ОРГАНИЗАЦИЯ ГЕНОМА, КЛАССИФИКАЦИЯ И ФИЛОГЕОГРАФИЯ ВИРУСА ГЕПАТИТА С

КАЛИНИНА О. В. [(1)], ДМИТРИЕВ А. В. [(2)]

Характеристика генома и белков вируса гепатита С

Геном ВГС представлен (+)-цепью РНК длиной около 9600 нуклеотидов [1]. Открытая рамка считывания (ORF) кодирует полипротеин, состоящий из 3011-3033 аминокислотных остатков (ам.о.). На 5'- и 3'-концах ORF ограничена короткими нетранслируемыми участками 5'UTR и 3'UTR, содержащими ключевые последовательности и структурные элементы, необходимые для репликации вирусного генома и инициации трансляции полипротеина. 5'UTR состоит из 341 нуклеотида, включает внутренний сайт связывания рибосомы (IRES) [3, 4]. 3'UTR состоит из трех участков: вариабельного участка длиной от 27 до 70 нуклеотидов; polyU/UC (полиуридинового/пиримидинового) участка, размер которого коррелирует со способностью вирусной РНК к репликации, и высоко консервативного участка из 98 нуклеотидов, названного Х-РНК, обеспечивающего связывание вирусной РНК-зависимой-РНК-полимеразы (RdRp), формирование репликативного комплекса и инициацию репликации вирусного генома [3, 5].

В результате посттрансляционного процессинга полипротеин расщепляется вирусными и клеточными протеазами на 10 вирусных белков (Рисунок 1) [3]. На N-концевом участке полипротеина ВГС располагаются структурные белки: белок капсида (core) и два гликопротеиновых белка оболочки (E1 и E2). Остальные две трети генома ВГС кодируют неструктурные белки p7, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A и NS5B, которые координируют внутриклеточные процессы жизненного цикла вируса.

Core белок p23 (192 ам.о.) образуется под действием сигнальных клеточных пептидаз и остается ассоциированным с мембраной эндоплазматического ретикулума (ЭР); дальнейший процессинг с участием мембран-ассоциированной сигнальной пептид пептидазы приводит к высвобождению core белка p21 (174 ам.о.), который и обнаруживается в образцах сыворотки крови пациентов, инфицированных ВГС [6]. В core белке имеются два домена: гидрофильный (с 1 по 122 ам.о.) и гидрофобный (с 123 по 173 ам.о.), что характерно для всех представителей семейства Flaviviridae.

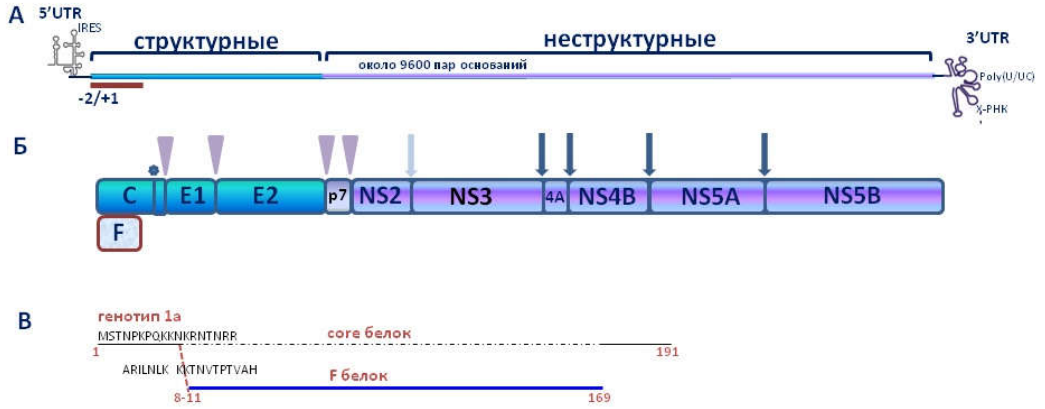

Рисунок 1. Структурная организация генома и полипротеина ВГС

(А) (+)-цепь РНК ВГС со схематическим изображением вторичной структуры IRES на 5'UTR и вторичных структур на 3'UTR. Альтернативная рамка считывания (-2/+1), кодирующая белок F, расположена под (+)-цепью РНК ВГС. (Б) На полипротеине ВГС вытянутыми треугольниками показаны сайты расщепления клеточной сигнальной пептидазой, звездочкой-клеточной сигнальной пептидпептидазой, светлой стрелкой-вирусной автопротеазой NS2/NS3, темными стрелками-вирусной протеазой NS3/NS4A. (В) Схематическое изображение начала синтеза F (core+1/ARFP) белка генотипа 1a с альтерантивной рамки (-2/+1) считывания.

Основной его функцией является формирование нуклеокапсида и инициация упаковки генома. Однако помимо участия в морфогенезе вируса core белок взаимодействует с различными клеточными регуляторными белками и некоторыми структурными элементами клетки. Например, вследствие положительной регуляции биосинтеза жирных кислот в клетке core белок играет значительную роль в развитии стеатоза у больных, хронически инфицированных вирусом гепатита С (ХГС) [7]. Посредством взаимодействия с SOCS-1 (супрессор сигнального цитокина) или инактивации опухолевого супрессора белка промиелоцитарного лейкоза (tumor suppressor PML) core белок может стимулировать развитие первичного рака печени у больных ХГС [8].

Недавно был описан короткоживущий белок, названный F или core+1/ARFP (17 кДа), синтезируемый с альтернативной рамки считывания, расположенной в core гене [9]. До сих пор F белок не обнаружен ни в образцах сыворотки крови, ни в биоптатах пациентов, инфицированных ВГС, однако антитела к этому белку выявляются у 25% больных ХГС и более чем у 50% больных ХГС с первичным раком печени [10]. Функция этого белка неизвестна, предполагают, что он играет роль в морфогенезе вируса и патогенезе развития гепатокарциномы.

Гликопротеины оболочки E1 (31 кДа, 192 ам.о.) и E2 (70 кДа, 363-367 ам.о.) являются трансмембранными белками I типа [3]. Белок E2 содержит иммунодоминантные домены, обуславливающие выработку вирус-нейтрализующих антител. Белки E1 и E2 образуют стабильный гетеродимер с нековалентными связями, который может взаимодействовать с лектиновыми рецепторами C-типа (DC-SIGN и L-SIGN), расположенными на поверхности дендритных, эндотелиальных и Т-клеток, что, как предполагают, способствует транспорту вирусных частиц к гепатоцитам через эндотелий [11]. Белок E2 способен взаимодействовать с трансмембранными рецепторами: тетраспанином CD81 и липопротеиновым скавенджер рецептором класса B типа I (SR-BI) [12, 13].

После структурных белков на полипротеине располагается небольшой гидрофобный белок p7 (63 ам.о.), обладающий способностью образовывать ионные каналы в липидных мембранах, что влияет на производство вирусных частиц [14]. Зависимость процесса сборки вирионов ВГС от способности белка p7 образовывать ионные каналы сделала данный белок важной мишенью для разработки новых противовирусных препаратов.

Белок NS2 (23 кДа, 217 ам.о.) - трансмембранный гидрофобный белок, образующий вместе с N-концевым доменом (180 ам.о.) белка NS3 цинк-зависимую цистеиновую автопротеазу, которая обеспечивает процессинг NS2/NS3 [3, 15]. Взаимодействие белка NS2 со структурными и неструктурными белками вируса регулирует сборку вирусных частиц [15].

Белок NS3 (67 кДа, 632 ам.о.) является многофункциональным белком: N-концевой домен - сериновая протеаза, отвечающая за процессинг NS3/NS4A, NS4A/NS4B, NS4B/NS5A, NS5A/NS5B; C-концевой домен - РНК-хеликаза с нуклеозидтрифосфатазной/РНК-хеликазной активностью [3, 16]. В N-концевом домене NS3 белка располагается цинк-связывающий домен, оказывающий стимулирующий эффект на активность всего фермента.

Хотя N-концевой домен NS3 белка и обладает самостоятельной каталитической активностью, для эффективного протеолитического процессинга требуется небольшой белок NS4A (8 кДа, 53 ам.о.), выступающий в роли кофактора. Комплекс NS3-NS4A способен ингибировать активацию интерферонов IFN-α и IFN-β, а также влиять на ряд других клеточных функций [3, 17, 18]. В связи с этим, NS3 представляет собой одну из наиболее привлекательных мишеней для антивирусной терапии.

Белок NS4B (27 кДа, 262 ам.о.) - трансмембранный белок с четырьмя гидрофобными доменами. Недавно установлено, что NS4B индуцирует на основе ЭР образование мембранной сети (membranous web), богатой холестерином, и оказывает влияние на репликацию вирусной РНК [18, 19]. Данный белок способен активировать различные клеточные белки, участвующие в регуляции жизненного цикла клетки и обуславливающие онкогенную трансформацию клетки.

Белок NS5A (56 кДа или 58 кДа, 447-466 ам.о.) является цинк-содержащим фосфопротеином и имеет цитоплазматическую локализацию в ЭР за счет наличия на N-конце α-спирального участка, служащего мембранным якорем и обеспечивающего «платформу» для вовлечения белков, необходимых для репликации вирусной РНК [18, 20]. В белке NS5A выделяют три основных домена: домены I и II участвуют в репликации, домен III вовлечен в формирование вирионов. Домен I обладает РНК-связывающей активностью, а также может связываться с OSBP (oxysterol binding protein), что играет существенную роль при созревании вириона. Домен II содержит PKR-связывающий участок (сайт ингибирования интерферон-индуцируемой протеинкиназы PKR). Полагают, что посредством этого сайта NS5A белок взаимодействует с каталитическим доменом протеинкиназы PKR, ингибируя ее активность [21]. В PKR-связывающем участке присутствует аминокислотная последовательность, получившая название ISDR область (INF-α sensitivity determining region), мутации в которой, как показано в ряде исследований, ассоциированы с резистентностью изолятов ВГС субтипа 1b к действию интерферона [22, 23]. Домен III включает вариабельную область V3, которая, предположительно, также участвует в формировании резистентности ВГС к интерферону [23].

Белок NS5B (68 кДа, 591 ам.о.) принадлежит к классу интегральных мембранных белков и является РНК-зависимой-РНК-полимеразой [3]. RdRp способна инициировать синтез РНК как по праймер-зависимому, так и по праймер-независимому *de novo* типу, связываясь с X-РНК фрагментом и/или с polyU/UC в 3'UTR [24]. RdRp инициирует репликацию комплементарной (-)-цепи РНК с геномной (+)-цепи РНК. С полученной (-)-цепи РНК этот же фермент реплицирует геномную (+)-цепь РНК. На активность RdRp влияют как вирусные белки NS3 и NS5A, так и некоторые клеточные белки-кофакторы, например, циклофилин А и циклофилин В [25].

Механизмы изменчивости вируса гепатита С

Вирус гепатита С является одним из наиболее генетически изменчивых патогенов вирусной природы. Длительное время полагали, что единственным фактором, обусловливающим генетическое разнообразие ВГС, является высокая частота синонимических и несинонимических мутаций, которые неравномерно распределены как по всему геному, так и внутри отдельных генов [26, 27]. Например, некодирующие 5'- область и часть 3'- области, содержащие ключевые элементы репликации РНК и трансляции полипротеина, являются наиболее консервативными участками. В то же время структурный ген Е2 характеризуется максимальной частотой мутаций за счет наличия гипервариабельных участков (HVR), мутации в которых, особенно в HVR1, способствуют персистенции вируса, обеспечивая формирование пула генетически близкородственных вариантов одного и того же изолята - «предшественника», получивших название квазивидов [28]. Динамичная эволюция пула квазивидов -необходимый фактор, способствующий выживанию вируса под селективным давлением окружающей среды и формированию резистентности к противовирусным препаратам.

К началу XXI века стало очевидным, что в эволюции многих вирусов, таких как представители семейств Retroviridae, Picornoviridae и Coronoviridae, в том числе Flaviviridae, играют значительную роль рекомбинационные события, которые в отличие от адаптивных мутаций приводят к быстрым радикальным перестройкам генома и, соответственно, возникновению вариантов вирусов с новыми фенотипическими характеристиками. Что касается вируса гепатита С, то значение рекомбинации в формировании новых генетических вариантов ВГС длительное время не принимали во внимание, полагая, что природные рекомбинанты ВГС нежизнеспособны [29]. Лишь в 2002 году был идентифицирован первый природный рекомбинантный вариант ВГС RF1_2k/1b [30, 31] с единственным сайтом рекомбинации между 3175 и 3176 нуклеотидными основаниями (согласно нумерации генома изолята pj6CF), доказывая роль процесса рекомбинации в эволюции ВГС. В природном рекомбинантном варианте RF1_2k/1b 5'UTR-NS2 область до сайта рекомбинации принадлежала к субтипу 2k, а от сайта рекомбинации до 3'UTR конца - к наиболее агрессивному субтипу 1b. Этот природный рекомбинант RF1_2k/1b получил широкое распространение, и его изоляты идентифицированы у пациентов всех возрастных категорий различных групп населения в пяти регионах России (Санкт-Петербург, Москва, Московская область, Тамбовская область, Сибирь), а также в Эстонии, Узбекистане, Азербайджане, Швеции, Ирландии, Голландии, Франции, Кипре, Канаде [30-41].

К настоящему времени идентифицировано еще несколько межгенотипных рекомбинантов, также как и в случае варианта RF1_2k/1b, имевших единственный сайт рекомбинации, расположение которого варьирует в пределах NS2 и NS2/NS3 областей (Таблица 1) [42-48]. Характерной особенностью всех природных межгенотипных рекомбинантов является принадлежность их 5'UTR области до сайта рекомбинации к генотипу 2. В отличие от рекомбинанта RF1_2k/1b другие межгенотипные природные рекомбинанты представлены пока только единичными изолятами, но при этом выявлены в разных географических регионах мира: Вьетнаме, Франции, Тайване, США, Японии, Филиппинах (Таблица 1).

Помимо межгенотипных рекомбинантов обнаружены также и внутригенотипные рекомбинанты, образованные только субтипами генотипа 1: 1a/1c и 1a/1b [49, 50].

Таблица 1. Межгенотипные природные рекомбинантные варианты ВГС

Страна идентификации, год	**«Родительские» гено/субтипы**	**Расположение сайта рекомбинации ***	**Номенклатурное название**
Россия, 2002	RF1_2k/1b	NS2 (3175/3176 н.о.)	RF2k/1b
Вьетнам, 2006	RF2_2i/6p	NS2/NS3 соединение (3405-3464 н.о.)	RF2i/6p
Филиппины, 2006	RF3_2b/1b	NS2/NS3 соединение (3399/3400 н.о.)	RF2b/1b_1
Франция, 2007	2/5	NS2/NS3 соединение	RF2/5
Тайвань, 2010	RF_2b/6w	NS2/NS3 соединение (3429 н.о.)	RF2b/6w
США, 2011	2b/1a	NS/NS3 соединение (3405-3416 н.о.)	RF2b/1a
Япония, 2011	RF3_2b/1b	NS3 (3443/3444 н.о.)	RF2b/1b_2
Япония, 2012	RF3_2b/1b	NS2 (3300-3303 н.о.)	RF2b/1b_3
Япония, 2012	RF3_2b/1b	NS2 (3300-3303 н.о.)	RF2b/1b_4

Примечание: * - расположение сайта указано в авторской интерпретации.

Классификация вируса гепатита С

Первая классификация ВГС была предложена в 1992 году [51]. На основе анализа гомологии нуклеотидных последовательностей генома изолятов ВГС из разных регионов мира было выделено четыре генотипа: I, II, III, IV.

В 1993 году была предложена новая система классификации, которая включала не только генотипы, но и субтипы. Все изоляты были разделены на 6 генотипов, пронумерованных от 1 до 6, состоявшие из субтипов, обозначенных прописными латинскими буквами (a, b, c и т.д.) согласно порядку их открытия. В 1994 году на II Международной конференции, посвященной ВГС и родственным вирусам (II International Conference on HCV and Related Viruses) именно эта классификация стала официальной, при этом различия между генотипами были зафиксированы в пределах 31 - 33%, между субтипами 20 - 25% [52].

Учитывая, что топология филогенетических деревьев, построенных как на основе полноразмерных геномов, так и отдельных фрагментов генов core и NS5B, была идентичной, относительно короткие участки генома, в частности, фрагменты NS5B области, стали широко использовать для генотипирования вновь выделяемых изолятов ВГС. На протяжении последующих десяти лет, основываясь лишь на анализе фрагментов генома, было идентифицировано огромное количество новых субтипов, а часть изолятов ВГС из Юго-Восточной Азии (Тайланда, Вьетнама и Индонезии) была выделена в отдельные генотипы 7, 8, 9, 10 и 11 [53, 54]. При этом изоляты генотипов 10 и 7, 8, 9, 11 принадлежали на филогенетическом древе к ветвям генотипов 3 и 6 соответственно, однако обладали большей генетической дивергенцией по сравнению с остальными субтипами данных генотипов. Это послужило поводом для широкого обсуждения номенклатуры данных генотипов. В результате было предложено рассматривать ветви генотипов 3 и 6 как «клады» (clades), внутри которых формируются генотипы [55].

В 2005 году классификация ВГС была пересмотрена [56]. К этому времени Международный генетический банк данных значительно пополнился новыми полноразмерными геномами ВГС из разных регионах мира, а также стало очевидным наличие явления рекомбинации в формировании новых вариантов ВГС. Согласно шести основным ветвям филогенетического дерева, основанного на анализе полноразмерных геномов, все изоляты ВГС

сгруппировали в шесть генетических групп, названных генотипами от 1 до 6, состоявших, как и ранее, из субтипов. Границы дивергенции между субтипами в пределах генотипа расширили до 15-30% (вместо 20-25%), а значение бутстрэппинга снизили до > 70% (вместо > 90%). Варианты ВГС, ранее описанные как генотипы 7, 8, 9, 10 и 11, переименовали в субтипы в соответствии с их принадлежностью к основным ветвям филогенетического дерева. Отличительными особенностями классификации 2005 г. стало введение новой номенклатурной единицы - рекомбинантной формы, а также критериев включения нового геновариантa в иерархическую структуру - необходимо идентифицировать как минимум три изолята ВГС нового геновариантa, выделенных от эпидемиологически несвязанных пациентов, и охарактеризовать полноразмерный геном одного из изолятов. Согласно этим критериям, в 2005 г. только рекомбинант RF1_2k/1b был зарегистрирован как рекомбинантная форма RF 01_1b/2k [56].

В 2014 году в классификацию внесены изменения и принято решение о необходимости согласовывать название каждого нового геновариантa с Flaviviridae Study Group [57]. Изменено одно из условий включения нового генотипа и рекомбинантной формы в иерархическую структуру (достаточно идентифицировать один изолят вместо трех), название субтипов ограничено латинскими буквами от *a* до *w*, далее *xa, xb…xz, ya…yz, za…zz* (в совокупности генотип может содержать 101 субтип), максимальное значение дивергенции между изолятами в пределах субтипа установлено на уровне 13%. В результате выделено 7 генетических групп - генотипов, состоящих из 67 подтвержденных субтипов и 21 субтипа, которым пока не присвоены буквенные обозначения, согласно принятым критериям 2005 г. Для 20 субтипов, описанных ранее на основании только NS5B и/или core/E1 областей, зарезервированы буквенные обозначения. Кроме того, в классификацию включены все идентифицированные рекомбинантные формы (RF). Рекомбинантным формам с одинаковым составом генома, но различными сайтами рекомбинации присвоены числовые префиксы, например, RF2b/1b_1 (Таблица 1) [57].

Географическое распространение генотипов вируса гепатита С

В настоящее время существуют многочисленные данные о распространении генотипов и субтипов ВГС. Полагают, что возникновение большинства субтипов ВГС произошло более 300 лет назад, а генотипов - от 500 до 2000 лет назад [27].

Наибольшее распространение получили генотипы 1, 2 и 3. Однако широко циркулирует лишь ограниченное число их субтипов, в частности, субтипы 1a, 1b, 2a, 2b, и 3a; лидирующее место в большинстве регионов мира занимает субтип 1b [27, 32-34, 39, 57-60]. Частота встречаемости каждого субтипа варьирует как в разных географических зонах, так и в группах риска. В индустриально развитых странах субтипы 1b, 2a и 2b превалируют у пациентов старшего возраста, имеющих в анамнезе переливание крови, хирургические или внутривенные вмешательства; субтипы 1a и 3a ассоциированы с внутривенным употреблением наркотических средств лицами моложе 29 лет. [60-63]. В Англии экспоненциальный рост популяции ВГС субтипа 1a начался в период с 1924 по 1953 гг., когда произошло внедрение этого субтипа в когорту людей, начавших употреблять опиаты внутривенно [63]. Предположительно, субтип 3a начал распространяться в период Первой мировой войны в результате различных инвазивных медицинских вмешательств, а также в связи с началом внутривенного употребления солдатами наркотических средств. Дальнейшее распространение приобрело экспоненциальный характер среди лиц, употреблявших внутривенно наркотические средства (ВВН).

Генотипы 4, 5, 6 имеют более локальное распространение и являются эндемичными в Африке и Юго-Восточной Азии, за исключением субтипа 4a, который присутствует во многих регионах мира, но выявляется в большинстве из них, как правило, эпизодически, тогда как в Египте его доля составляет более 63% [27, 53, 54, 57, 59, 64, 65]. Молекулярно-эволюционный анализ, основанный на теории нейтральной эволюции, показал, что субтип 4a в Египте претерпел экспоненциальный рост в 1940 - 1980 гг. по причине широкого использования внутривенных инъекций препаратов сурьмы для лечения шистозоматозов [64]. По этой же причине в 1920-е годы данный субтип получил распространение в Японии [65].

Обширные молекулярно-эпидемиологические исследования, проведенные в странах Африки и Азии, выявили огромное разнообразие субтипов ВГС не только генотипов 4 и 6, но и 1, 2, 3: на территории Южной Азии - генотипа 3 [59, 60], в Юго-Восточной Азии - генотипа 6 [66, 67, 68], во многих странах Центральной Африки - генотипов 1 и 4 [27, 59, 69], тогда как в странах Западной Африки и в Камеруне - генотипа 2 [62, 70]. Такое многообразие вариантов ВГС на ограниченных территориях объясняется длительной циркуляцией ВГС в этих зонах, рассматривающихся сейчас как потенциальный пул «будущих» эпидемических вариантов ВГС.

Использование теории коалесценции в совокупности с байесовским методом позволяет установить время дивергенции различных вариантов ВГС и возможные пути их распространения. Например, время дивергенции вариантов ВГС генотипа 2 в Западной Африке и Камеруне пришлось на 1380-1680 гг. и 1470-1760 гг. соответственно [62]. На протяжении нескольких веков эволюция генотипа 2 в этих регионах шла независимо друг от друга. В странах Западной Африки его широкое распространение произошло между 1700-1900 гг. и было обусловлено национальными традициями, характерными только для этой части африканского континента, в частности, «братанием на крови» между воинами различных племен, тогда как в Камеруне в начале XX века было связано с началом широкой вакцинации [62].

В последнее десятилетие во многих регионах отмечают изменение патернов генотипов современной структуры популяции ВГС, что обусловлено в значительной степени активной миграцией населения, а также «вбросом» новых вариантов ВГС в среду лиц ВВН. В Канаде обнаружены субтипы 2d, 2e, 2j, 2m, 2r африканского происхождения [71]. В странах Южной Америки, например, в Венесуэле, выявление субтипа 2j связывают с миграцией этнических групп из стран Африки [72]. В свою очередь, в Южной Африке, где ранее циркулировал в основном генотип 5, значительно возросла доля генотипов 1 (19%) и 4 (19%), и стали регистрироваться нетипичные для этого региона субтипы 4k, 4q, 4r [73]. В странах Западной Европы возросла доля 4 генотипа: в Греции превысила 15% [74], в Дании евеличилась среди ВВН [75].

В России возрастает доля генотипа 2, а в некоторых районах - генотипа 4. Во всех регионах России по-прежнему отмечается доминирование субтипа 1b в основной популяции, а также у пациентов отделений гемодиализа и гемотрансфузии, тогда как субтипа 3a - у лиц, употребляющих ВНС, с разной частотой обнаруживаются субтипы 1a, 2a, 2b и 2c [30, 31, 36, 39, 76].

Во Вьетнаме идентифицированы 1a, 1b, 2a, 3a, 3b, 6a, 6e, 6h, 6l, 6t, 6r, 6s субтипы ВГС, постоянно появляются сообщения о ранее неизвестных вариантах генотипа 6 [67, 68, 77, 78, 79]. Для всей территории Вьетнама характерно доминирование генотипа 1 среди лиц, употребляющих внутривенно психотропные препараты, и лиц сексуальной индустрии. В то же время, у пациентов гемодиализа и гемотрансфузии генотип 1 превалирует только в северных провинциях страны, тогда как генотип 6 - в южных провинциях [79]. В связи с ежегодным ростом миграции населения, мониторинг структуры популяции ВГС на молекулярном уровне позволит своевременно отслеживать появление новых вариантов возбудителя и выявлять основные пути их распространения внутри Вьетнама.

Статья подготовлена при поддержке гранта Российского Научного Фонда (приоритетное направление деятельности РНФ "Проведение фундаментальных научных исследований и поисковых научных исследований отдельными научными группами", соглашение №14-15-00546).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Choo Q. L., Kuo G., Weiner A. J., Overby L. R., Bradley D. W., Houghton M., *Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome,* Science, 1989, 244(4902):359-62.
2. World Health Organization. Hepatitis C., *Fact sheet,* 2012; N164: http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs164/en/
3. Lindenbach B. D., Rice C. M., *Unrevalling hepatitis C virus replication from genome to function*, Nature, 2005, 436(7053):933-38.
4. Spahn C. M., Kieft J. S., Grassucci R. A., Penczek P. A., Zhou K., Doudna J. A. et al., *Hepatitis C virus IRES RNA-induced changes in the conformation of the 40s ribosomal subunit,* Science, 2001, 291(5510):1959-62.
5. Kolykhalov A. A., Mihalik K., Feinstone S. M., Rice C. M., *Hepatitis C virus-encoded enzymatic activities and conserved RNA elements in the 3' nontranslated region are essential for virus replication in vivo*, J. Virol, 2000, 74(4):2046-51.
6. Santolini E., Migliaccio G., La Monica N., *Biosynthesis and biochemical properties of the hepatitis C virus core protein,* J. Virol, 1994; 68(6):3631-41.
7. Roingeard P., Hourioux C., *Hepatitis C virus core protein, lipid droplets and steatosis* J. Viral. Hepat, 2008, 15, p.157-64.
8. Miyoshi H., Fujie H., Shintani Y., Tsutsumi T., Shinzawa S., Makuuchi M. et al., *Hepatitis C virus core protein exerts an inhibitory effect on suppressor of cytokine signaling (SOCS)-1 gene expression*, J. Hepatol, 2005, 43(5):757-63.
9. 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(42):40503-13.
10. 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.
11. Cormier E., Durso R. J., Tsamis F., Boussemart L., Manix C., Olson W. C. et al., *L-SIGN (CD209L) and DC-SIGN (CD209) mediate transinfection of liver cells by hepatitis C virus*, Proc. Natl. Acad. Ssi. USA, 2004, 101(39):14067-72.
12. Pileri P., Uematsu Y., Campagnoli S., Galli G., Falugi F., Petracca R. et al., *Binding of hepatitis C virus to CD81*, Science, 1998, 282(5390):938-41.
13. Heo T. H., Lee S. M., Bartosch B., Cosset F. L., Kang C. Y., *Hepatitis C virus E2 links soluble human CD81 and SR-B1 protein*, Virus Res., 2006, 121(1):58-64.
14. Steinmann E., Pietschmann T., *Hepatitis C virus p7-a viroporin crucial for virus assembly and an emerging target for antiviral therapy*, Viruses, 2010, 2(9):2078-95.

15. Ma Y., Anantpadma M., Timpe J. M., Shanmugam, Singh S. M., Lemon S. M. et al., *Hepatitis C virus NS2 protein serves as a scaffold for virus assembly by interacting with both structural and nonstructural proteins*, J. Virol., 2011, 85(1):86-97.

16. Tomei L., Failla C., Santolini E., De Francesco R., La Monica N., *NS3 is a serine protease required for processing of hepatitis C virus polyprotein*, J. Virol., 1993, 67(7):4017-26.

17. Baril M., Racine M. E., Penin F., Lamarre D., *MAVS dimer is a crucial signaling component of innate immunity and the target of hepatitis C virus NS3/4A protease*, J. Virol., 2009, 83(3):1299-11.

18. Moradpour D., Penin F., Rice C. M., *Replication of hepatitis C virus*, Nat. Rev. Microbiol, 2007, 5(6):453-63.

19. Aligo J., *Formation and function of hepatitis C virus replication complexes require residues in the carboxy-terminal domain of NS4B protein*, J. Aligo, S. Jia, D. Manna, K. V. Konan, Virology, 2009, 393, p.68-83.

20. Tellinghuisen T., Marcotrigiano J., Rice C. M., *Structure of the zinc-binding domain of an essential component of the hepatitis C virus replicase*, Nature, 2005, 435(7040):374-79.

21. Gale M. Jr., Blakely C. M., Kwieciszewski B., Tan S. L., Dossett M., Tang N. M. et al., *Control of PKR protein kinase by hepatitis C virus nonstructural 5A protein: molecular mechanisms of kinase regulation*, Mol. Cell Biol., 1998, 18(9):5208-18.

22. Enomoto N., Sakuma I., Asahina Y., Kurosaki M., Murakami T., Yamamoto C. et al., *Mutations in the nonstructural protein 5A gene and response to interferon in patients with chronic hepatitis C virus 1b infection,* New Eng. J. Med., 1996, 334(2):77-81.

23. Yuan H. J., Jain M., Snow K. K., Gale M. Jr., Lee W. M., *HALT-C Trial Group. Evolution of hepatitis C virus NS5A region in breakthrough patients during pegylated interferon and ribavirin therapy*, J. Viral. Hepat., 2010, 17(3):208-16.

24. Ranjith-Kumar C. T., Gutshall L., Kim M. J., Sarisky R. T., Kao C. C. *Requirements for de novo initiation of RNA synthesis by recombinant flaviviral RNA-dependent RNA polymerases,* J. Virol., 2002, 76(24):12526-36.

25. Watashi K., Ishii N., Hijikata M., Inoue D., Murata T., Miyanari Y. et al., *Cyclophilin B is a functional regulator of hepatitis C virus RNA polymerase*, Mol. Cell., 2005, 19(1):111-22.

26. Ogata N., Alter H. J., Miller R. H., Purcell R. H., *Nucleotide sequence and mutation rate of the H strain of hepatitis C virus*, Proc. Natl. Acad. Ssi. USA, 1991, 88(8):3392-96.

27. Simmonds P., *Genetic diversity and evolution of hepatitis C virus--15 years on,* J. Gen. Virol., 2004, 85(11):3173-88.

28. Farci P., Shimoda A., Coiana A., Diaz G., Peddis G., Melpolder J. C. et al., *The outcome of acute hepatitis C predicted by the evolution of the viral quasispecies*, Science, 2000, 288(5464):339-44.

29. Simmonds P., *Viral heterogeneity of the hepatitis C virus*, J. Hepatol, 1999, 31(Suppl. 1):54-60.

30. Kalinina O., Norder H., Mukomolov S., Magnius L. O., *A natural intergenotypic recombinant of hepatitis C virus identified in St. Petersburg*, J. Virol., 2002, 76(8):4034-43.

31. Kalinina O., Norder H., Magnius L. O., *Full-Length Open Reading Frame of a Recombinant hepatitis C Virus Strain from St. Petersburg: Proposed mechanism for its formation*, J. Gen. Virol., 2004, 85(7):1853-57.

32. Shustov A. V., Kochneva G. V., Sivolobova G. F., Grazhdantseva A. A., Gavrilova I. V., Akinfeeva L. A. et al., *Molecular epidemiology of the hepatitis C virus in Western Siberia*, J. Med. Virol., 2005, 77(3):382-89.

33. Tallo T., Norder H., Tefanova V., Krispin T., Schmidt J., Ilmoja M. et al., *Genetic characterization of hepatitis C virus strains in Estonia: fluctuations in the predominating subtype with time*, J. Med. Virol., 2007, 79(4):374-82.

34. Demetriou V. L., van de Vijver D. A., Cyprus HCV Network, Kostrikis L. G., Chimonides S., Evgeniou A. et al., *Molecular epidemiology of hepatitis C infection in Cyprus: evidence of polyphyletic infection,* J. Med. Virol., 2009, 81(2):238-48.

35. Moreau I., Hegarty S., Levis J., Sheehy P., Crosbie O., Kenny-Walsh E. et al., *Serendipitous identification of natural intergenotypicrecombinants of hepatitis C in Ireland*, J. Virol., 2006, 3(95):1-7.

36. Чуб Е. В., Кочнева Г. В., Гранитов В. М., Нетесов С. В., *Рекомбинанты вируса гепатита С типа 2k/1b у населения Алтайского края*, Инфекционные болезни, 2007, 5(4):5-11.

37. Kurbanov F., Tanaka Y., Chub E., Maruyama I., Azlarova A., Kamitsukasa H. et al., *Molecular epidemiology and interferon susceptibility of the natural recombinant hepatitis C virus strain RF1_2k/1b*, J. Infect. Dis., 2008, 198(10):1448-56.

38. Morel V., Descamps V., François C., Fournier C., Brochot E., Capron D. et al., *Emergence of a genomic variant of the recombinant 2k/1b strain during a mixed hepatitis C infection: a case report*, J. Clin. Virol., 2010, 47(4):382-86.

39. Самохвалов Е. И., Николаева Л. И., Альховский С. В., Хлопова И. Н., Макашова В. В., Петрова Е. В. и др., *Частота встречаемости отдельных субтипов вируса гепатита С в Московском регионе*, Вопросы вирусологии, 2013, 58(1):36-40.

40. Raghwani J., Thomas X. V., Koekkoek S. M., Schinkel J., Molenkamp R., van de Laar T. et al., *Origin and evolution of the unique hepatitis C virus circulating recombinant form 2k/1b*, J. Virol., 2012, 86(4):2212-20.

41. Newman R. M., Kuntzen T., Weiner B., Berical A., Charlebois P., Kuiken C. et al., *WholeGenomePyrosequencingofRareHepatitis C Virus Genotypes Enhances Subtype Classification and Identification of Naturally Occurring Drug Resistance Variants*, J. Infect. Dis., 2013, 208(1):17-31.
42. Bhattacharya D., Accola M. A., Ansari I. H., Striker R., Rehrauer W. M., *Naturally occurring genotype 2b/1a hepatitis C virus in the United States*, J. Virol., 2011, 8(458):doi:10.1186/1743-422X-8-458.
43. Lee Y. M., Lin H. J., Chen Y. J., Lee C. M., Wang S. F., Chang K. Y. et al., *Molecular epidemiology of HCV genotypes among injection drug users in Taiwan: Full-length sequences of two new subtype 6w strains and a recombinant form_2b/6w*, J. Med. Virol., 2009, 82(1):57-68.
44. Legrand-Abravanel F., Claudinon J., Nicot F., Dubois M., Chapuy-Regaud S., Sandres-Saune K. et al., *New natural intergenotypic (2/5) recombinant of hepatitis C virus*, J. Virol., 2007, 81(8):4357-62.
45. Noppornpanth S., Lien T. X., Poovorawan Y., Smits S. L., Osterhaus A. D., Haagmans B. L. et al., *Identification of a Naturally Occurring Recombinant Genotype 2/6 Hepatitis C Virus*, J. Virol., 2006, 80(15):7569-77.
46. Kageyama S., Agdamag D. M., Alesna E. T., Leaño P. S., Heredia A. M., Abellanosa-Tac-An I. P. et al., *A natural inter-genotypic (2b/1b) recombinant of hepatitis C virus in the Philippines,* J. Med. Virol., 2006, 78(11):1423-28.
47. Yokoyama K., Takahashi M., Nishizawa T., Nagashima S., Jirintai S., Yotsumoto S. et al., *Identification and characterization of a natural inter-genotypic (2b/1b) recombinant hepatitis C virus in Japan*, Arch. J. Virol., 2011, 156:1591-1601.
48. Hoshino H., Hino K., Miyakawa H., Takahashi K., *Inter-genotypic recombinant hepatitis C virus strains in Japan noted by discrepancies between immunoassay and sequencing*, J. Med. Virol., 2012; 1024:1018-24.
49. Colina R., Casane D., Vasquez S., Garcıa-Aguirre L., Chunga A., Romero H. et al., *Evidence of intratypic recombination in natural populations of hepatitis C virus*, J. Gen. Virol., 2004, 85(1):31-37.
50. Gao F., Nainan O., Khudyakov Y., Li J., Hong Y., Gonzales A. et al., *Recombinant hepatitis C virus in experimentally infected chimpanzees*, J. Gen. Virol., 2007, 88(1):143-47.
51. Okamoto H., Kurai K., Okada S., Yamamoto K., Lizuka H., Tanaka T. et al., *Full-length sequence of a hepatitis C virus genome having poor homology to reported isolates: comparative study of four distinct genotypes*, Virology, 1992, 188:331-41.
52. Simmonds P., Alberti A., Alter H. J., Bonino F., Bradley D. W., Brechot C. et al., *A proposed system for the nomenclature of hepatitis C viral genotypes*, Hepatology, 1994, 19(5):1321-24.
53. Tokita H., Okamoto H., Iizuka H., Kishimoto J., Tsuda F., Lesmana L. A. et al., *Hepatitis C virus variants from Jakarta, Indonesia classifiable into novel genotypes in the second (2e and 2f), tenth (10a) and eleventh (11a) genetic groups*, J. Gen. Virol., 1996, 77(2):293-301.

54. Tokita H., Okamoto H., Luengrojanakul P., Vareesangthip K., Chainuvati T., Iizuka H. et al., *Hepatitis C virus variants from Thailand classifiable into five novel genotypes in the sixth (6b), seventh (7c, 7d) and ninth (9b, 9c) major genetic groups,* J. Gen. Virol., 1995, 76(9):2329-35.

55. Robertson B., Myers G., Howard C., Brettin T., Bukh J., Gaschen B. et al., *Classification, nomenclature, and database development for hepatitis C virus (HCV) and related viruses: proposals for standardization*, International Committee on Virus Taxonomy, Arch Virol., 1998, 143(12):2493-2503.

56. Simmonds P., Bukh J., Combet C., Deléage G., Enomoto N., Feinstone S. et al., *Consensus proposals for a unified system of nomenclature of hepatitis C virus genotypes*, Hepatology, 2005, 42(4):962-73.

57. Smith D. B., Bukh J., Kuiken C., Muerhoff A. S., Rice C. M., Stapleton J. T. et al., *Expanded classification of hepatitis C virus into 7 genotypes and 67 subtypes: updated criteria and genotype assignment WEB resource*, Hepatology, 2014, 59(1):318-27.

58. Cornberg M., Razavi H., Alberti A., Bernasconi E., Buti M., Cooper C. et al., *A systematic review of hepatitis C virus epidemiology in Europe, Canada and Israel*, Liver Int., 2011, 31(Suppl. 2):30-60.

59. Sievert W., Altraif I., Razavi H. A., Abdo A., Ahmed E. A., Alomair A. et al., *A systematic review of hepatitis C virus epidemiology in Asia, Australia and Egypt,* Liver Int., 2011, 31(Suppl. 2):61-80.

60. Pybus O. G., Charleston M. A., Gupta S., Rambaut A., Holmes E. C., Harvey P. H., *The epidemic behavior of the hepatitis C virus*, Science, 2001, 292(5525): 2323-25.

61. Pybus O. G., Markov P. V., Wu A., Tatem A. J. *Investigating the endemic transmission of the hepatitis C virus,* Int. J. Parasitol, 2007, 37(8):839-49.

62. Pouillot R., Lachenal G., Pybus O. G., Rousset D., Njouom R., *Variable epidemic histories of hepatitis C virus genotype 2 infection in West Africa and Cameroon*, Infect. Genet. Evol., 2008, 8(5):676-81.

63. Pybus O. G., Cochrane A., Holmes E. C., Simmonds P., *The hepatitis C virus epidemic among injecting drug users*, Infect. Genet. Evol., 2005, 5(2):131-39.

64. Tanaka Y., Agha S., Saudy N., Kurbanov F., Orito E., Kato T. et al., *Exponential spread of hepatitis C virus genotype 4a in Egypt*, J. Mol. Evol., 2004, 58(2):191-95.

65. Mizokami M., Tanaka Y., *Tracing the evolution of hepatitis C virus in the United States, Japan, and Egypt by using the molecular clock*, Clin. Gastroenterol. Hepatol, 2005, 3(10):82-85.

66. Pybus O. G., Barnes E., Taggart R., Lemey P., Markov P. V., Rasachak B. et al., *Genetic history of hepatitis C virus in East Asia*, J. Virol., 2009, 83(2):1071-82.

67. Lu L., Murphy D., Li C., Liu S., Xia X., Pham P. H. et al., *Complete genomes of three subtype 6t isolates and analysis of many novel hepatitis C virus variants within genotype 6*, J. Gen. Virol., 2008, 89(2):444-52.

68. Dunford L., Carr M. J., Dean J., Waters A., Nguyen L. T. et al., *Hepatitis C Virus in Vietnam: High Prevalence of Infection in Dialysis and Multi-TransfusedPatients Involving Diverse and Novel Virus Variants*, PLoS ONE. 2012, 7(8):e41266.

69. Bracho M. A., Carrillo-Cruz F. Y., Ortega E., Moya A., González-Candelas F., *A new subtype of hepatitis C virus genotype 1: complete genome and phylogenetic relationships of an Equatorial Guinea isolate*, J. Gen. Virol., 2006, 87(6):1697-1702.

70. Jeannel D., Fretz C., Traore Y., Kohdjo N., Bigot A., Pê Gamy E. et al., *Evidence for high genetic diversity and long-term endemicity of hepatitis C virus genotypes 1 and 2 in West Africa*, J. Med. Virol., 1998, 55(2):92-97.

71. Li C., Cao H., Lu L., Murphy D., *Full-length sequences of 11 hepatitis C virus genotype 2 isolates representing five subtypes and six unclassified lineages with unique geographical distributions and genetic variation patterns*, J. Gen. Virol., 2012, 93(6):1173-84.

72. Sulbarán M. Z., Di Lello F. A., Sulbarán Y., Cosson C., Loureiro C. L., Rangel H. R. et al., *Genetic history of hepatitis C virus in Venezuela: high diversity and long time of evolution of HCV genotype 2*, PLoS One, 2010, 5(12):e14315.

73. Gededzha M. P., Selabe S. G., Kyaw T., Rakgole J. N., Blackard J. T., Mphahlele M. J., *Introduction of new subtypes and variants of hepatitis C virus genotype 4 in South Africa*, J. Med. Virol., 2012, 84(4):601-607.

74. Katsoulidou A., Sypsa V., Tassopoulos N. C., Boletis J., Karafoulidou A., Ketikoglou I., Tsantoulas D. et al., *Molecular epidemiology of hepatitis C virus (HCV) in Greece: temporal trends in HCV genotype-specific incidence and molecular characterization of genotype 4 isolates*, J. Viral. Hepat, 2006, 13(1):19-27.

75. Eriksen M. B., Jørgensen L. B., Krarup H., Laursen A. L., Christensen P. B., Møller A. et al., *Molecular and epidemiological profiles of hepatitis C virus genotype 4 in Denmark*, J. Med. Virol., 2010, 82(11):1869-77.

76. Кузин С. Н.,Самохвалов Е. И., Заботина Е. Е., Кудрявцева Е. Н., Крель П. Е., Корабельникова М. И. и др., *Структура генотипов вируса гепатита у пациентов с хроническим гепатитом С*, Журн. микробиол, 2011, 3:33-38.

77. Pham D. A., Leuangwutiwong P., Jittmittraphap A., Luplertlop N., Bach H. K., Akkarathamrongsin S. et al., *High prevalence of Hepatitis C virusgenotype6 in Vietnam*, Asian Pac J Allergy Immunol, 2009, 27(2-3):153-60.

78. Tanimoto T., Nguyen H. C., Ishizaki A., Chung P. T., Hoang T. T., Nguyen V. T. et al., *Multiple routes of hepatitis C virus transmission among injection drug users in Hai Phong, Northern Vietnam*, J Med Virol., 2010, 82(8):1355-63.

79. Pham V. H., Nguyen H. D., Ho P. T., Banh D. V., Pham H. L. et al., *Very high prevalence of hepatitis C virus genotype 6 variants in southern Vietnam: largescale survey based on sequence determination,* Jpn. J. Infect. Dis., 2011, 64:537-39.

TÓM TẮT

TỔ CHỨC HỆ GEN, PHÂN LOẠI VÀ SỰ PHÁT SINH CHỦNG LOÀI THEO VÙNG ĐỊA LÝ CỦA VIRUS VIÊM GAN C

Virus viêm gan C (HCV) là loại virus gây ra bệnh truyền nhiễm ở gan, là bệnh có xu hướng tiềm ẩn và để lại những tác hại lâu dài (phát triển thành bệnh mãn tính, xơ gan và ung thư biểu mô tế bào gan). Theo số liệu của Tổ chức Y tế thế giới, trên thế giới có hơn 150 triệu người nhiễm HCV và mỗi năm có hơn 350 nghìn người chết vì các bệnh về gan có liên quan đến HCV.

HCV được phát hiện vào năm 1989 và thuộc họ Flaviviridae, chi Hepacivirus. Bộ gen virus là một sợi RNA đơn dương chiều dài khoảng 9600 nucleotide, mã hóa cho chuỗi polyprotein gồm 3011-3033 axit amin. Chuỗi này bị cắt bởi protease của virus và protease tế bào thành 10 protein virus, 3 protein đầu tiên là các protein cấu trúc (core, E1, E2), còn lại là protein phi cấu trúc (p7, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A, NS5B).

HCV là một trong những loại virus gây bệnh có sự biến đổi cấu trúc di truyền nhiều nhất. Sự biến đổi này được quy định bởi cơ chế đột biến và tái tổ hợp. Theo phân loại hiện nay, HCV gồm 7 kiểu gen, 88 phân nhóm và 9 hình thức tái tổ hợp giữa các kiểu gen, trong đó hình thức tổ hợp RF2i/6p lần đầu tiên xác định được ở Việt Nam. Sự phân bố các kiểu gen / phân nhóm của HCV theo khu vực địa lý trên toàn cầu được mô tả rõ trong các tài liệu. Các kiểu gen phân bố rộng rãi nhất là kiểu 1, 2 và 3. Tuy nhiên, nó chỉ giới hạn một số phân nhóm là 1a, 1b, 2a, 2b và 3a. Các kiểu gen 4, 5, 6 có sự phân bố địa phương và là loài đặc hữu ở Châu Phi và Đông Nam Á, nơi phát hiện được sự đa dạng rất lớn các phân nhóm của HCV, không chỉ kiểu gen 4 và 6 mà còn cả các kiểu gen 1, 2, 3. Tại Việt Nam đã phân loại được các phân nhóm 1a, 1b, 2a, 3a, 6a, 6e, 6h, 6l, 6t, 6r, 6s của HCV. Trên lãnh thổ Việt Nam, kiểu gen 1 chiếm ưu thế ở các đối tượng sử dụng các thuốc hướng tâm thần bằng đường tĩnh mạch và các đối tượng mại dâm. Trong khi đó ở những bệnh nhân chạy thận nhân tạo và truyền máu thì kiểu gen 1 phổ biến ở các tỉnh miền Bắc, kiểu gen 6 phổ biến ở miền Nam.

Trong bài tổng quan này, chúng tôi nói về vai trò chức năng của protein cấu trúc và phi cấu trúc của HCV, các cơ chế biến đổi, đặc điểm phân loại, số liệu về sự phân bố theo vùng địa lý và các biến thể gen của HCV.

Từ khóa: Virus viêm gan C, tổ chức hệ gen, phân loại, kiểu gen, вирус гепатита С, организация генома, классификация, генотипы.

Nhận bài ngày 26 tháng 9 năm 2014

Hoàn thiện ngày 22 tháng 10 năm 2014

(1) Viện Nghiên cứu dịch tễ và vi sinh vật mang tên Pastuer - Cơ quan Giám sát tiêu dùng Liên Bang Nga, 197.101, St. Petersburg

(2) Viện Y học thực nghiệm - Viện Hàn lâm Khoa học Nga, 197.376, St. Petersburg