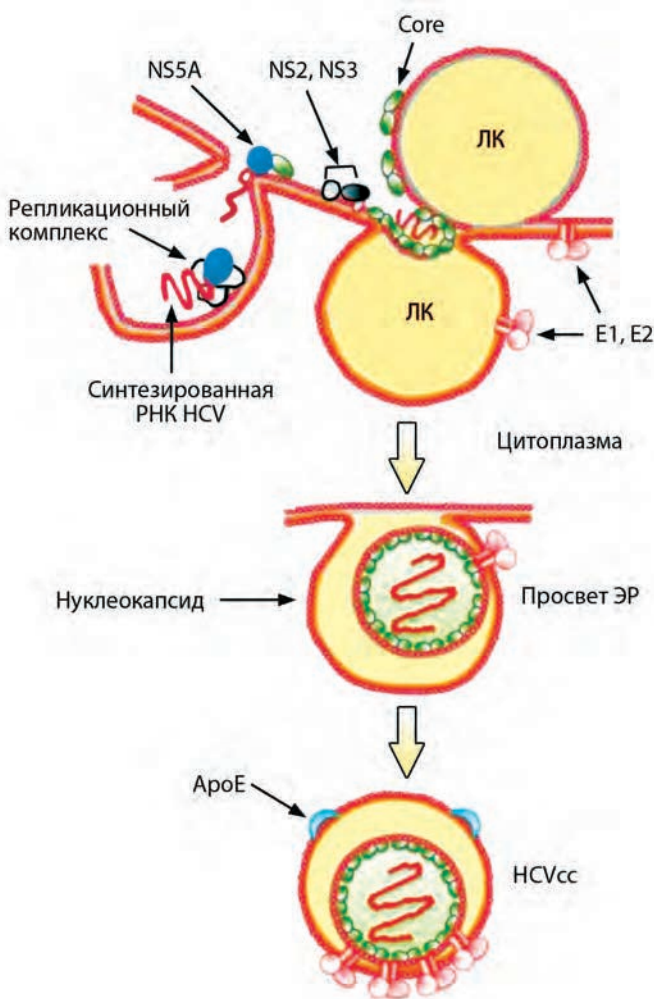


Рис. 1.3. Модель, описывающая процесс сборки частиц вируса гепатита С (Suzuki, 2012)

вым фактором со стороны клетки хозяина, участвующим в репликации РНК HCV. Механизм этого процесса пока не установлен.

PI4KIII α (фосфатидилинозитол-4-киназа III α)

Необходима для репликации вируса и образования мембранозной сети, на которой происходит транскрипция. Модулирует фос-

форилирование NS5A, потенциально влияя на структуру сайтов репликации.

Вышеописанные белки HCV и гепатоцита участвуют в процессе сборки вирусных частиц (рис. 1.3). После накопления *de novo* синтезированной РНК и вирусных белков частицы HCV подвергаются сборке в эндоплазматическом ретикулуме (ЭР) гепатоцитов в тесной взаимосвязи с биосинтезом липопротеинов очень низкой плотности. Вирусный репликационный комплекс, состоящий из NS3—NS5B и некоторых белков клетки-хозяина, защищен клеточной мембраной. *De novo* синтезированная РНК перемещается к поверхности липидных капель (ЛК), связанных с ЭР через NS5A и белок *core*. Таким образом, через стадию энкапсидации РНК и ее связывание с белком *core* образуется нуклеокапсид. Сформированный нуклеокапсид погружается в ЛК с последующим включением поверхностных белков E1 и E2. На финальном этапе готовые HCV-липопротеиновые частицы высвобождаются из клеток.

1.4. МикроРНК и вирус гепатита С

Долгое время было неизвестно, как РНК HCV может сохраняться в печени инфицированных пациентов в течение многих десятилетий. Открытие роли микроРНК (миРНК) в экспрессии генов позволило понять механизм длительной персистенции HCV-инфекции. МиРНК — это короткие некодирующие (длиной около 20—25 нуклеотидов) молекулы рибонуклеиновых кислот, регулирующие экспрессию генов. Среди широкого набора миРНК миРНК-122 была идентифицирована в гепатоцитах и экспрессируется на достаточно высоком уровне (Jopling [et al.], 2008). МиРНК-122 способна связываться с 5'-UTR РНК-генома HCV и тем самым защищать РНК вируса от деградации экзорибонуклеазами Xrn1 и Xrn2 гепатоцитов.

Таким образом, антисмысловые молекулы к миРНК-122 могут найти перспективное применение в клинике (Sedano [et al.], 2015; Thibault [et al.], 2015). На рис. 1.4 показана модель взаимодействия миРНК-122 с 5'-UTR РНК HCV и механизм действия препарата миравирсен. Миравирсен состоит из так называемой «закрытой» нуклеиновой кислоты, которая представляет собой бициклический высокоаффинный аналог РНК, в котором кольцо рибозы химически заблокировано путем введения из 2'-О, 4'-С метиленового мостика.

5. *Choo Q.-L.* [et al.]. Isolation of a CDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome // *Science*. — 1989. — Vol. 244. — P. 59—362.
6. *Fan Z.* [et al.]. Specific in vitro association between the hepatitis C viral genome and coreprotein // *J. Med. Virol.* — 1999. — Vol. 59. — P. 131—134.
7. *Feinstone S. M.* [et al.]. Transfusion-associated hepatitis not due to viral hepatitis type A or B // *N. Engl. J. Med.* — 1975. — Vol. 292. — P. 767—770.
8. *Feng G. S.* [et al.]. (June 1992). Identification of double-stranded RNA-binding domains in the interferon-induced double-stranded RNA-activated p68 kinase // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. — 1992. — Vol. 89. — № 12. — P. 5447—5451.
9. *El Omari K.* [et al.]. Unexpected structure for the N-terminal domain of hepatitis C virus envelope glycoprotein E1 // *Nat. Commun.* — 2014. — Vol. 5. — P. 4874.
10. *Foster T. L.* [et al.]. Resistance mutations define specific antiviral effects for inhibitors of the hepatitis C virus p7 ion channel // *Hepatology*. — 2011. — Vol. 54. — P. 79—90.
11. *Gosert R.* [et al.]. Identification of the hepatitis C virus RNA replication complex in Huh-7 cells harboring subgenomic replicons // *J. Virol.* — 2003. — P. 5487—5492.
12. *Hourioux C.* [et al.]. The genotype 3-specific hepatitis C virus core protein residue phenylalanine 164 increases steatosis in an in vitro cellular model // *Gut*. — 2007. — Vol. 56. — P. 1302—1308.
13. *Jiang X. H.* [et al.]. Inhibition of expression of hepatitis C virus 1b genotype core and NS4B genes in HepG2 cells using artificial micrornanass // *Mol. Med. Rep.* — 2015. — Vol. 12. — № 2. — P. 1905—1913.
14. *Jopling C. L.* Regulation of hepatitis C virus by microRNA-122 // *Biochem Soc Trans.* — 2008. — Vol. 36. — P. 1220—1223.
15. *Kaito M.* [et al.]. Morphological identification of hepatitis C virus e1 and E2 envelope glycoproteins on the virion surface using immunogold electron microscopy // *Int. J. Mol. Med.* — 2006. — Vol. 18. — P. 673—678.
16. *Khan A. G.* [et al.]. Structure of the core ectodomain of the hepatitis C virus envelope glycoprotein 2 // *Nature*. — 2014. — Vol. 509. — P. 381—384.
17. *Khan A. G., Miller M. T., Marcotrigiano J.* HCV glycoprotein structures: what to expect from the unexpected // *Curr. Opin. Virol.* — 2015. — Vol. 16. — № 12. — P. 53—58.
18. *Kim S.* [et al.]. Crystalline form of methyl ((1s)-1-(((2s)-2-(5-(4'-(2-((2s)-1-((2s)-2-((methoxycarbonyl)amino)-3-methylbutanoyl)-2-pyrrolidinyl)-1h-imidazol-5-yl)-4-biphenyl)-1h-imidazol-2-yl)-1-pyrrolidinyl)carbonyl)-2 methylpropyl)carbamate dihydrochloride salt. WO2009020828A1.

19. *Kong L.* [et al.]. Hepatitis C virus E2 envelope glycoprotein core structure // *Science*. — 2013. — Vol. 342. — P. 1090—1094.
20. *Kunkel M., Watowich S. J.* Biophysical characterization of hepatitis C virus core protein: implications for interactions within the virus and host // *FEBS Lett.* — 2004. — Vol. 557. — № 1—3. — P. 174—180.
21. *Kumthip K.* [et al.]. Correlation between mutations in the core and NS5A genes of hepatitis C virus genotypes 1a, 1b, 3a, 3b, 6f and the response to pegylated interferon and ribavirin combination therapy // *J. Viral. Hepat.* — 2011. — Vol. 18. — № 4. — P. 117—125.
22. *Law J. L.* [et al.]. A hepatitis C virus (HCV) vaccine comprising envelope glycoproteins gpE1/gpE2 derived from a single isolate elicits broad cross-genotype neutralizing antibodies in humans // *PLoS One*. — 2013. — 8:e59776.
23. *Li Y.* [et al.]. Hepatitis C virus activates Bcl-2 and MMP-2 expression through multiple cellular signaling pathways // *J. Virol.* — 2012. — Vol. 86. — № 23. P. 12531—12543.
24. *Li M.* [et al.]. MicroRNA-185-5p mediates regulation of SREBP2 expression by hepatitis C virus core protein // *World J Gastroenterol.* — 2015. — Vol. 21. — № 15. — P. 4517—4525.
25. *Lindenbach B. D., Rice C. M.* Unravelling hepatitis C virus replication from genome to function // *Nature*. — 2005. — Vol. 436. — № 7053. — P. 933—938.
26. *Lukavsky P. J.* [et al.]. Structures of two RNA domains essential for hepatitis C virus internal ribosome entry site function // *Nat Struct Biol.* — 2000. — Vol. 7. — P. 1105—1110.
27. *Lupberger J.* [et al.]. EGFR and EphA2 are host factors for hepatitis C virus entry and possible targets for antiviral therapy // *Nat. Med.* — 2011. — Vol. 17. — P. 589—595.
28. *Meylan E.* [et al.]. Cardif is an adaptor protein in the RIG-I antiviral pathway and is targeted by hepatitis C virus // *Nature*. — 2005. — Vol. 437. — № 7062. — P. 1167—1172.
29. *Miyazari Y.* [et al.]. The lipid droplet is an important organelle for hepatitis C virus production // *Nat. Cell. Biol.* — 2007. — Vol. 9. — P. 1089—1097.
30. *Moradpour D., Penin F., Rice C. M.* Replication of hepatitis C virus // *Nat. Rev. Microbiol.* — 2007. — Vol. 5. — № 6. — P. 453—463.
31. *Nitta S.* [et al.]. Hepatitis C virus NS4B protein targets STING and abrogates RIGI-mediated type-I interferon-dependent innate immunity // *Hepatology*. — 2013. — Vol. 57. — № 1. — P. 46—58.
32. *Pileri P.* [et al.]. Binding of hepatitis C virus to CD81 // *Science*. — 1998. — Vol. 282. — P. 938—941.
33. *Piodi A.* [et al.]. Morphological changes in intracellular lipid droplets induced by different hepatitis C virus genotype core sequences and relationship with steatosis // *Heptatol.* — 2008. — Vol. 48. — P. 16—27.

34. *Ranjith-Kumar C. T.* [et al.]. Requirements for de novo initiation of RNA synthesis by recombinant flaviviral RNA-dependent RNA polymerases // *J. Virol.* — 2002. — Vol. 76. — № 24. — P. 12526—12536.
35. *Ray S. C. Thomas D. L.* Chapter 154: Hepatitis C // *Mandell, Douglas and Bennett's principles and practice of infectious diseases* (7-th ed.). — Philadelphia, PA: Churchill Livingstone, 2009.
36. *Rehermann B.* Hepatitis C virus versus innate and adaptive immune responses: a tale of coevolution and coexistence // *J Clin Invest.* — 2009. — Jul. — Vol. 19(7). — P. 1745—54.
37. *Roingeard P., Hourieux C.* Hepatitis C virus core protein, lipid droplets and steatosis // *J Viral Hepat.* — 2008. — Vol. 15. — P. 157—164.
38. *Sedano C. D., Sarnow P.* Interaction of host cell micromas with the HCV RNA genome during infection of liver cells // *Semin Liver Dis.* — 2015. — Vol. 35. — № 1. — P. 75—80.
39. *Shiu T. Y.* [et al.]. Hepatitis C virus core protein down-regulates p21 (Waf1/Cip1) and inhibits curcumin-induced apoptosis through microRNA-345 targeting in human hepatoma cells // *PLoS One.* — 2013. — Vol. 8. — № 4. — P. 1089.
40. *Shimoike T. S.* [et al.]. Interaction of hepatitis C virus core protein with viral sense RNA and suppression of its translation // *J. Virol.* — 1999. — Vol. 73. — P. 9718—9725.
41. *Shimoike T.* [et al.]. Translational insensitivity to potent activation of PKR by HCV IRES RNA // *Antiviral Res.* — 2009.
42. *Steinmann E., Pietschmann T.* Hepatitis C virus p7-a viroporin crucial for virus assembly and an emerging target for antiviral therapy // *Viruses.* — 2010. — Vol. 2. — № 9. — P. 2078—2095.
43. *Song Y.* [et al.]. The hepatitis C virus RNA 3'-untranslated Sharma: New therapeutic approaches for HCV 29 region strongly enhances translation directed by the internal ribosome entry site // *J. Virol.* — 2006. — P. 11579—11588.
44. *Suzuki R.* [et al.]. Molecular determinants for subcellular localization of hepatitis C virus core protein // *J. Virol.* — 2005. — Vol. 79. — P. 1271—1281.
45. *Suzuki T.* Morphogenesis of infectious hepatitis C virus particles // *Front Microbiol.* — 2012. — Vol. 3. — P. 38.
46. *Sun Li-Qiang, Scola P. M.* Preparation of tripeptides incorporating deuterium as inhibitors of hepatitis C virus. — PCT Int. Appl. — WO2012166459.
47. *Targett-Adams P.* [et al.]. Maturation of hepatitis C virus core protein by signal peptide peptidase is required for virus production // *J. Biol. Chem.* — 2008. — Vol. 283. — P. 16850—16859.
48. *Thelu M.* [et al.]. Lack of clinical significance of variability in the internal ribosome entry site of hepatitis C virus // *Med. Virol.* — 2004. — Vol. 72. — № 3. — P. 396—405.

49. *Thibault P. A.* [et al.]. Regulation of hepatitis C virus genome replication by Xrn1, and microRNA-122 binding to individual sites in the 5' UTR // *J. Virol.* — 2015. — Vol. 89. — № 12. — P. 6294—6311.
50. *Tsutsumi T.* [et al.]. Proteomics analysis of mitochondrial proteins reveals overexpression of a mitochondrial protein chaperon, prohibitin, in cells expressing hepatitis C virus core protein // *Heptatol.* — 2009. — Vol. 50. — P. 378—386.
51. *Wakita T.* [et al.]. Production of infectious hepatitis C virus in tissue culture from a cloned viral genome // *Nat. Med.* — 2005. — Vol. 11. — P. 791—796.
52. *Williamson C. D., Colberg-Poley A. M.* Access of viral proteins to mitochondria via mitochondria-associated membranes // *Rev. Med. Virol.* — 2009. — Vol. 19. — P. 147—164.
53. *Yang F.* [et al.]. Cyclophilin A is an essential cofactor for hepatitis C virus infection and the principal mediator of cyclosporine resistance in vitro // *J. Virol.* — 2008. — Vol. 82. — № 11. — P. 5269—5278.
54. *Zhdanov K., Lobzin Y., Mukomolov S.* Clinical and morphologic features of asymptomatic «carriers» // *J. of Hepatology.* — 1998. — Vol. 28. — № 1. — P. 214.
55. *Zeisel M.* [et al.]. Hepatitis C virus entry: molecular mechanisms and targets for antiviral therapy // *Front Biosci.* — 2009. — Vol. 14. — P. 3274—3285.