

HEPATITO C VIRUSO SANDARA IR GYVAVIMO CIKLAS

HEPATITIS C STRUCTURE AND LIFE CYCLE

V. LIAKINA

Vilniaus universiteto Medicinos fakulteto Gastroenterologijos, nefrourologijos ir chirurgijos klinikos
Hepatologijos, gastroenterologijos ir dietologijos centras
*Centre of Hepatology, Gastroenterology and Dietetics, Clinic of Gastroenterology, Nephrourology
and Surgery, Faculty of Medicine, Vilnius University, Lithuania*

Valentina Liakina

*Hepatologijos, gastroenterologijos ir dietologijos centras
M.K. Čiurlionio g. 21, Vilnius
valentina.liakina@santa.lt*

SANTRAUKA

REIKŠMINIAI ŽODŽIAI: hepatito C virusas, genomai, struktūra, gyvavimo ciklas.

Hepatito C sukėlėjas yra apie 50 nm skersmens, priklausantis *Flaviviridae* šeimos *Hepacivirus* rūšiai RNR virusas. HCV genomai paslėptas šerdinio baltymo struktūroje – nukleokapsidėje, kuri yra padengta bilipidinio sluoksnio membrana su apvalkalo baltymų kompleksais. HCV genomai susidaro iš dviejų netransliuojamų regionų ir atviro skaitymo rėmelio, kuriame yra užkoduotas HCV polibaltymas. Veikiamas hepatocito ir viruso proteazių polibaltymas sukarponomas į atskirus struktūrinius (šerdinis C, apvalkalo E1 ir E2) ir nestruktūrinius (p7, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A, NS5B) HCV baltymus, kurie pagal savo savybes yra polifunkciniai. Straipsnyje pristatyta HCV baltymų ir gyvavimo ciklo charakteristika, remiantis naujausiais literatūros duomenimis, šių žinių pritaikymas hepatito C infekcijos laboratorinės diagnostikos ir gydymo optimizavimui.

ĮVADAS

Virusas (lot. *nuodai*) – tai submikroskopinė būtybė, susidedanti iš vienos baltymais padengtos nukleininės rūgšties grandinės, kuri geba daugintis (replikuoti) tik augalų arba gyvūnų ląstelėje. Daugelis virusų yra patogeniški. Hepatito C virusas (HCV) dauginasi tik primatų hepatocituose sukeldamas kepenų uždegimą (virusinį C hepatitą). Manoma, kad pasaulyje yra per 170 000 000 HCV infekuotų žmonių. Apie 50-80 proc. infekuotųjų susergera lėtine hepatito C forma, iš jų 4-20 proc. per dvidešimt metų išsivysto kepenų cirozė, kuri 2-25 proc. komplikuojasi pirminiu kepenų naviku – hepatoceliuline karcinoma [1, 2].

Tai, kad virusinį hepatitą žmonėms sukelia ne tik hepatito A ir B virusai, tapo aišku nuo praeito šimtmečio aštuoniasdešimtųjų vidurio [3, 4]. O 1980 metais buvo išsamiai aprašyta nei-A, nei-B virusinio hepatito klinika [5]. Tačiau niekaip nepavykdavo nustatyti šio virusinio hepatito sukė-

ABSTRACT

KEY WORDS: Hepatitis C virus, genome, structure, life cycle

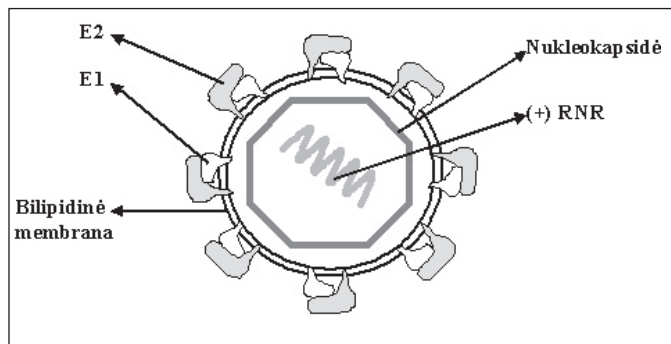
Hepatitis C pathogen is about 50 nm in diameter, positive single-stranded RNA virus that belongs to *Flaviviridae* family, *Hepacivirus* genus. HCV has a nucleocapsid with viral genome coated by lipid membrane with incorporated envelope protein complexes. HCV genome consists of two non-translated regions (5'- and 3'-NTR) and open reading frame with encoded viral polyprotein. Structural (core, E1 and E2) and non-structural HCV proteins (p7, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A, NS5B) occur after cleavage of polyprotein by endoplasmic reticulum signal peptidase and viral proteases. The review presents current updates of HCV life cycle and protein function, application of this knowledge for optimization of HCV infection laboratory diagnosis and treatment.

lėjo. HCV ribonukleininė rūgštis (HCV RNR), tiksliau, polibaltymą koduojančia nukleotidų seka, buvo nustatyta tik 1989 metais [6]. Tais pačiais metais buvo sukurtas ir anti-HCV antikūnų diagnostinis testas [7].

HCV SANDARA IR SAVYBĖS

HCV yra smulkus, apie 50 nm skersmens, mažesnis už matomos šviesos bangos ilgį, todėl bespalvis, priklausantis *Flaviviridae* šeimos *Hepacivirus* rūšiai virusas, jo genomai (vienvija RNR grandinė) supakuotas į šerdinio baltymo (*core*) polimerinę struktūrą, vadinamą kapside, kuri padengta bilipidinio sluoksnio membrana su joje įtvirtintais apvalkalo baltymų E1 ir E2 kompleksais (*E – envelope*) (1 pav.).

HCV, kaip ir kiti RNR virusai, linkę mutuoti, nes RNR-polimerazė (fermentas, atsakingas už HCV genomai replikaciją) padaro nemažai klaidų (iki 10 nukleotidų



1 pav. HCV sandaros schema

vienam HCV genomui) [8]. Tai suteikia virusui pavojingą gyvybingumą, tačiau kartu HCV nestabilus, žūsta kraujo mėginiuose ir bioplatuose, laikant kambario temperatūroje, pakartotinai šaldant ir šildant, dėl RNA-zių (fermentų, ardančių RNR grandines). HCV taip pat greitai žūsta saulės šviesoje, veikiant šilumai, ozonui, detergentams ir dezinfektantams [9]. Todėl didžiausia rizika užsikrėsti HCV yra tiesioginis kraujo, atviros žaizdos arba gleivinės kontaktas su virusu: kraujo perpylimai, invazinės procedūros ir pan. [10].

HCV GENOTIPAI, SUBTIPAI IR PADERMĖS

HCV genotipai – tai HCV variantai, besiskiriantys 1/3 genomo sekos. Šiuo metu nustatyta 11 HCV genotipų (1 lentelė). Pagrindiniai HCV genotipai yra 1-6, o 7-11 pagal nukleotidų seką yra labai panašūs į 6 genotipą ir randami tik atskiruose geografiniuose regionuose [11]. Labiausiai pasaulyje yra paplitę 1-3 HCV genotipai [12].

HCV subtipai – tai HCV genotipo variantai, besiskiriantys tarp savęs iki 10-20 proc. nukleotidų sekos. Jų nustatyta daugiau nei 100, pagrindiniai išvardinti 1 lentelėje.

HCV padermės (*quasispecies*) – mažiau nei 5-10 proc. nukleotidų sekos besiskiriantys tam tikro HCV genotipo ir subtipo variantai. Esant aktyviai viruso replikacijai, sergančiojo lėtine HCV infekcija žmogaus organizme nuolat atsiranda naujų viruso padermių. Tai viena iš infekcijos

1 LENTELĖ. HCV GENOTIPAI IR SUBTIPAI

HCV genotipai	HCV subtipai
1	1a, 1b, 1c
2	2a, 2b, 2c
3	3a, 3b
4	4a, 4b, 4c, 4d, 4e
5	5a
6	6a
7	7a, 7b
8	8a, 8b
9	9a
10	10a
11	11a

2 LENTELĖ. GEOGRAFINIS HCV GENOTIPŲ IR SUBTIPŲ PASISKIRSTYMAS

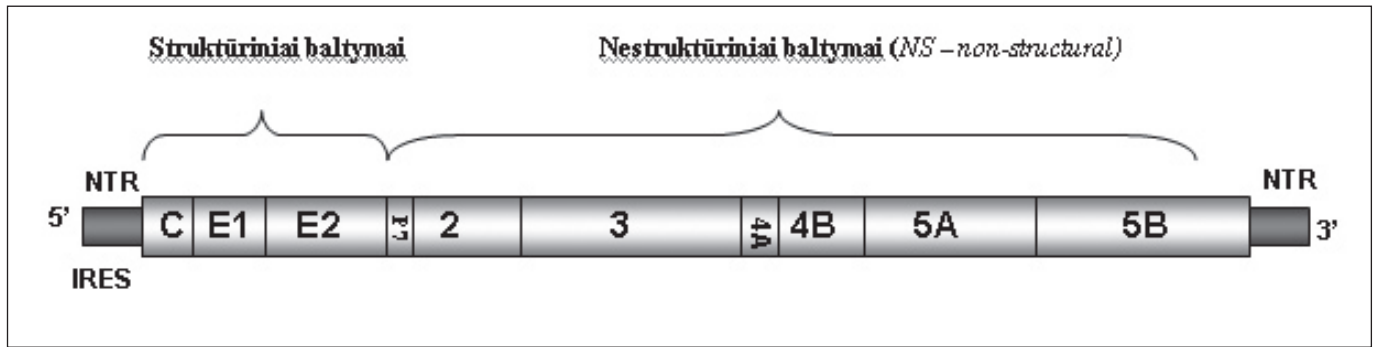
HCV genotipai	Geografiniai regionai
1a	Daugiausiai randamas Šiaurės ir Pietų Amerikoje, dažnas Australijoje
1b	Daugiausiai randamas Europoje ir Azijoje
2a	Dažniausias iš 2 genotipo Japonijoje ir Kinijoje
2b	Dažniausias iš 2 genotipo JAV ir Šiaurės Europoje
2c	Dažniausias iš 2 genotipo Vakarų ir Pietų Europoje
3a	Dominuojantis Australijoje (40 proc. atvejų) ir Pietų Azijoje
4a	Dominuojantis Egipte
4c	Dominuojantis Centrinėje Afrikoje
5a	Dominuojantis tik Pietų Afrikoje
6a	Paplitęs tik Honkonge, Makau ir Vietname
7a ir 7b	Dažnas Tailandė
8a, 8b, 9a	Dažniausias Vietname
10a, 11a	Randamas Indonezijoje

chronizacijos priežasčių. Manoma, bet dar neįrodyta, kad padermės lemia ligos progresavimą ir gydymo efektyvumą [12].

Pastebėta, kad skirtinguose žemės regionuose HCV genotipai ir subtipai pasiskirstę nevienodai (2 lentelė) [11]. Taip pat yra ligos eigos skirtumų: esant HCV 1 genotipui (ypač 1b) sergantiesiems lėtiniu C hepatitu greičiau išsivysto fibrozė po kepenų transplantacijos, bet natūraliam fibrozės progresavimui HCV genotipai įtakos neturi; HCV 3 genotipas patvirtintas kaip nepriklausomas steatozės rizikos faktorius [13-15]. Antivirusinio gydymo efektyvumas irgi priklauso nuo HCV genotipo: geriau atsako į gydymą užsikrėtę HCV 2, kiek blogiau – 3 genotipu, sunkiausiai pasiduoda gydymui 1 ir 4 genotipai, todėl skirtingiems genotipams rekomenduojama taikyti skirtingas gydymo schemas [16].

HCV genomus yra labai mažas, jį sudaro tik vienas genas (apie 9600 nukleotidų), bet kaip ir daugumos, ypač RNR virusų, demonstruoja stebėtiną polifunkcionalumą. HCV geno struktūra leidžia saugoti maksimalų kiekį genetinės informacijos mažoje RNR grandinėje, nes kiekvienas geninis produktas atlieka kelias funkcijas [17]. Geno pradžioje (5') ir pabaigoje (3') yra netransliuojami regionai (*NTR – non translated regions*), kurie nekoduoja baltyminės sekos, bet atlieka svarbias reguliacines funkcijas viruso geno ekspresijos ir replikacijos metu (2 pav).

5'-NTR, kurį sudaro apie 340 nukleotidų, yra transliaciją inicijuojantis kodonas ir IRES (*internal ribosome entry site*) – tiesiogiai su ribosomos 40S subvienetų HCV gena rišančia nukleotidų seka, kuri užtikrina greitą baltymų



2 pav. HCV geno sandaros schema

NTR – nekoduojantys baltyminės sekos, replikacijos ir viruso genų ekspresiją reguliuojantys geno regionai;

IRES – nukleotidų seka, atsakinga už HCV geno sujungimą su ribosoma;

struktūriniai HCV baltymai (sudaro kapsidę ir viruso apvalkalą);

nestrukūriniai HCV baltymai (viruso fermentai).

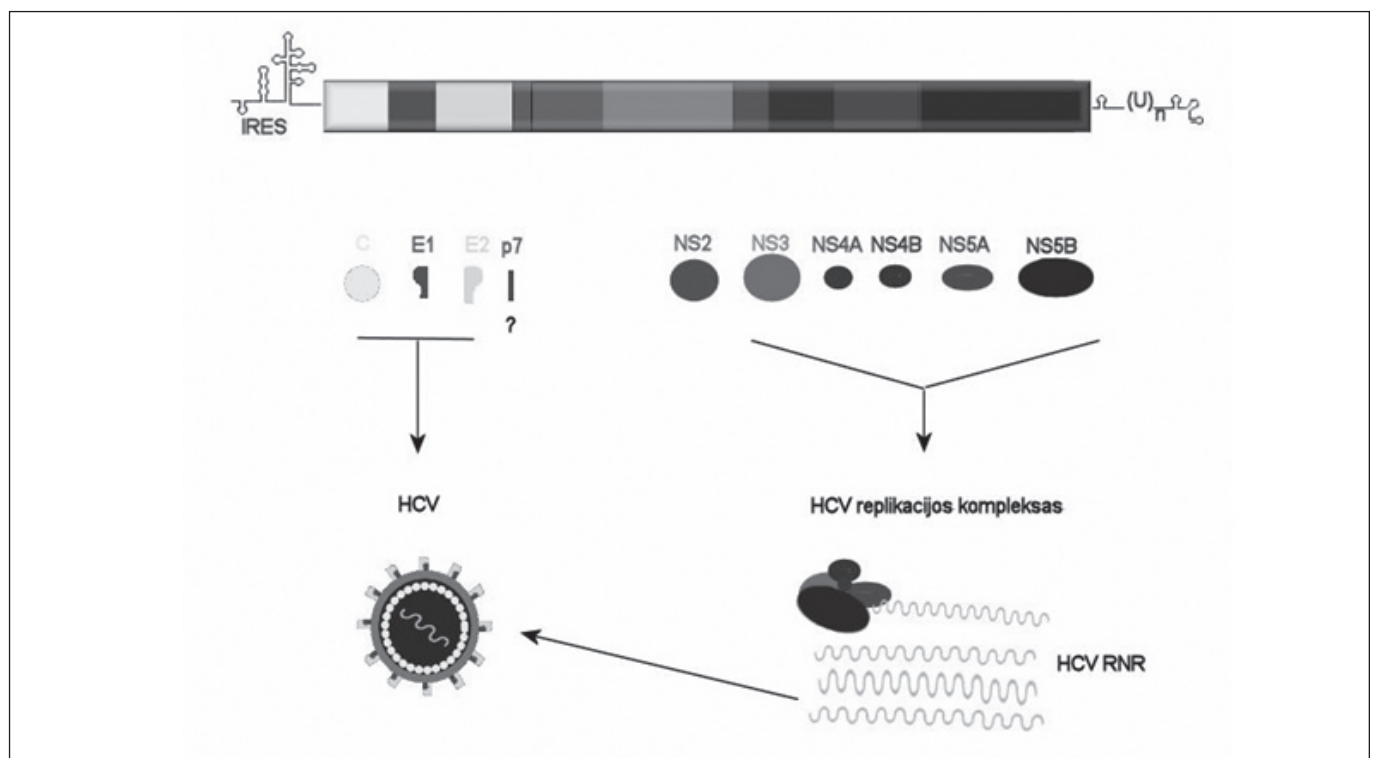
transliaciją, virusui patekus į hepatocitą [1]. IRES seka prasideda nuo 40 ir baigiasi ties 370 nukleotidu, sutapdama su koduojančiu HCV geno regionu [18]. 5'-NTR turi sudėtingą antrinę struktūrą, kuri užtikrina tinkamą IRES ir inicijuojančio kodono veiklą, taip pat sąveiką su hepatocito komponentais [19].

3'-NTR (200-235 nukleotidų) sudaro trumpa (40 nukleotidų) variabili seka, uracilo grandinė (poly-U) ir apie 98 nukleotidų labai konservatyvi seka. Mutacijos šio regiono variabilioje sekoje tik sumažina viruso replikacijos greitį, o poli-U ir konservatyvioje sekoje – visiškai stabdo replikaciją [20].

Netransliuojami regionai yra gyvybiškai svarbūs viruso dauginimuisi, juose retai aptinkamos mutacijos, bet jų nu-

kleotidų seka skiriasi tarp genotipų ir subtipų. Todėl HCV RNR kokybinis ir kiekybinis nustatymas, taip pat genotipavimas pagrįstas šių regionų analize.

HCV geno dalis tarp netransliuojamų regionų vadinama atviru skaitymo rėmeliu (*open reading frame*). Tai geno dalis, kurioje užkoduota per 3000 aminorūgščių grandinė (jos ilgis skiriasi tarp HCV genotipų ir subtipų), sudaranti vadinamąjį polibaltymą, kuris *procesingo* metu paveiktas hepatocito ir HCV proteazių skyla į 10 atskirų virusinių baltymų [21]. Vieni jų – struktūriniai – sudaro viruso nukleokapsidę (C- *core*) ir apvalkalą (E1, E2), kiti – nestrukūriniai (NS - *non-structural*) – formuoja HCV replikacijos kompleksą (2, 3 pav.).



3 pav. HCV baltymai ir jų funkcijos

HCV BALTYMAI IR JŲ FUNKCIJOS

Iš HCV polibaltymo N-galo yra užkoduotas šerdinis baltymas, apvalkalo baltymai E1 bei E2 ir p7 (jonų kanalas), kurie atskeliami nuo polibaltymo, veikiant hepatocito endoplazminio tinklo signalinėmis proteinazėmis (4 pav.) [19, 22]. Nestruktūriniai HCV baltymai atskiriami nuo polibaltyminės grandinės viruso proteinazėmis – NS2 ir NS3 [1].

HCV šerdinis (*core*) baltymas – 21 kDa (~190 aminorūgščių) konservatyvios, mažai besiskiriančios tarp HCV genotipų ir subtipų sekos šarminis baltymas, kuris homooligopolimerizacijos būdu formuoja viruso nukleokapsidę, kurioje yra supakuota viruso RNR (4 pav.). Šis baltymas yra polifunkcionalus – ne tik struktūrinis, bet ir reguliacinis. Jis reguliuoja kitų HCV baltymų transliaciją, dėl struktūrinių ypatumų gali sąveikauti su daugybe hepatocito signalinių baltymų ir fermentų, slopindamas hepatocito apoptozę, IFN genų ekspresiją bei imuninį atsaką į HCV. Jis sutrikdo lipidų apykaitos procesus, skatina steatozę, gali moduluoti signalo perdavimą ir genų transliaciją hepatocite [20, 23, 24].

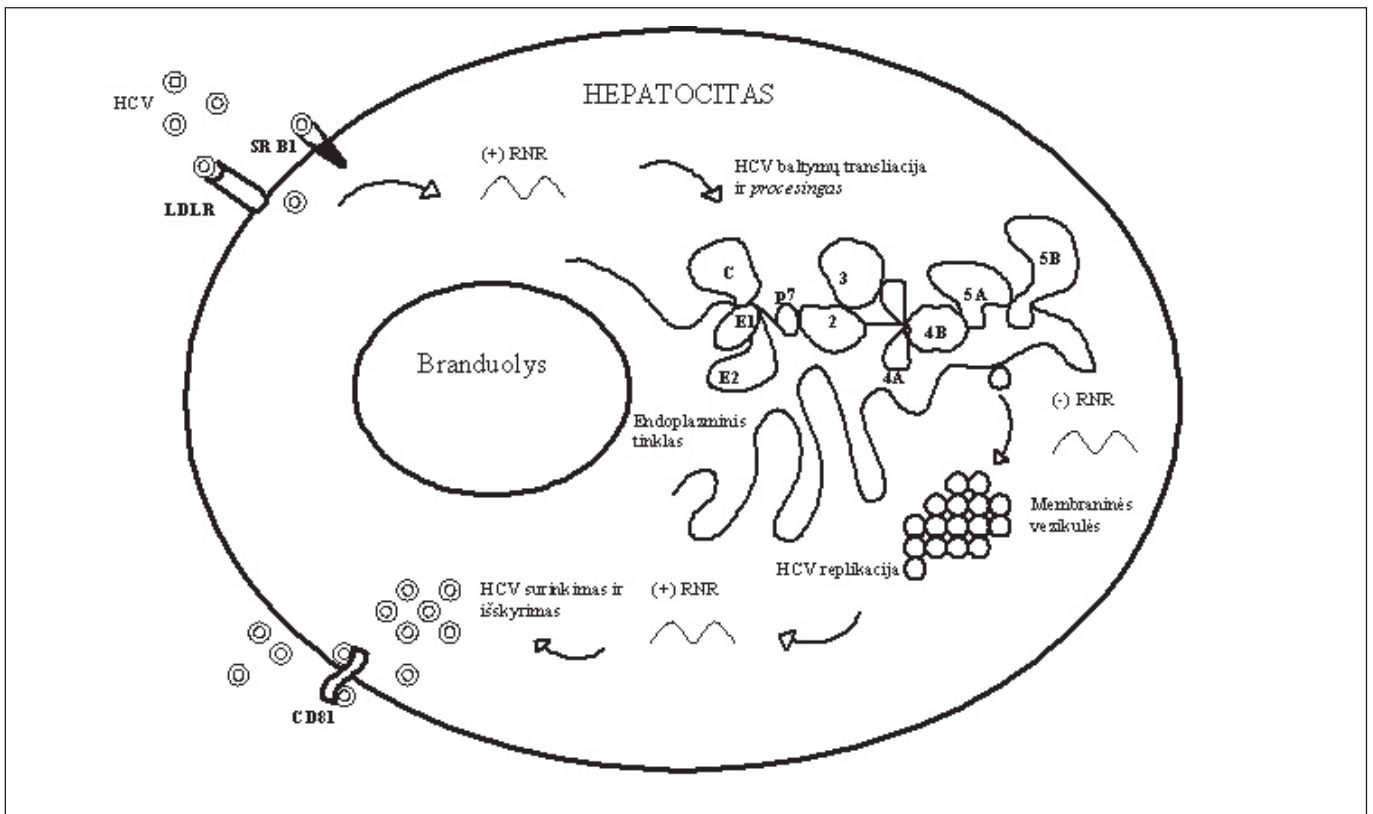
E1, E2 – labai variabilios sekos (E2 sekoje yra du hiper-variabilūs HCV genomo regionai), 35 ir 70 kDa glikoproteinai (~190 ir ~370 aminorūgščių), formuojantys heterodimerinius kompleksus HCV apvalkalo bilipidinio sluoksnio paviršiuje (4 pav.). Jie vaidina pagrindinį vaidmenį HCV prasiskverbimo į hepatocitą ir gyvybingų virusų formavimo

ir išskyrimo procesuose. E1 ir E2 pasižymi dideliu afinitumu lipoproteinams ir lipidų apykaitos junginiams bei jų receptoriams [25]. Manoma, kad virusui patekus į kraujotaką, E1-E2 kompleksas susiriša su lipidiniais junginiais ir taip „užsimaskavęs“ HCV pasiekia kepenis [26].

NS1 arba p7 – šio 7 kDa (63 aminorūgščių) baltymo funkcijos iki galo neišaiškintos, bet pagal savo struktūrą jis greičiausiai yra jonų kanalas [27]. Pagrindinė jonų kanalo (vioporino) funkcija yra sudaryti viruso fermentams palankų jonų gradientą tarp hepatocito endoplazminio tinklo išorinės ir vidinės membranos, užtikrinant efektyvią viruso replikaciją.

NS2 – 23 kDa (250 aminorūgščių) hidrofobinė nuo Zn-priklausoma cisteino proteinazė. Po p7 atskilimo nuo polibaltymo NS2 aktyvuojasi, sudaro kompleksą su NS3 ir atsilaisvina [28]. Yra duomenų, kad NS2 inhibuoja hepatocito apoptozę ir citokinų genų ekspresiją [29, 30]. Kitos funkcijos dar neišaiškintos.

NS3 – 70 kDa susideda iš dviejų skirtingų funkcinų domenų. Serino proteinazės domenas (~190 aminorūgščių), susijungdamas su NS2, kerpa polibaltymą ties NS2/NS3, o komplekse su NS4A – ties 4A/4B, 4B/5A ir 5A/5B [30]. NTPazės/helikazės domenas (442 aminorūgščių) yra polifunkcinis fermentas, svarbus viruso geno transkripcijai ir replikacijai: išvynioja dvigubą RNR, atsirandančią HCV replikacijos metu, vykdo NTP hidrolizę [31]. NS3 viruso replikacijos ir baltymų *processingo* metu sudaro kompleksus



4 pav. HCV gyvavimo ciklo schema

ne tik NS2 ir NS4A, bet ir su NS4B, NS5A bei NS5B [32]. Tai rodo, kad NS3 yra vienas iš esminių HCV replikacijos fermentų ir daro jį patraukliu taikiniu antivirusiniams vaistams kurti.

NS4A – yra NS3 kofaktorius. Tai apie 8 kDa (54 aminorūgščių) baltymas, kuris aktyvuoja ir stabilizuoja NS3 serino proteinazę [30].

NS4B – 27 kDa hidrofobinis baltymas, indukuojantis HCV replikacijos vietas – membraninių vezikulių (*membranous web*) – formavimą. Šiose vezikulėse yra visas HCV replikacijos kompleksas (5 pav.) [33].

NS5A – hidrofilinis apie 58 kDa fosfoproteinas. Manoma, kad jis dalyvauja HCV replikacijos procesuose, gali moduluoti atsaką į IFN terapiją, inhibuoti IFN genų aktyvacijos signalą [34]. Bet iki šiol žinios apie NS5A funkcijas yra kontraversiškos [32].

NS5B – 68 kDa nuo RNR priklausoma RNR polimerazė. Šis fermentas, panaudodamas HCV genomą kaip matricą, replikacijos pradžioje pagamina genomo kopijas (*minus-strand RNA template*), o iš jų – naujus HCV genomus (*plus-strand RNA*) [35]. Kartu su NS3 NTPazė/helikaze NS5B formuoja esminę HCV replikacijos fermentinio komplekso dalį, todėl NS5B taip pat vertinamas kaip perspektyvus specifinių antivirusinių vaistų taikinytis [32].

ARFP/F protein – neseniai nustatytas dar vienas HCV baltymas (160 aminorūgščių), kuris susideda iš dalies šerdinio baltymo aminorūgščių sekos ir alternatyvaus (neturinio startinio AUG kodono) skaitymo rėmelio sekos. Žinoma, kad jis atsiranda HCV gyvavimo ciklo metu, antikūnai prieš jį randami infekuotojo kraujyje, bet jo translacijos mechanizmas ir vaidmuo tik pradėtas aiškintis [1, 36].

HCV GYVAVIMO CIKLAS

Visavertis HCV gyvavimo ciklas vyksta tik kepenyse. Nei žmogaus hepatocitų, nei kitų ląstelių kultūroje virusas nereplikuoja. Žinios apie HCV gaunamos tik iš eksperimentinių modelių. Todėl, nepaisant duomenų gausos, vis dar neišaiškinta, kaip virusas patenka į hepatocitą, kaip susiformuoja ir išsiskiria. Žinomi tik atskiri etapai (4 pav.).

Infekuoto žmogaus kraujotakoje HCV randamas susijungęs su lipoproteinais arba imunoglobulinais ir laisvas (visiškai susiformavęs arba be apvalkalo – tik nukleokapsidė) [32]. Manoma, kad į hepatocitą virusas gali pakliūti tik susijungęs su lipoproteinais per lipidų apykaitos receptorių, esančius hepatocito išorinėje membranoje: LDLR (*Low Density Lipoprotein Receptor*) ir SR B1 (*Scavenger Receptor class B type I*) [26]. CD81 (tetraspaninas) – universalus signalo perdavimo receptorių, kuris randamas beveik visų ląstelių (išskyrus eritrocitus ir trombocitus) išorinėje membranoje, – sudaro stabilius kompleksus su E1-E2 heterodimerais, todėl taip pat buvo įvardijamas kaip HCV receptorių. Bet pagal naujausius eksperimentinius duome-

nis, labiausiai tikėtina, kad CD81 dalyvauja HCV išskyrimo iš hepatocito procese: jis susijungia su HCV citoplazmoje ir perkelia virusą per hepatocito membraną į tarpląstelinę erdmę [26].

Patekęs į hepatocitą, HCV netenka apvalkalo ir nukleokapsidės, atpalaiduoja RNR, kuri per IRES susiriša su ribosoma, esančia šiurkščiame endoplazminiame tinkle, ir prasideda viruso polibaltymo translacija [18]. Polibaltymo procesingo metu atsiradę viruso struktūriniai ir nestrukūriniai baltymai išsidėsto endoplazminio tinklo membranoje ir formuojasi vezikulės, kuriose vyksta HCV replikacija [35]. Nustatyta, kad viruso replikacijoje dalyvauja <5 proc. infekuotame hepatocite randamų HCV baltymų [37]. Koks likusių baltymų vaidmuo ir kiti viruso formavimosi bei išskyrimo etapai, dar neišaiškinta [1].

HCV STRUKTŪROS IR GYVAVIMO CIKLO ETAPŲ IDENTIFIKAVIMO NAUDA ŠIOS INFEKCIJOS LABORATORINĖS DIAGNOSTIKOS IR GYDymo TOBULINIMUI

Mokslinėse laboratorijose gautos žinios apie HCV struktūrą ir gyvavimo ciklą randa greitą pritaikymą klinikinėse laboratorijose. Nustačius HCV geno nukleotidų seką, konservatyvius, variabilius bei genotipams ir subtipams specifiskus regionus, buvo sukurti HCV RNR ir genotipų nustatymo metodai. Daugumos gamintojų HCV RNR kokybinio ir kiekybinio nustatymo rinkiniai analizuoja ypač konservatyvų 5' HCV genomo regioną, kuris gerai atspindi bendrą HCV RNR kiekį. HCV genotipų ir subtipų nustatymą taip pat galima atlikti analizuojant 5' regioną arba C, E1, NS3, NS4 ir NS5B regionus, kuriuose rasti stabiliai išliekantys nukleotidų sekos skirtumai tarp žinomų genotipų ir subtipų [11].

HCV baltymų aminorūgščių sekos išaiškinimas leido sukurti jautrius anti-HCV antikūnų nustatymo metodus, taikomus šios infekcijos rūšiavimo ir monitoringo tikslams, taip pat viruso serotipavimui. Anti-HCV antikūnų nustatymo rinkiniuose naudojamos rekombinantinės viruso baltymų antigeninės determinantės.

Pirmos kartos anti-HCV antikūnų ELISA (*enzyme-linked immunoassay*) rinkinys galėjo nustatyti antikūnus tik prieš NS3 ir NS4 (C100-3 antigenas), jo jautrumas buvo 64 proc. [6, 7]. ELISA testui patvirtinti kiek vėliau buvo sukurtas anti-HCV RIBA (*recombinant immunoblot assay*), kurio jautrumas siekia 55 proc. [38]. Nuo 1991 metų į klinikinės laboratorijas atėjo antros kartos anti-HCV ELISA ir RIBA diagnostiniai testai su NS3, NS4 ir šerdinio baltymo antigeninėmis determinantėmis [39, 40]. O nuo 1993 metų trečios kartos anti-HCV ELISA ir RIBA testai nustato antikūnus prieš šerdinio, NS3, NS4 ir NS5 baltymus, jų jautrumas ir specifškumas siekia 100 proc. [41, 42].

Sukauptos žinios apie HCV baltymų struktūrinius ir

funkcinius ypatumus suteikia galimybę atlikti daugybę tiriamųjų darbų, kuriant HCV specifinius vaistus, kurie pagerintų pegiliuoto interferono-ribavirino deriniu gydymo efektyvumą arba leistų sukurti naujus gydymo metodus.

Viena iš tokių vaistų kūrimo krypčių yra infekcijos slopinimas ankstyvoje stadijoje. Keičiant apvalkalinių baltymų erdvinę struktūrą, siekiama užkirsti kelią virusui patekti į hepatocitą: kuriami polikloniniai ir monoklininiai anti-E1 ir anti-E2 antikūnai (terapinė vakcinacija), bandoma modifikuoti apvalkalo baltymų N-glikanus [43].

Taip pat ieškoma būdų, kaip sutrukdyti visaverčių HCV formavimą ir išsiskyrimą, blokuojant apvalkalo baltymų glikozilinimą (pvz., afa-glukozidazės inhibitoriai), sulaukyti HCV RNR transportą hepatocito endoplazminių tinklų ir jos IRES surišimą su ribosoma [44].

Bet perspektyviausi darbai, ieškant HCV geno transliacijos, transkripcijos ir replikacijos etapų inhibitorių, atlikti, pvz. NS3 proteazės-helikazės ir NS5B polimerazės inhibitoriai pasiekia klinikinių tyrimų stadijas [35, 45]. Šie tyrimai teikia viltį, kad į klinikinę praktiką ateis nauja HCV-specifiškų vaistų karta.

LITERATŪRA

1. Brass V, Moradpour D, Blum HE. Molecular Virology of Hepatitis C Virus (HCV): 2006 Update. *Int J Med Sci.* 2006 1; 3(2):29-34.
2. Degos F, Christidis C, Ganne-Carrie N, Farmachidi JP, Degott C, Guettier C, et al. Hepatitis C virus related cirrhosis: time to occurrence of hepatocellular carcinoma and death. *Gut.* 2000; 47(1):131-6.
3. Barker LF, Gerety RJ. The clinical problem of hepatitis transmission. *Prog Clin Bio Res.* 1976; 11:163-82.
4. Feinstone SM, Kapikian AZ, Purcell RH, Alter HJ, Holland PV. Transfusion-associated hepatitis not due to viral hepatitis type A or B. *N Engl J Med.* 1975; 292(15):767-70.
5. Wyke RJ, Williams R. Clinical aspects non-A, non-B hepatitis infection. *J Virol Methods.* 1980; 2(1-2):17-29.
6. Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, Overby LR, Bradley DW, Houghton M. Isolation of cDNA clone derived from blood-borne non-A, non-B hepatitis genome. *Science.* 1989; 244(4902):359-62.
7. Kuo G, Choo QL, Alter HJ, Gitnick GL, Redeker AG, Purcell RH, et al. An assay for circulating antibodies to a major etiologic virus non-A, non-B hepatitis. *Science.* 1989 21; 244(4902):362-4.
8. Sallie R. Replicative Homeostasis: A fundamental mechanism mediating selective viral replication and escape mutation. *Virology J.* 2005; 2:10-24.
9. Purcell RH. Hepatitis C virus. In: Webster RG, Granoff A, eds. *Encyclopedia of Virology.* London: Academic Press Ltd; 1994. p. 569-74.
10. Williams IT, Perz JF, and Bell BP. Viral Hepatitis Transmission in Ambulatory Health Care Settings *Clinic Inf Dis.* 2004; 38:1592-8.
11. Grob P, Francois G. The hepatitis C virus. *Viral Hepatitis.* 2002; 11(1):1-24.
12. Franciscus A. HCV genotypes and quasi-species. In: *Franciscus A, editor. HCSP 2006. Version 2.* San Francisco; 2006:1-3.
13. Asselah T, Rubbia-Brandt L, Marcellin P, Negro F. Steatosis in chronic hepatitis C: why does it really matter? *Gut.* 2006; 55:123-30.
14. Chopra KB, Demetris AJ, Blakolmer K, Dvorchik I, Laskus T, Wang LF, et al. Progression of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C after orthotopic liver transplantation. *Transplantation.* 2003; 76(10):1487-91.
15. Poynard T, Bedossa P, Opolon P. Natural history of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. The OBSVIRC, METAVIR, CLINIVIR, and DOSVIRC groups. *Lancet.* 1997; 349(9055):825-32.
16. Heathcote J, Main J. Treatment of hepatitis C. *J Viral Hep.* 2005; 12(3):223-35.
17. Bartenschlager R, Kaul A, Sparacio S. Replication of the hepatitis C virus in cell culture. *Antiviral Res.* 2003; 60(2):91-102.
18. Reynolds JE, Kaminski A, Kettinen HE, Grace K, Clarke BE, Carroll AR, et al. Unique features of internal initiation of hepatitis C virus RNA translation. *EMBO J.* 1995; 14(23):6010-20.
19. Ali N, Pruijn GJ, Kenan DJ, Keene JD, Siddiqui A. Human La antigen is required for hepatitis C virus internal ribosome entry site-mediated translation. *J Biol Chem.* 2000; 275(36):27531-40.
20. Freibe P, Bartenschlager R. Genetic analysis of sequences in the 3' nontranslated region of hepatitis C virus that are important for RNA replication. *J Virol.* 2002; 76(11):5326-38.
21. Takamizawa A, Mori C, Fuke I, Manabe S, Murakami S, Fujita J, et al. Structure and Organization of the Hepatitis C Virus Genome Isolated from Human Carriers. *J Virol.* 1991; 65(3): 1105-1113.
22. Roingard P, Hourieux C, Blanchard E, Brand D, Ait-Goughoulte M. Hepatitis C virus ultrastructure and morphogenesis. *Biol Cell.* 2004; 96(2):103-8.
23. Sacco R, Tsutsumi T, Suzuki R, Otsuka M, Aizaki H, Sakamoto S, et al. Antiapoptotic regulation by hepatitis C virus core protein through up-regulation of inhibitor of caspase-activated DNase. *Virology.* 2003; 317(1):24-35.
24. Yamaguchi A, Tazuma S, Nishioka T, Ohishi W, Hyogo H, Nomura S, et al. Hepatitis C Virus Core Protein Modulates Fatty Acid Metabolism and Thereby Causes Lipid Accumulation in the Liver. *Dig Dis Sci.* 2005; 50(7):1361-71.
25. Voisset C, Dubuisson J. Functional hepatitis C virus envelope glycoproteins. *Biol Cell.* 2004; 96(6):413-420.
26. Favre D, Muellhaupt B. Potential cellular receptors involved in hepatitis C virus entry into cells. *Lipids Health Dis.* 2005; 4(1):9-15.
27. Griffin SDC, Beales LP, Clarke DS, Worsfold O, Evans SD, Jarger J, et al. The p7 protein of hepatitis C virus forms an ion channel that is blocked by the antiviral drug, amantadine. *FEBS Lett.* 2003; 535(1-3):34-8.
28. Thibeault D, Maurice R, Pilote L, Lamarre D, Pause A. In vitro characterization of purified NS2/3 protease variant of hepatitis C virus. *J Biol Chem.* 2001; 276(49):46678-84.
29. Erdtmann L, Franck N, Lerat H, Le Seyec J, Gilot D, Cannie I, et al. The hepatitis C virus NS2 protein is an inhibitor of CIDE-B-induced apoptosis. *J Biol Chem.* 2003; 278(20):18256-64.
30. Kaukinen P, Sillanpaa M, Kotenko S, Lin R, Hiscott J, Melen K, et al. Hepatitis C virus NS2 and NS3/4A proteins

- are potent inhibitors of host cell cytokine/chemokine gene expression. *Virology*. 2006; 3:66-79.
31. Lam AMI, Keeney D, Eckert PQ, Frick DN. Hepatitis C Virus NS3 ATPases/Helicases from Different Genotypes Exhibit Variations in Enzymatic Properties. *J Virol* 2003; 77(7):3950-61.
 32. Penin F, Dubuisson J, Rey FA, Moradpour D, Pawlotsky JM. Structural Biology of Hepatitis C Virus. *Hepatology*. 2004; 39(1):5-19.
 33. Egger D, Wolk B, Gosert R, Bianchi L, Blum HE, Moradpour D, et al. Expression of hepatitis C virus proteins induces distinct membrane alterations including a candidate viral replication complex. *J Virol*. 2002; 76(12):5974-84.
 34. Pawlotsky JM. Hepatitis C virus (HCV) NS5A protein: role in HCV replication and resistance to interferon- α . *J Viral Hepat*. 1999; 6(Suppl 1):47-8.
 35. Moradpour D, Gosert R, Egger D, Penin F, Blum HE, Bienz K. Membrane association of hepatitis C virus nonstructural proteins and identification of the membrane alteration that harbors the viral replication complex. *Antivir Res*. 2003; 60(2):103-9.
 36. Branch AD, Stump DD, Gutierrez JA, Eng F, Walewski JL. The hepatitis C virus alternate reading frame (ARF) and its family of novel products: The alternate reading frame protein/F-protein, the double-frameshift protein, and others. *Semin Liver Dis*. 2005; 25(1):105-17.
 37. Quinkert D, Bartenschlager R, Lohmann V. Quantitative analysis of the hepatitis C virus replication complex. *J Virol*. 2005; 79(21):13594-605.
 38. Alter HJ, Tegtmeier GE, Jett BW, Quan S, Shih JW, Bayer WL, et al. The use of a recombinant immunoblot assay in the interpretation of anti-hepatitis C virus reactivity among prospectively followed patients, implicated donors, and random donors. *Transfusion*. 1991; 31(8):771-6.
 39. Kleinman S, Alter H, Busch M, Holland P, Tegtmeier G, Nelles M, et al. Increased detection of hepatitis C virus (HCV)-infected blood donors by a multiple-antigen HCV enzyme immunoassay. *Transfusion*. 1992; 32(9):805-13.
 40. Van der Poel CL, Cuypers HT, Reesink HW, Weiner AJ, Quan S, Di Nello R, et al. Confirmation of hepatitis C virus infection by new four-antigen recombinant immunoblot assay. *Lancet*. 1991; 337(8737):317-19.
 41. Barrera JM, Francis B, Ercilla G, Nelles M, Achord D, Darner J, et al. Improved detection of anti-HCV in post-transfusion hepatitis by a third-generation ELISA. *Vox Sang*. 1995; 68(1):15-8.
 42. Colin C, Lanoir D, Touzet S, Meyaud-Kraemer L, Bailly F, Trepo C; HEPATITIS Group. Sensitivity and specificity of third-generation hepatitis C virus antibody detection assays: an analysis of the literature. *J Viral Hepat*. 2001; 8(2):87-95.
 43. Stauber RE, Stadlbauer V. Novel approaches for therapy of chronic hepatitis C. *J Clin Virol*. 2006; 36(2):87-94.
 44. Durantel D, Alotte C, Zoulim F. Glucosidase inhibitors as antiviral agents for hepatitis B and C. *Curr Opin Investig Drugs*. 2007; 8(2):125-9.
 45. McHutchison JG, Bartenschlager R, Patel K, Pawlotsky JM. The face of future hepatitis C antiviral drug development: Recent biological and virologic advances and their translation to drug development and clinical practice. *J Hepatol*. 2006; 44(2):411-21.

*Straipsnis gautas 2007 m. sausio 21 d.,
aprobuotas 2007 m. birželio 19 d.
Received January 21, 2007,
Accepted June 19, 2007*