2. Бокарев И. Н., Дулин П. А., Овчинников Ю. В., Симоненко В. Б. Артериальная гипертония: современное состояние проблемы. Клин. мед. 2017.
3. Овчинников Э. М. Статистический анализ региональных фармацевтических рынков / Э. М. Овчинников // Открытое образование. – М. 2017. С. 85-89.
4. Перцев И. М., Зупанец И. А. Биологическая фармация — современная теория оптимального производства и использования лекарств / И. М. Перцев, И. А. Зупанец. - Клиническая фармация. – М., 2015. Т. 3. – 876с.

ПЕРСПЕКТИВЫ В ТЕРАПИИ ВИРУСНОГО ГЕПАТИТА В, НАПРАВЛЕННОЙ НА HBX АНТИГЕН

Савельева А. А., Астудин Е. С., Алексанян А. М., Русановский В.В.
Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет
Научный руководитель – д.м.н., профессор кафедры фармакологии с курсом клинической фармакологии и фармакоэкономики Русановский В. В.

Введение. Заболеваемость вирусным гепатитом В является актуальной проблемой здравоохранения, в связи с чем остается открытым вопрос о разработке новых подходов к терапии заболевания. Цель. Проанализировать современные данные о молекулярных механизмах патогенеза вирусного гепатита В и перспективных направлениях противовирусной терапии. Материалы и методы. Выполнен поиск литературных источников и их анализ на платформах Elibrary, PubMed, КиберЛенинка, Scopus с целью идентификации результатов современных исследований в сфере патогенеза вирусного гепатита В и основных перспективных направлений противовирусной терапии. Результаты. Получены данные о механизмах функционирования белка HBx вирусного гепатита В. Идентифицированы три перспективных направления в противовирусной терапии, направленных на снижение продукции белка HBx или ограничение его активности: нитазоксанид – препарат, подавляющий важное для патогенеза вирусного гепатита взаимодействие HBx с белками клетки хозяина; дикумарин – вещество, способствующее деградации HBx; моноклональные антитела против HBx. Выводы. Белок HBx является важнейшим звеном в патогенезе вирусного гепатита В. Противовирусная HBx-таргетированная терапия является потенциально эффективной в лечении острых и хронических форм вирусного гепатита В и требует дальнейших исследований.

Ключевые слова: вирусный гепатит В; HBx антиген; нитазоксанид; дикумарин; моноклональные антитела

Введение. Согласно оценкам ВОЗ в 2019 году в мире насчитывалось 296 000 000 человек, живущих с хроническим гепатитом В, при этом ежегодно происходит около 1,5 миллиона новых случаев инфицирования. В 2019 г. от гепатита В (ВГВ) умерло 820 000 человек, главным образом в результате цирроза печени и гепатоцеллюлярной карциномы (первичного рака печени) [1]. И хотя в России на данный момент проблема заболеваемости купирована повсеместной вакцинацией от гепатита В, по данным анализа заболеваемости, проведенным Михайловой Ю. В. и соавт. [2], в 2015-2021 гг. на долю взрослого населения приходилось 0,9 случаев заболевания на 100 000 населения, а среди детей наиболее высокая заболеваемость отмечалась у детей до года (в среднем - 0,3 на 100 000 населения).

Детальное изучение молекулярной биологии патогенеза ВГВ в прошлом было затруднено, однако с появлением клеточных линий гепатоцеллюлярной карциномы человека HepG2 и других появилась возможность детального изучения функционирования вирусных белков, в том числе HBx-антигена. Ранее HBx-антиген описывался как регулятор транскрипции вирусных белков, однако результаты анализа недавних исследований *in vivo* и *in vitro* позволяют говорить о том, что HBx является многофункциональным белком и может играть значительную роль в развитии фиброза печени, воздействуя на сигнальные пути клетки хозяина, а также влияя на транскрипцию и трансляцию не только вирусного генома, но и генома гепатоцита. В связи с этими данными открываются новые перспективы в противовирусной терапии вирусного гепатита В.

Целью работы является анализ современных данных о патогенезе вирусного гепатита В и перспективных направлениях противовирусной терапии.

Материалы и методы исследования. Поиск и анализ литературных источников на платформах Elibrary, PubMed, КиберЛенинка, Scopus по теме исследования.

Результаты исследования. ВГВ — вирус, относящийся к семейству Hepadnaviridae. Является оболочечным вирусом с частично замкнутой кольцевой ДНК. Строго видо- и тканеспецифичен по отношению к гепатоцитам человека. Геном вируса содержит четыре

перекрывающиеся открытые рамки считывания, с которых транслируется семь белков. Ген С кодирует прекоровый белок, который впоследствии становится HBc-антигеном, а также HBe антиген. Ген P кодирует вирусную ДНК-полимеразу. Ген S кодирует три поверхностных антигена: большой поверхностный антиген (L-HBsAg), средний поверхностный антиген (M-HBsAg) и малый поверхностный антиген (S-HBsAg). Ген X кодирует белок HBx [3]. Долгое время структура и функции HBx оставались малоизученными в связи с отсутствием клеточных линий для его изучения. С появлением клеточных линий, таких как культура клеток гепатоцеллюлярной карциномы человека и других появились новые данные о структуре белка HBx и его функциях. По результатам исследований, HBx является многофункциональным белком, реализующим свои функции в различных компартментах клетки, и как предполагается, является ключевым фактором развития фиброза печени. HBx антиген способен влиять на ключевые для выживания сигнальные пути клетки, как влияя напрямую на геном гепатоцитов, так и взаимодействуя с белками цитоплазмы; в функции HBx-антигена входит контроль трансляции и транскрипции вирусного генома, а также его стабилизация и репликация путем снижения эффективности естественного противовирусного клеточного ответа [4].

Одним из наиболее хорошо изученных взаимодействий HBx с клеточными белками является опосредованное влияние на активацию E3-убиквитин-лигазы через взаимодействие с ДНК-связывающим белком 1. В норме убиквитин-лигаза осуществляет убиквитинирование ненужных или дефектных белков клетки с их последующей деградацией. В результате этого взаимодействия HBx получает контроль над некоторыми функциональными белками. Например, он опосредует деградацию комплекса белков структурного поддержания хромосом Smc 5/6, которые в норме обеспечивают спирализацию хроматина в ядре клетки и потенциально могли бы препятствовать экспрессии вирусных генов. Последствием убиквитинирования является их разрушение протеазами клетки, что приводит к нарушению репарации клеточной ДНК и одновременно стабилизации вирусной ДНК, что напрямую влияет на репликацию, трансляцию и транскрипцию вирусного генома. На восстановление функции этого комплекса белков в будущем может быть направлена специфическая противовирусная терапия [5].

На сегодняшний день существует перспективное направление в противовирусной терапии вирусного гепатита B, направленное на препятствие взаимодействия HBx с ДНК-связывающим белком-1 (ДСБ-1) и восстановление пула белков структурного поддержания хромосом Smc 5/6. Одним из препаратов, потенциально эффективным в терапии хронического гепатита B является Нитазоксанид (НТЗ) - тиазолидный противоинфекционный препарат, используемый за пределами Российской Федерации для лечения инфекций, вызванных простейшими, гельминтами и бактериями. В 2018 году в журнале Cellular and molecular gastroenterology and hepatology была опубликована статья, которая на сегодняшний день наиболее полно описывает недавно открытые противовирусные механизмы НТЗ по отношению к ВГВ. Kazuma Sekiba и соавт. протестировали 817 препаратов-кандидатов на борьбу с ВГВ. Ими были определены пять препаратов-кандидатов: торемифен, лоперамид, пимозид, винбластин и НТЗ. Некоторые из этих соединений не показали значительных эффектов в различных клеточных линиях, при этом НТЗ обладал наиболее воспроизводимой и сильной ингибирующей функцией среди этих соединений в культурах клеткок HEK293T и HepG2. В дальнейших опытах было установлено, что НТЗ успешно ингибирует взаимодействие HBx и ДСБ-1, что приводит к восстановлению уровня белков структурного поддержания хромосом Smc5/6 и подавлению вирусной транскрипции. Было выявлено значительное снижение интенсивности репликации вируса и синтеза вирусной мРНК под действием НТЗ. Эти данные были подтверждены опытами на естественной модели заражения - клеточной линии гепатоцитов человека, где было показано, что НТЗ способен ингибировать репликацию вируса на ранних стадиях размножения[6].

В 2019 году издание «Hepatology Communications» опубликовало исследование активности нитазоксанида при лечении хронического вирусного гепатита B (ХГВ). Участие

приняли девять мужчин в возрасте не менее 17 лет с ХГВ без цирроза с различным уровнем вирусных антигенов. Серьезных побочных эффектов, требующих прекращение терапии, не наблюдалось ни у одного исследуемого, однако были отмечены побочные действия со стороны ЖКТ, такие как диарея и боль в эпигастрии. Эти эффекты были преходящими и прошли в процессе лечения пациентов. ДНК вирусного гепатита В стала необнаруживаемой (<38 МЕ/мл) в сыворотке 8 из 9 испытуемых (89%) после 4-20 недель терапии нитазоксанидом. У двух пациентов с положительным HBeAg он перестал обнаруживаться через 4 и 16 недель соответственно. У троих испытуемых (33%) перестал выявляться HBsAg, у двоих через 8 недель и у одного через 48 недель лечения. Пациент №1 с более поздними ответами на терапию (20 недель с неопределяемой ДНК ВГВ, 16 недель с отрицательным результатом HBeAg и 48 недель с отрицательным результатом HBsAg) получал 500 мг НТЗ только один раз в сутки [7].

Таблица 1. Исследование активности НТЗ при лечении гепатита В, в котором принимали участие 9 пациентов с хроническим гепатитом В с различным уровнем определяемый вирусных частиц

Вирусный антиген, определяемый у испытуемых	ДНК ВГВ	HBeAg	HBsAg
До терапии	100% (9 из 9)	22% (2 из 9)	100% (9 из 9)
После терапии	11% (1 из 9)	0% (0 из 9)	77% (7 из 9)

Другим препаратом, подавляющим активность HBx, является дикумарин – природный антикоагулянт непрямого действия. Известно, что он также является ингибитором фермента НАД(Ф)Н-хиноноксидоредуктазы-1, который в клетках человека катализирует двухэлектронное восстановление хинонов до гидрохинонов. В 2021 году Sheng-Tao Cheng и соавт. показали, что этот фермент также способствует стабилизации HBx-антигена и препятствует его протеасомной деградации. По результатам их исследования на клеточных культурах, обработка клеток дикумарином способствовала деградации HBx и значительно снижала уровень транскрипции вирусной ДНК. Таким образом, дикумарин проявляет сильную противовирусную активность *in vitro*, но его применение в клинической практике может быть ограничено вследствие его гепатотоксических свойств, что, однако, может быть скорректировано путем подбора терапевтических доз в дальнейших исследованиях [8].

В 2018 году журнал “Theranostics” опубликовал исследование Zhang JF и соавт. В этом исследовании предлагается новый метод лечения вирусного гепатита В с помощью моноклональных антител к HBx белку. Авторы пришли к выводу, что рекомбинантное антитело 9D11-Tat может эффективно внедряться внутрь клеток и значительно ингибировать транскрипцию, репликацию и продукцию вирусного белка как *in vitro*, так и *in vivo*. Также дальнейшие анализы показали, что данное антитело может значительно снизить внутриклеточную концентрацию HBx посредством деградации белка, опосредованной Fc-связывающим рецептором TRIM21. Одновременно с этим, этот процесс стимулировал активацию NF-kB, AP-1 и IFN-β, что реактивировало противовирусный иммунитет клетки-хозяина [9].

Заключение. Недавно открытая значительная роль белка HBx в патогенезе вирусного гепатита В открывает новые возможности в противовирусной HBx-таргетированной терапии. На сегодняшний день ведутся исследования в данной области, результаты которых являются многообещающими и требуют дальнейшего изучения.

Список литературы

1. Hsu YC, Huang DQ, Nguyen MH. Global burden of hepatitis B virus: current status, missed opportunities and a call for action. Nat Rev Gastroenterol Hepatol. 2023 Aug;20(8):524-537. doi: 10. 1038/s41575-023-00760-9
2. Динамика заболеваемости вирусными гепатитами населения Российской Федерации в 2015-2021 гг / Ю. В. Михайлова, А. В. Громов, Е. Л. Аверьянова, С. А. Стерликов // Современные проблемы здравоохранения и медицинской статистики. – 2022. – № 4. – С. 269-297. – DOI 10. 24412/2312-2935-2022-4-269-297. – EDN DVYSXB.
3. Tsukuda S., Watashi K. Hepatitis B virus biology and life cycle //Antiviral research. – 2020. – Т. 182. – С. 104925. doi:10. 1016/j. antiviral. 2020. 104925
4. Schollmeier A., Glitscher M., Hildt E. Relevance of HBx for Hepatitis B Virus-Associated Pathogenesis //International Journal of Molecular Sciences. – 2023. – Т. 24. – №. 5. – С. 4964. doi. org/10. 3390/ijms24054964
5. Schollmeier A., Glitscher M., Hildt E. Relevance of HBx for Hepatitis B Virus-Associated Pathogenesis //International Journal of Molecular Sciences. – 2023. – Т. 24. – №. 5. – С. 4964. doi:10. 3390/ijms24054964

6. Sekiba K., Otsuka M., Ohno M., Yamagami M., Kishikawa T., Suzuki T., Ishibashi R., Seimiya T., Tanaka. E, Koike K. Inhibition of HBV Transcription From cccDNA With Nitazoxanide by Targeting the HBx-DDB1 Interaction. Cell Mol Gastroenterol Hepatol. 2019;7(2):297-312. doi: 10. 1016/j. jcmgh. 2018. 10. 010.
7. Rossignol J. F., Bréchot C. A Pilot Clinical Trial of Nitazoxanide in the Treatment of Chronic Hepatitis B. Hepatol Commun. 2019 Mar 29;3(6):744-747. doi: 10. 1002/hep4. 1339.
8. Cheng ST, Hu JL, Ren JH, Yu HB, Zhong S, Wai Wong VK, Kwan Law BY, Chen WX, Xu HM, Zhang ZZ, Cai XF, Hu Y, Zhang WL, Long QX, Ren F, Zhou HZ, Huang AL, Chen J. Dicoumarol, an NQO1 inhibitor, blocks cccDNA transcription by promoting degradation of HBx. J Hepatol. 2021 Mar;74(3):522-534. doi: 10. 1016/j. jhep. 2020. 09. 019.
9. Zhang JF, Xiong HL, Cao JL, Wang SJ, Guo XR, Lin BY, Zhang Y, Zhao JH, Wang YB, Zhang TY, Yuan Q, Zhang J, Xia NS. A cell-penetrating whole molecule antibody targeting intracellular HBx suppresses hepatitis B virus via TRIM21-dependent pathway. Theranostics. 2018 Jan 1;8(2):549-562. doi: 10. 7150/thno. 20047.