DOI: 10.22625/2072-6732-2020-12-5-101-106

ЧАСТОТА ВЫЯВЛЕНИЯ АНТИТЕЛ К БЕЛКУ CORE+1 ВИРУСА ГЕПАТИТА С У «НАИВНЫХ» ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМ ВИРУСНЫМ ГЕПАТИТОМ С В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТАДИИ ФИБРОЗА ПЕЧЕНИ И СУБТИПА ВИРУСА ГЕПАТИТА С

Е.В. Личная [1], М.А. Белопольская [2,3], В.Н. Вербов [1], А.А. Яковлев [4], А.В. Дмитриев [3,4], О.В. Калинина [1,5]

[1] Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия
[2] Клиническая инфекционная больница им. С.П. Боткина, Санкт-Петербург, Россия
[3] Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия
[4] Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия
[5] Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова, Санкт-Петербург, Россия

Detection rate of specific antibodies to the HCV CORE+1 protein in "naive" cronically HCV-infected patients in depends on the stage of liver fibrosis and the HCV subtype

E.V. Lichnaya [1], M.A. Belopolskaya [2,3], V.N. Verbov [1], A.A. Yakovlev [4], A.V. Dmitriev [3,4], O.V. Kalinina [1,5]
[1] Saint-Petersburg Research Institute of Epidemiology and Microbiology named after Pasteur, Russia
[2] Clinical Infectious Diseases Hospital named after S.P. Botkin, Saint-Petersburg, Russia
[3] Institute of Experimental Medicine, Saint-Petersburg, Russia
[4] Saint-Petersburg State University, Saint-Petersburg, Russia
[5] National Medical Research Centre named after V.A. Almazov , Saint-Petersburg, Russia

Резюме

Цель: изучить распространенность анти-core+1 у «наивных» больных хроническим гепатитом С, инфицированных субтипами вируса гепатита С 1b и 3a, с различной стадией фиброза.

Материалы и методы: исследованы образцы сыворотки крови, полученные от 86 пациентов с ХГС (37 мужчин и 49 женщин) в возрасте от 24 до 80 лет (средний возраст 50,7 ± 2,7), наблюдавшихся в поликлиническом отделении Клинической инфекционной больницы им. С.П. Боткина в 2017 г. Лабораторное обследование пациентов включало определение в крови активности АЛТ и уровня билирубина. Степень выраженности фиброза ткани печени по шкале METAVIR была оценена методом транзиентной эластографии (ТЭ) на аппарате Fibroscan (Echosens, Франция) у 53 пациентов. Наличие антител к белку core+1 в образцах сыворотки крови определяли непрямым методом ИФА «in-house» с использованием синтетических пептидов F10 и F13, содержащих антигенные детерминанты core+1 белка вируса гепатита С субтипов 1b и 3a соответственно.

Результаты: антитела к белку core+1 ВГС были выявлены у 27 (31,4 %) обследованных. Было показано, что частота выявления анти-core+1 не зависит от субтипа вируса гепатита С. Статистически достоверных отличий между наличием анти-core+1 и уровнями АЛТ и общего билирубина не установлено. Анти-core+1 определялись у пациентов со всеми стадиями фиброза, однако частота обнаружения анти-core+1 была достоверно выше у пациентов с фиброзом стадии F4 по сравнению с пациентами, у которых фиброз в печени отсутствовал.

Abstract

Objective: The goal of this study was to examine the prevalence of anti-core+1 in "naive" patients with chronic hepatitis C and different stages of liver fibrosis infected by HCV subtypes 1b and 3a.

Materials and methods: A total of 86 "naive" patients (37 men and 49 women) with CHC observed in the Botkin infectious disease hospital in 2017, were included in this study. The average age was 50,7 ± 2,7. Laboratory tests included ALT and bilirubin. In 53 patients, the fibrosis stage in the liver tissue was evaluated by the TE method using Fibroscan (Echosens, France). The presence of antibodies to the core+1 protein in blood serum samples was determined by the "in-house" indirect ELISA method using synthetic peptides F10 and F13, which amino acid sequences correspond to the antigenic determinants of core+1 protein of the HCV subtypes 1b and 3a, respectively.

Results: In total, anti-core + 1 were detected in 27 (31,4 %) subjects. It has been shown that the detection rate of anti-core+1 does not depend on the HCV subtype. The study has indicated no statistically significant dependence between the presence of anti-core+1 and biochemical activity es of the infectious process (ALT, bilirubin). Anti-core+1 were detected in patients with all stages of fibrosis, however, the detection rate of anti-core+1 was statistically higher in patients with stage F4 fibrosis than in patients without liver fibrosis.

Conclusion: The obtained results suggest a possible role of the core+1 protein in the development of fibrosis. In the natural course of HCV infection, the detection of anti-core+1 can be considered as a prognostic marker for the progression of fibrosis in the liver tissue.

Заключение: полученные результаты позволяют предположить возможную роль белка core+1 в развитии фиброза. При естественном течении ВГС-инфекции определение анти-core+1 можно рассматривать как прогностический маркер прогрессирования фиброза в ткани печени.

Ключевые слова: *гепатит С, вирус гепатита С, хронический вирусный гепатит С, белок core+1, синтетический пептид, иммуноферментный анализ.*

Key words: *hepatitis C, HCV, chronic hepatitis C, core+1 protein, synthetic peptide, ELISA.*

Введение

Вирусный гепатит С (ГС) по-прежнему остается серьезной медико-социальной проблемой во всем мире. Хронический гепатит С (ХГС) является одной из основных причин формирования цирроза печени (ЦП) и/или гепатоцеллюлярной карциномы (ГЦК) и входит в группу социально-значимых заболеваний, представляющих опасность для окружающих [18]. Раннее выявление лиц, инфицированных вирусом гепатита С (ВГС), и наличие эффективной противовирусной терапии (ПВТ) даже при отсутствии специфической профилактики позволяют предотвратить развитие нежелательных проявлений ГС. Оценка стадии фиброза печени является ключевым показателем в клиническом ведении ХГС, влияющим как на прогноз заболевания, так и на тактику лечения.

С момента открытия ВГС изучается влияние различных факторов на прогрессирование фиброза печени у лиц с ХГС и вероятность развития неблагоприятных последствий. Доказана зависимость течения инфекционного процесса от особенностей инфицированного организма, сопутствующих заболеваний инфекционного и неинфекционного генеза, вредных привычек. Среди факторов, обусловливающих формирование фиброза и развитие ЦП и/или ГЦК, рассматривается роль белков вируса [12].

ВГС относится к роду Hepacivirus семейства Flaviviridae. Высокая репликативная активность вируса, наряду с отсутствием у вирусной РНК-полимеразы корректорской функции, определяет появление постоянно меняющихся антигенных структур вируса [16]. Идентифицировано 8 генотипов ВГС и более 88 подтипов [3,14]. Геном ВГС размером около 9600 нуклеотидных оснований представляет собой (+) одноцепочечную РНК, кодирующую один полипротеин, в области core гена которого располагается альтернативная открытая рамка считывания, с которой синтезируется всего один белок, получивший название core+1 или F [12,13]. Наличие специфических антител к core+1 белку выявлено у пациентов как с острой, так и с хронической инфекцией с разной степенью выраженности фиброза печени. Показано, что данный белок потенциально может влиять на формирование ЦП и развитие ГЦК, в связи с чем изучение роли белка core+1 ВГС представляет интерес для понимания патогенеза ГС [7].

Цель исследования – оценить частоту встречаемости антител к белку core+1 ВГС у «наивных» пациентов с ХГС, инфицированных субтипами ВГС 1b и 3a, с различной стадией фиброза.

Материалы и методы

В работе исследованы образцы сыворотки крови от 86 пациентов с ХГС, проходивших обследование в поликлиническом отделении Клинической инфекционной больницы им. С.П. Боткина в 2017 г. Среди обследованных было 37 (43%) мужчин и 49 (57%) женщин в возрасте от 24 до 80 лет (средний возраст составил 50,7±2,7). Критериями исключения из исследования были возраст моложе 18 лет; наличие маркеров других острых и хронических вирусных гепатитов; ВИЧ-инфекция; хронические заболевания печени неинфекционной этиологии; ПВТ в анамнезе; актуальная алкогольная или наркотическая зависимость. Все образцы крови были собраны для научного исследования под кодовыми наименованиями согласно Хельсинкской декларации (протокол № 21 от 26.11.2014). Всем больным были определены основные биохимические показатели в рамках рутинного обследования, генотип ВГС методом ПЦР с использованием набора реагентов «Ампли Сенс HCV-генотип-FL» вариант 1–6 (ЦНИИЭМ, Россия) (табл.1).

Таблица 1

Основные характеристики пациентов в зависимости от субтипа ВГС

Характеристика	Субтип ВГС 1b	Субтип ВГС 3a
Всего пациентов, n (%)	48 (55,8)	38 (44,2)
Мужчины, n (%)	17 (45.9)	20 (54,1)
Женщины, n (%)	31 (63,3)	18 (36,7)
Средний возраст	55,8±3,6	44,3±2,9
АЛТ, Ед/л	62,0±13,8	80,9±21,7
Билирубин, мкм/л	12,7±1,9	12,9±2,6

Оценка степени фиброза в ткани печени производилась методом транзиентной эластографии

(ТЭ) на аппарате Fibroscan (Echosens, Франция) у 53 пациентов. Стадия фиброза оценивалась по шкале METAVIR согласно принятым критериям. Распределение пациентов в зависимости от стадии фиброза представлено на рисунке. Согласно данным анамнеза, предполагаемая длительность заболевания ХГС у большинства пациентов не превышала 8 лет.

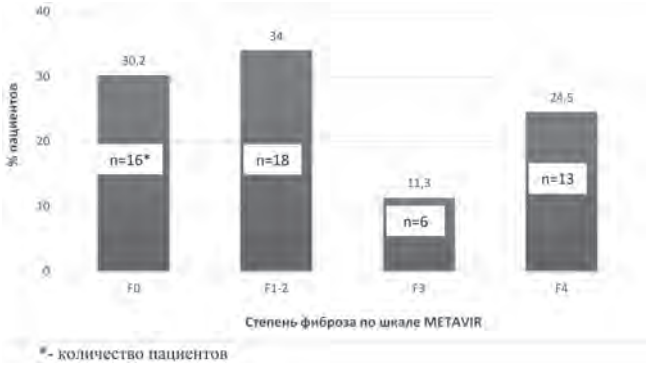

Рис. Распределение пациентов в зависимости от степени фиброза

Наличие анти-core + 1 ВГС определяли методом ИФА «in-house» с использованием синтетических пептидов F10 и F13 в качестве антигена в составе иммуносорбента согласно отработанной методике в концентрации 5 мкг/мл [17]. Пептиды F10 и F13, аминокислотные последовательности которых соответствовали антигенным детерминантам белка core + 1 субтипов 1b и 3a соответственно, были получены путём твёрдофазного синтеза (ООО «НПФ Верта», г. Санкт-Петербург). Отрицательным контролем были анти-ВГС-негативные/анти-ВИЧ-негативные/HBsAg-негативные образцы сыворотки крови (n = 3). Оптическую плотность (ОП) измеряли при длине волны 450 нм. Положительными считали образцы, коэффициент позитивности (КП) которых был выше 2,5.

Для оценки статистической значимости отличий между группами для качественных признаков применялся критерий χ^2.

Результаты и обсуждение

В целом, антитела к белку core + 1 ВГС были выявлены у 27 (31,4%) пациентов с ХГС: 16 (33,3%) человек были инфицированы субтипом 1b и 11 (28,9%) человек — субтипом 3a (табл. 2). Статистически достоверных отличий между обнаружением анти-core + 1 в зависимости от субтипа ВГС, а также полом и возрастом пациентов, длительностью заболевания не было выявлено. Полученные нами результаты согласуются с данными исследований, в которых было показано, что наличие антител к белку core + 1 не зависит от генотипа ВГС [1, 8 — 10].

Таблица 2

Выявление анти-core+1 ВГС у пациентов с ХГС в зависимости от генотипа вируса, половой принадлежности и длительности заболевания

Характеристика	Всего, n (%)	анти-core + 1(+), n (%)	анти-core + 1(-), n (%)	p
Субтип ВГС				
1b	48 (55,8)	16 (33,3)	32 (66,7)	p = 0,664
3a	38 (44,2)	11 (29)	27 (71)	
Пол				
М	37 (43)	13 (35,1)	24 (64,9)	p = 0,517
Ж	49 (57)	14 (28,6)	35 (71,4)	
Возраст	50,7±2,7	54,8±5,0	48,9±3,1	
Длительность заболевания				
До 8 лет	42 (60)	17 (40,5)	25 (59,5)	p = 0,480
Более 8 лет	28 (40)	9 (32,1)	19 (67,9)	

В нашем исследовании был проведен анализ кросс-реактивности антител пациентов, инфицированных субтипами ВГС 1b и 3a. 5 (31,3%) из 16 анти-core + 1-позитивных сывороток пациентов, инфицированных субтипом 1b, обладали перекрестной реактивностью с пептидом F13, тогда как 8 (72,7%) из 11 анти-core + 1-позитивных сывороток пациентов, инфицированных субтипом 3a, — с пептидом F10. Полученные результаты, возможно, свидетельствуют о близких антигенных свойствах пептидов F10 и F13 и в то же время указывают на необходимость использования пула пептидов, несущих субтиспецифические антигенные детерминанты, при разработке набора реагентов для идентификации анти-core + 1 у пациентов с ХГС, инфицированных разными генотипами вируса.

Уровень АЛТ является основным показателем выраженности цитолитического синдрома в ткани печени. Имеются единичные исследования, посвященные изучению связи между наличием анти-core + 1 и уровнем АЛТ, а также уровнем билирубина в сыворотке крови пациентов с ХГС. В работе Kassela et al. установлена корреляция между наличием анти-core + 1 и активностью АЛТ сыворотки крови у пациентов с ХГС и ЦП, в то время как корреляции между наличием анти-core + 1 и другими биохимическими показателями (аспартатаминотрансфераза, гамма-глутамилтрансфераза, билирубин, креатинин) обнаружено не было [6]. В нашем исследовании статистически достоверных отличий между наличием анти-core + 1 и уровнями АЛТ и общего билирубина ни в одной из исследуемых групп не наблюдалось (табл. 3)

Таблица 3

Выявление анти-core+1 ВГС у пациентов с ХГС в зависимости от уровня биохимических показателей

Показатель	Всего, n (%)	анти-core + 1(+), n (%)	анти-core + 1(-), n (%)	p
АЛТ, Ед/л				
До 40	27 (31,4)	7 (25,9)	20 (74,1)	p = 0,460
>40	59 (68,6)	20 (33,9)	39 (66,1)	
Общий билирубин, мкм/л				
До 20	68 (79,1)	20 (29,4)	48 (70,6)	p = 0,442
>20	18 (20,9)	7 (38,9)	11 (61,1)	

Одним из важнейших признаков прогрессирования заболевания и развития осложнений у пациентов с ХГС является формирование фиброза печени. В качестве одного из факторов, ассоциированного с прогрессированием фиброза и развитием ЦП и/или ГЦК, рассматривается экспрессия белка core + 1, который в экспериментах *in vitro* влияет на супрессию белка p21 [2], уровень экспрессии белка p53 [15], изменения тубулинового цитоскелета [11], а также на уровень экспресии таких цитокинов/хемокинов, как interleukin-6, interleukin-8, MCP-1, MIP-1beta, в том числе — влияет на транс-активацию промотора interleukin-8 независимо от сигнальных путей p38 MAPKs и p42/p44 MAPKs [5].

В работе Kassela et al. при исследовании образцов сыворотки крови от 244 пациентов с ХГС было показано увеличение доли анти-core + 1-позитивных пациентов по мере прогрессирования фиброза печени. Так, анти-core + 1 определялись у пациентов с ХГС с ЦП (n = 80) и у пациентов с ХГС без ЦП (n = 164) в 28,7% и 16,5% случаев соответственно [6].

Dalagiorgou et al. выявили анти-core + 1 более чем у 50% (n = 45) пациентов с ХГС и ГЦК и у 26% (n = 47) пациентов с ХГС без ГЦК [4]. Группой Ajorloo et al. анти-core + 1 ВГС были выявлены у 100% (n = 50) обследованных пациентов с ХГС и ГЦК, инфицированных генотипом ВГС 1a [1].

В нашем исследовании из 53 пациентов, у которых была определена степень фиброза в ткани печени, анти-core + 1 ВГС были выявлены у 14 (26,4%) человек (табл. 4). Как видно из таблицы 4, частота обнаружения анти-core + 1 была достоверно выше у пациентов с фиброзом стадии F4 по сравнению с пациентами, у которых фиброз в печени отсутствовал.

Таблица 4

Выявление анти-core+1 ВГС у пациентов с ХГС в зависимости от степени фиброза

Степень фиброза	Всего, n (%)	анти-core + 1 (+), n (%)
F0	16 (30,2)	1 (6,3)
F1-2	18 (34,0)	5 (27,8)
F3	6 (11,3)	1 (16,7)
F4	13 (24,5)	7 (53,8)
Всего	53 (100)	14 (100)

p (F0 — F1-2) = 0,100, p (F0 — F3) = 0,449, p (F0 — F4) = 0,0043*, p (F1-2 — F3) = 0,586, p (F1-2 — F4) = 0,141, p (F3 — F4) = 0,127;

* — $p < 0.05$.

Кроме того, следует отметить, что отличия по частоте обнаружения анти-core + 1 у пациентов с продвинутым фиброзом (стадии F3 — F4) и у пациентов с минимальным фиброзом (стадии F0 — F1 — F2) близки к достоверным (p = 0,052), что также согласуется с данными других авторов [6, 7]. Как видно из таблицы 5, доля анти-core + 1 позитивных среди пациентов с продвинутым фиброзом была более чем в два раза больше, чем среди пациентов

Таблица 5

Выявление анти-core+1 у больных ХГС с различной степенью фиброза в зависимости от субтипа ВГС

		Субтип ВГС			
		1b		3a	
Степень фиброза	Всего, n (%)	анти-core + 1(+) n (%)	анти-core + 1(-) n (%)	анти-core + 1(+) n (%)	анти-core + 1(-) n (%)
F0 — F1 — F2	34 (64,2)	3 (20,0)	12 (80,0)	3 (15,8)	16 (84,2)
F3 — F4	19 (35,8)	6 (42,9)	8 (57,1)	2 (40,0)	3 (60,0)
Всего	53 (100,0)	9 (31,0)	20 (69,0)	5 (20,8)	19 (79,2)

с минимальным фиброзом в ткани печени (42,9% против 20% для субтипа 1b и 40% против 15,8% для субтипа 3a). При этом существенных отличий в зависимости от генотипа не наблюдалось.

Заключение

Доля анти-core + 1 позитивных пациентов с ХГС в данном исследовании составила 31,4%. Антитела к белку core + 1 ВГС определялись независимо от пола и возраста пациентов, а также длительности заболевания. Достоверных отличий по частоте обнаружения анти-core + 1 у пациентов с субтипом 1b и 3a выявлено не было. Анализ данных, полученных от пациентов с установленным фиброзом печени, показал, что анти-core + 1 определялись независимо от стадии фиброза. Однако частота обнаружения анти-core + 1 была достоверно выше у пациентов с фиброзом стадии F4 по сравнению с пациентами, у которых фиброз в печени отсутствовал. Полученные результаты позволяют предположить возможную роль белка core + 1 в развитии фиброза печени. При естественном течении ВГС-инфекции определение анти-core + 1 можно рассматривать как прогностический маркер прогрессирования фиброза в ткани печени.

Литература

1. Ajorloo M, Bamdad T, Hashempour T, et al. Detection of specific antibodies to HCV-ARF/CORE + 1 protein in cirrhotic and noncirrhotic patients with hepatitis C: a possible association with progressive fibrosis. Arch Iran Med 2015;18:304-307

2. Basu, A., Steele, R., Ray, R. & Ray, R. B. (2004). Functional properties of a 16 kDa protein translated from an alternative open reading frame of the core-encoding genomic region of hepatitis C virus. J Gen Virol 85, 2299 – 2306.

3. Borgia S. M. et al. (2018) 'Identification of a Novel Hepatitis C Virus Genotype from Punjab, India – Expanding Classification of Hepatitis C Virus into 8 Genotypes', The Journal of Infectious Diseases, 218: 1722 – 9.

4. Dalagiorgou G., Vassilaki N., Foka P., Boumlic A., Kakkanas A., Kochlios E. et al. High levels of HCV core + 1 antibodies in HCV patients with hepatocellular carcinoma. J. Gen. Virol. 2011; 92 (6): 1343 – 51.

5. Fiorucci, M., Boulant, S., Fournillier, A., Abraham, J. D., Lavergne, J. P., Paranhos-Baccala, G., Inchauspe´, G. & Bain, C. (2007). Expression of the alternative reading frame protein of hepatitis C virus induces cytokines involved in hepatic injuries. Gen Virol 88, 1149 – 1162.

6. Kassela K, Karakasiliotis I, Charpantidis S, et al. High prevalence of antibodies to core + 1/ARF protein in HCV-infected patients with advanced cirrhosis. J Gen Virol 2017; 98:1713-1719.

7. Mavromara P., Dalagiorgou G., Vassilaki N., Foka P., Boumlic A., Kakkanas A. et al. High levels of HCV core + 1 antibodies in HCV patients with hepatocellular carcinoma. J. Gen .Vir. 2011; 92: 1343-51.

8. Mylopoulou, Theodora et al. "Relationship between antibodies to hepatitis C virus core + 1 protein and treatment outcome." *Annals of gastroenterology* vol. 31,5 (2018): 593-597. doi:10.20524/aog.2018.0290

9. Qureshi, H., Qazi, R., Hamid, S., & Qureshi, S. A. (2011). Identification of immunogenic regions within the alternative reading frame protein of hepatitis C virus (genotype 3). European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases, 30(9), 1075 – 1083. doi:10.1007/s10096-011-1194-1

10. Shehat, M. G., Bahey-El-Din, M., Kassem, M. A., Farghaly, F. A., Abdul-Rahman, M. H., &Fanaki, N. H. (2015). Recombinant expression of the alternate reading frame protein (ARFP) of hepatitis C virus genotype 4a (HCV-4a) and detection of ARFP and anti-ARFP antibodies in HCV-infected patients. Archives of Virology, 160(8), 1939 – 1952. doi:10.1007/s00705-015-2465-4

11. Tsao, M. L., Chao, C. H. & Yeh, C. T. (2006). Interaction of hepatitis C virus F protein with prefoldin 2 perturbs tubulin cytoskeleton organization. Biochem Biophys Res Commun 348, 271 – 277.

12. Vassilaki N, Mavromara P. The HCV ARFP/F/core + 1 protein: production and functional analysis of an unconventional viral product. IUBMB Life 2009; 61:739-752

13. Vassilaki N., Mavromara P. Two alternative translation mechanisms are responsible for the expression of the HCV ARFP/F/core + 1 coding open reading frame. J. Biol. Chem. 2003; 278: 40503 – 13.

14. Welzel T. M. et al. (2017) 'Global Epidemiology of HCV Subtypes and Resistance-Associated Substitutions Evaluated by Sequencing-Based Subtype Analyses', Journal of Hepatology, 67: 224 – 36.

15. Wu, W. B., Shao, S. W., Zhao, L. J., Luan, J., Cao, J., Gao, J., Zhu, S. Y. & Qi, Z. T. (2007). Hepatitis C virus F protein up-regulates c-myc and down-regulates p53 in human hepatoma HepG2 cells. Intervirology 50, 341 – 346.

16. Калинина, О.В. Структурно-функциональная организация генома и жизненный цикл вируса гепатита С / О.В. Калинина, А.В. Дмитриев // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. – 2015. – № 2. – С. 9 – 12.

17. Личная, Е.В. Определение антител к белку F вируса гепатита С методом иммуноферментного анализа с использованием синтетического пептида / Е.В. Личная [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. – 2018. – № 63(3): DOI: http://dx.doi.org/10.18821/08692084-2018-63-3-183-186

18. Постановление Правительства Российской Федерации от 1 декабря 2004 г. № 715 «Об утверждении перечня социально значимых заболеваний и перечня заболеваний, представляющих опасность для окружающих». – URL: http://fss.ru/ru/fund/social_insurance_in_russia/124/132/10297.shtml

References

1. Ajorloo M, Bamdad T, Hashempour T, et al. Detection of specific antibodies to HCV-ARF/CORE + 1 protein in cirrhotic and noncirrhotic patients with hepatitis C: a possible association with progressive fibrosis. Arch Iran Med 2015;18:304-307

2. Basu, A., Steele, R., Ray, R. & Ray, R. B. (2004). Functional properties of a 16 kDa protein translated from an alternative open reading frame of the core-encoding genomic region of hepatitis C virus. J Gen Virol 85, 2299 – 2306.

3. Borgia S. M. et al. (2018) 'Identification of a Novel Hepatitis C Virus Genotype from Punjab, India – Expanding Classification of Hepatitis C Virus into 8 Genotypes', The Journal of Infectious Diseases, 218: 1722 – 9.

4. Dalagiorgou G., Vassilaki N., Foka P., Boumlic A., Kakkanas A., Kochlios E. et al. High levels of HCV core + 1 antibodies in HCV patients with hepatocellular carcinoma. J. Gen. Virol. 2011; 92 (6): 1343 – 51.

5. Fiorucci, M., Boulant, S., Fournillier, A., Abraham, J. D., Lavergne, J. P., Paranhos-Baccala, G., Inchauspe´, G. & Bain, C. (2007). Expression of the alternative reading frame protein of hepatitis C virus induces cytokines involved in hepatic injuries. J Gen Virol 88, 1149 – 1162.

6. Kassela K, Karakasiliotis I, Charpantidis S, et al. High prevalence of antibodies to core+1/ARF protein in HCV-infected patients with advanced cirrhosis. J Gen Virol 2017; 98:1713-1719.

7. Mavromara P., Dalagiorgou G., Vassilaki N., Foka P., Boumlic A., Kakkanas A. et al. High levels of HCV core+1 antibodies in HCV patients with hepatocellular carcinoma. J. Gen .Vir. 2011; 92: 1343-51.

8. Mylopoulou, Theodora et al. "Relationship between antibodies to hepatitis C virus core+1 protein and treatment outcome." *Annals of gastroenterology* vol. 31,5 (2018): 593-597. doi:10.20524/aog.2018.0290

9. Qureshi, H., Qazi, R., Hamid, S., & Qureshi, S. A. (2011). Identification of immunogenic regions within the alternative reading frame protein of hepatitis C virus (genotype 3). European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases, 30(9), 1075–1083. doi:10.1007/s10096-011-1194-1

10. Shehat, M. G., Bahey-El-Din, M., Kassem, M. A., Farghaly, F. A., Abdul-Rahman, M. H., &Fanaki, N. H. (2015). Recombinant expression of the alternate reading frame protein (ARFP) of hepatitis C virus genotype 4a (HCV-4a) and detection of ARFP and anti-ARFP antibodies in HCV-infected patients. Archives of Virology, 160(8), 1939–1952. doi:10.1007/s00705-015-2465-4

11. Tsao, M. L., Chao, C. H. & Yeh, C. T. (2006). Interaction of hepatitis C virus F protein with prefoldin 2 perturbs tubulin cytoskeleton organization. Biochem Biophys Res Commun 348, 271–277.

12. Vassilaki N, Mavromara P. The HCV ARFP/F/core+1 protein: production and functional analysis of an unconventional viral product. IUBMB Life 2009; 61:739-752

13. Vassilaki N., Mavromara P. Two alternative translation mechanisms are responsible for the expression of the HCV ARFP/F/core+1 coding open reading frame. J. Biol. Chem. 2003; 278: 40503–13.

14. Welzel T. M. et al. (2017) 'Global Epidemiology of HCV Subtypes and Resistance-Associated Substitutions Evaluated by Sequencing-Based Subtype Analyses', Journal of Hepatology, 67: 224–36.

15. Wu, W. B., Shao, S. W., Zhao, L. J., Luan, J., Cao, J., Gao, J., Zhu, S. Y. & Qi, Z. T. (2007). Hepatitis C virus F protein up-regulates c-myc and down-regulates p53 in human hepatoma HepG2 cells. Intervirology 50, 341–346.

16. Kalinina O.V., Dmitriev A.V. Structural and functional genome organization and life cycle of hepatitis C virus //Mol. Gen. Microbiol. Virol. 2015. Vol. 30. № 2. P. 64–70 (in Russian).

17. Lichnaia E.V., Klimashevskaya S.V., Obryadina A.P., Verbov V.N., Belopolskaya M.A., Esaulenko E.V., Kalinina O.V. The detection of antibodies to the HCV F protein based on ELISA using synthetic peptide. //Klin. Lab. Diagn. 2018. Vol. 63. № 3. P. 183–186 (in Russian).

18. Postanovlenie Pravitel'stva Rossijskoj Federacii ot 1 dekabrja 2004 g., №715; Ob utverzhdenii perechnja social'no znachimyh zabolevanij i perechnja zabolevanij, predstavljajushhih opasnost' dlja okruzhajushhih; http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_50559/ (in Russian).

Авторский коллектив:

Личная Евгения Викторовна — младший научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии и эволюционной генетики Санкт-Петербургского научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии им. Пастера; тел.: 8(812)233-20-92, 8(812)233-08-56, +7-921-942-11-19, e-mail: evlichnaia@gmail.com

Белопольская Мария Андреевна — врач-инфекционист Клинической инфекционной больницы им. С.П. Боткина, научный сотрудник отдела экологической физиологии Института экспериментальной медицины, к.м.н., тел.: 8(812)777-80-12, 8(812) 234-68-68, +7-921-303-56-67, e-mail: belopolskaya.maria@yahoo.com

Вербов Вячеслав Николаевич — заведующий отделом новых технологий Санкт-Петербургского научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, к.х.н.; тел.: 8(812)233-20-92, 8(812)233-08-56, e-mail: pasteurdnt@yandex.ru

Яковлев Алексей Авенирович — заведующий кафедрой инфекционных болезней, эпидемиологии и дерматовенерологии медицинского факультета Санкт-Петербургского государственного университета, д.м.н., профессор; тел.: 8(812)717-28-48, e-mail: aay28@yandex.ru

Дмитриев Александр Валентинович — директор Института экспериментальной медицины, профессор кафедры фундаментальных проблем медицины и медицинских технологий факультета стоматологии и медицинских технологий Санкт-Петербургского государственного университета, д.б.н., профессор; тел.: 8(812)234-68-68, e-mail: admitriev10@yandex.ru

Калинина Ольга Викторовна — ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии и эволюционной генетики Санкт-Петербургского научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии им. Пастера; профессор кафедры лабораторной медицины и генетики, декан факультета биомедицинских наук Института медицинского образования Национального медицинского исследовательского центра им. В.А. Алмазова, д.б.н.; тел.: 8(812)233-20-92, 8(812)233-08-56, +7-921-746-39-07, e-mail: olgakalinina@mail.ru