

# Imunobiologija virusne hepatitis C infekcije

---

**Vidović, Jurica**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2016**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Rijeka, Faculty of Medicine / Sveučilište u Rijeci, Medicinski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:184:258804>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-12-19**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the University of Rijeka, Faculty of Medicine - FMRI Repository](#)



SVEUČILIŠTE U RIJECI  
MEDICINSKI FAKULTET  
INTEGRIRANI PREDDIPLOMSKI I DIPLOMSKI  
SVEUČILIŠNI STUDIJ MEDICINE

Jurica Vidović

IMUNOBIOLOGIJA VIRUSNE HEPATITIS C INFEKCIJE

Diplomski rad

Rijeka, 2016.

SVEUČILIŠTE U RIJECI  
MEDICINSKI FAKULTET  
INTEGRIRANI PREDDIPLOMSKI I DIPLOMSKI  
SVEUČILIŠNI STUDIJ MEDICINE

Jurica Vidović

IMUNOBIOLOGIJA VIRUSNE HEPATITIS C INFEKCIJE

Diplomski rad

Rijeka, 2016.

Mentor rada: prof. dr. sc. Zlatko Trobonjača, dr. med.

Diplomski rad ocijenjen je dana \_\_\_\_\_ u/na \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_, pred povjerenstvom u sastavu:

1. \_\_\_\_\_

2. \_\_\_\_\_

3. \_\_\_\_\_

Rad sadrži stranica 31 slike 5 tablica 0 literaturnih navoda 84.

*Zahvaljujem svome mentoru prof. dr. sc. Zlatku Trobonjači na vrijednim savjetima i pomoći  
pri odabiru teme i izradi ovog diplomskog rada bez.*

*Najviše se želim zahvaliti svojoj obitelji, posebno ocu Tihomiru koji iako više nije s nama  
svakodnevno živi u našim srcima*

*Hvala i svim prijateljima i kolegama koji su sa mnom proživjeli i uljepšali mi studentske dane.*

## SADRŽAJ

1.	UVOD .....	1
2.	IMUNOBIOLOGIJA VIRUSNE HEPATITIS C INFEKCIJE.....	3
2.1	Životni ciklus HCV .....	3
2.2	Mehanizam ulaska virusa u stanicu.....	3
2.3	Mehanizam uspostave kronične infekcije HCV-a.....	5
2.4	Urođeni imunski odgovor domaćina na HCV infekciju.....	6
2.5	Izbjegavanje urođene antivirusne imunosti HCV-a.....	8
2.6	Regulacija urođene imunosti može odrediti reakciju na terapiju interferonom.....	10
2.7	Imunološke karakteristike čišćenja virusa hepatitisa C.....	12
2.8	Čimbenici koji omogućavaju održavanje virusne infekcije .....	15
2.9	Oštećenje jetre posredovano imunskim mehanizmima u hepatitisu C .....	16
2.10	Zaključne napomene.....	18
3.	SAŽETAK.....	19
4.	SUMMARY .....	21
5.	LITERATURA.....	22
6.	ŽIVOTOPIS .....	31

Popis skraćenica i akronima

HCV – virus hepatitisa C

IFN – interferon

RNA – ribonukleinska kiselina

NPHV – hepaci virus neprimata

LDL – lipoprotein niske gustoće

HDL – lipoprotein velike gustoće

LPV – lipoviropartikla

VLDL – lipoprotein vrlo niske gustoće

APO – apolipoprotein

CLDN – kladin

OCLN – okludin

MAVS – mitohondrijski aktiviralni signalni protein

PAMPs – potogenom povezani molekularni putevi

ISG – interferonom stimuliran gen

MHC – engl. Major Histocompatibility Complex

CTL – citotoksični limfociti

## 1. UVOD

Virus hepatitisa C (HCV) vodeći je uzrok ciroze jetre i čest uzrok hepatocelularnog karcinoma te glavni medicinski razlog za transplantaciju jetre u Sjedinjenim Američkim Državama. U SAD-u, prevalencija HCV infekcija je 1,8%, dok na razini cijelog svijeta prevalencija iznosi preko 2% (1). Kao posljedica nedostatka cjepiva, intravenozno korištenje droga, te u manjoj mjeri, perkutanom ili sluzničnim prijenosom, učestalost bolesti je u porastu. Bolničke (nozokomijalne) infekcije najčešće se događaju tijekom operacija, usljed neželjenih ozljeda iglom tijekom rada u zdravstvenih djelatnika ili drugim medicinskim postupcima poput kolonoskopije (2).

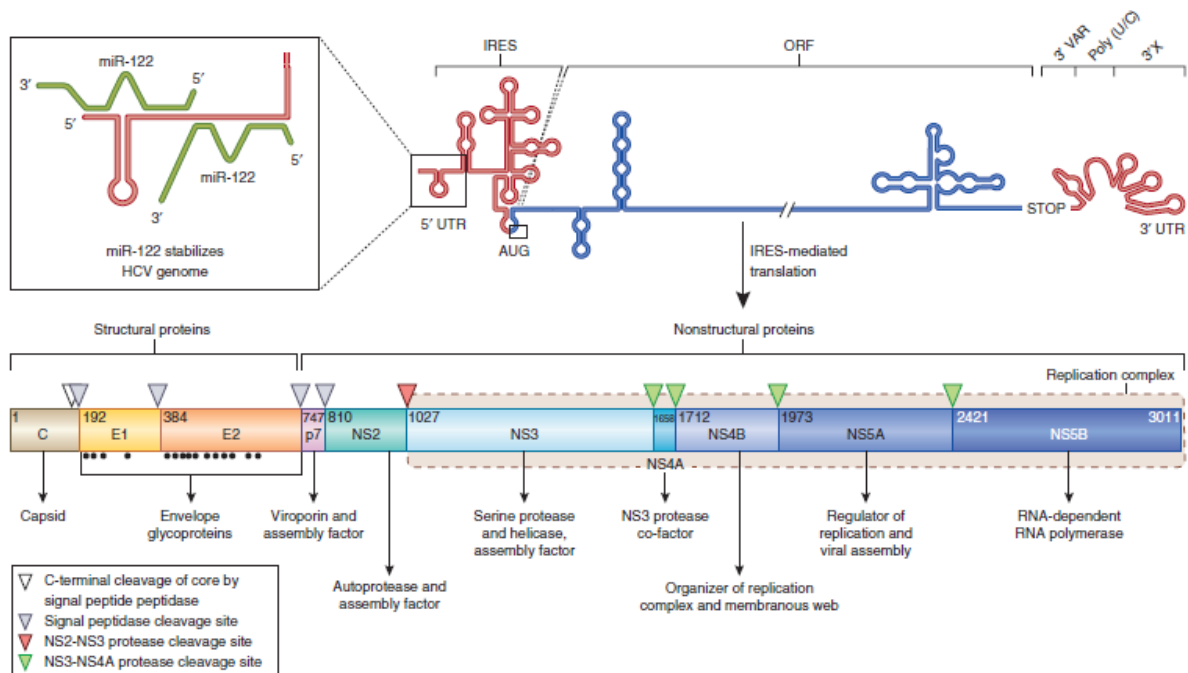
U većine bolesnika simptomi akutnog hepatitisa C su teški i podmukli te vode ka razvoju kroničnih oblika bolesti (3). Unatoč napretku u liječenju kroničnog hepatitisa C kombiniranom primjenom pegiliranog interferona (IFN) i ribavirina u, više od 40% ovih kroničnih slučajeva ne usljedi reakcija na farmakoterapiju ili se bolest ponovo razbukta nakon prekida terapije. Intenzivna istraživanja usmjerena su na razumijevanje prirode infekcije HCV-om te na interakcije virusa i tkiva domaćina kao i na uvođenje novih terapijskih metoda (4). U ovom diplomskom radu, opisane su aktualne znanstvene spoznaje o virusnim strategijama tijekom HCV infekcije te imunski mehanizmi kojima se domaćin brani kao i njihovi utjecaji na ishode bolesti.

HCV je otkriven 1989. godine (5), a ubrzo je utvrđeno da je glavni on uzrok non-A i non-B hepatitisa nakon transfuzije (6). Ovo otkriće ubrzo dovelo do uvođenja serološke i molekularno biološke dijagnostike za provjeru krvnih derivata (7). Za razliku od toga, uspostava istraživačkih alata i staničnih kultura za uzgoj HCV-a išla je puno teže. Jedini mogući *in vivo* model za istraživanje HCV-a je čimpanza na kojoj je moguće analizirati anti-HCV imunost i patogenezu bolesti (8). Male životinje ne mogu biti zaražene HCV-om, pa



surazvijeni kimerični istraživački modeli(9) ljudske jetre genetski modificiranim miševima (10) HCV-popustljiv miševa.

HCV je RNA virus iz porodice Flaviviridae, koji obuhvaća klasične flaviviruse poput virusa žute groznice i denga virusa. Pored njega, samo još slabo poznati GB-virus B i nedavno identificirani virus neprimata, glodavaca i šišmiša hepacivirus (NPHV) (11), RHV (12) i BHV (13) su grupirani u rod Hepacivirus. HCV ima genom veličine 9,6 kb sa kojega se prepisuje poliprotein od kojega se nadalje deriviraju strukturni (nukleoproteinska jezgra, E1 i E2) i nestrukturni (P7, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A i NS5B) proteini (slika 1.) (14). Virusna replikacija odvija se u citoplazmi, a sklapanje virusa i otpuštanje kroz sekretorne puteve vezani su biogenezu lipoproteina (15).



Slika 1. Genom HCV-a i procesiranje poliproteina.

## **2. IMUNOBIOLOGIJA VIRUSNE HEPATITIS C INFEKCIJE**

### **2.1 Životni ciklus HCV**

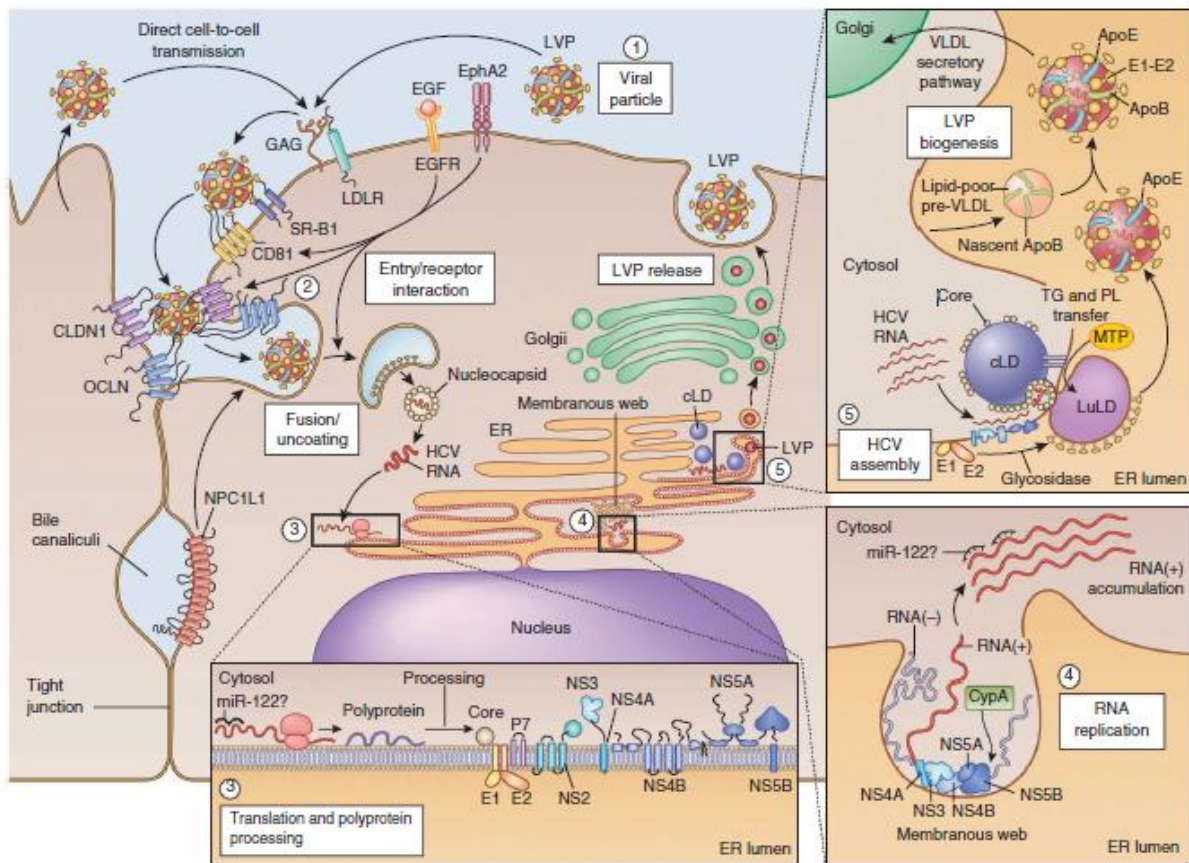
Još mnogo toga treba razumjeti o sastavu i strukturi HCV-a, iako su mnoge činjenice poznate. Omotač HCV-a je 50-80 nm u promjeru, a E1 i E2 glikoproteinski heterodimeri ugrađeni su u lipidni dvostruki sloj koji okružuje nukleokapsidu sastavljenu od jezgrenih proteina i genoma kojeg tvori jednolančana RNA 30,31 (slika. 2). HCV virusi koji se javljaju kao lipoviropartikala (LVP), nisu ikozahedralni, odnosno nemaju klasičnih 20 ploha, a zbog njihove povezanosti s lipoproteina niske gustoće i vrlo niske gustoće (LDL i VLDL) u zaraženom domaćinu (16), vrlo su pleomorfni (različitih oblika) sa varijabilnom gustoćom, koja varira ovisno o uvjetima za replikaciju virusa (17). Ova strategija „trojanskog konja“ tj. skrivanja štiti virus od neutralizacije (15). Povezanost virusa sa apolipoproteinom E (apoE) i apoC nalazimo u virusnim česticama od in vivo i in vitro dobivenog virusa, a povezanost s apoB je manje izražena u virusa iz stanične kulture (18).

### **2.2 Mehanizam ulaska virusa u stanicu**

Do sada je otkriven veći broj staničnih molekula koje su uključene u ulazak HCV-a u hepatocyte (slika 2). Čini se da LDL receptor i glikozaminoglikani posreduju početno vezanje niskog afiniteta (19) na stanicu, prije E1-E2 interakcije s koreceptorima SR-BI (20) i CD81 (21). Klaudin-1 (CLDN1) i okludin (OCLN) također su potrebni za ulazak virusa (22). CLDN6 i CLDN9 mogu zamijeniti CLDN1 za ulazak HCV, iako im je izražaj rrelativno nizak na jetrenim stanicama (23). Upravo razlike među vrstama u građi CD81 i OCLN definiraju i ograničavaju tropizam prema stanicama (24). Pored toga, receptor epidermalnog faktora rasta (EGFR) i efrinski receptor tipa A2 također su potrebni za ulazak HCV i po svemu sudeći moduliraju interakcije između CD81 i CLDN1 (25). Kolesterol povezan sa

virusima uključuje se u kasnoj fazi ulaska HCV-a, u tijeku ili prije fuzije, putem interakcije s NPC1L1 što je receptor apsorpcije kolesterola (26). Unos virusa odvija se preko klatrinom posredovane endocitoze (26), a fuzija zahtijeva odjeljak sa niskim pH kojeg virus nalazi vjerojatno u endosomima (27). Molekula CD81 aktivira HCV E2 protein u kiselom mediju. Ovi procesi ulaska virusa na kraju dovode do oslobađanja HCV genoma u citoplazmu, gdje se događa primarna translacija.

Osim infekcije čistim virusom, izravni prijenos sa stanice na stanicu se vjerojatno događa u jetri, što može osigurati mogućnost izbjegavanja virusa neutralizaciji (28).



Points of intervention in the HCV life cycle

- ① The viral particle (neutralizing antibodies, virocidal peptides)
- ② Entry and receptor interaction (antibodies and small molecules targeting receptors, kinase inhibitors)
- ③ Translation and polyprotein processing (NS3-NS4A protease inhibitors)
- ④ HCV RNA replication (NS5B polymerase and NS5A inhibitors, miR-122 antagonists, cyclophilin inhibitors, statins, PI4KIII $\alpha$  inhibitors)
- ⑤ Assembly and virion morphogenesis (NS5A inhibitors, DGAT1 inhibitors, glycosidase inhibitors, MTP inhibitors)

Slika 2. Ulazak HCV-a u stanicu i replikacijski ciklus

### **2.3 Mehanizam uspostave kronične infekcije HCV-a**

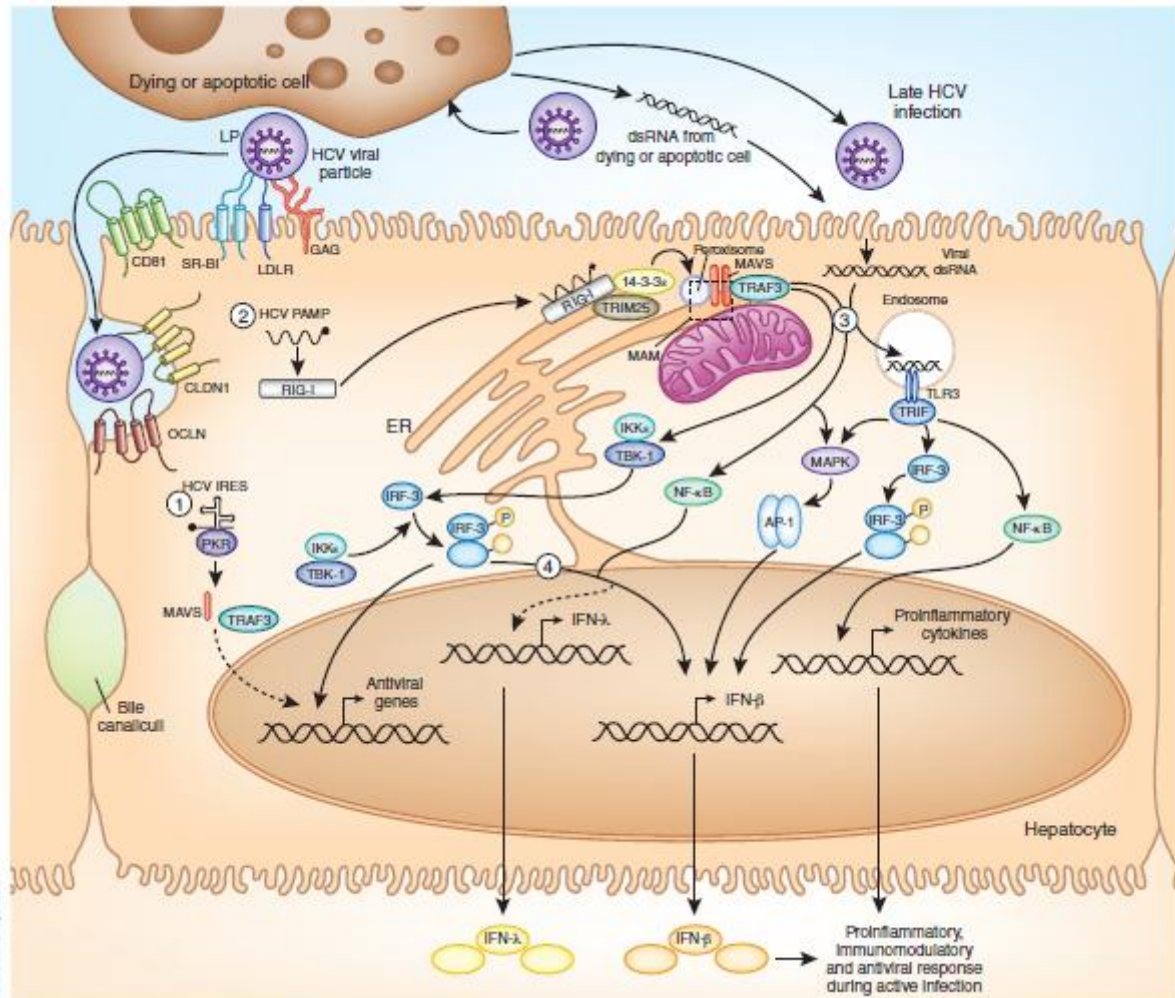
Kao što je prethodno navedeno, HCV inficira hepatocite kao glavne parenhimske stanice jetre. Prva linija imunosne obrane protiv HCV-a oslanja se na urođene imunosne mehanizme samih hepatocita. Ovaj urođeni imunosni odgovor služi za prepoznavanje HCV-a kao strane tvari i potiče lokalnu antivirusnu obranu u inficiranim stanicama i tkivu jetre koje mijenja tako da može privlačiti i poticati imunosne stanice stečenog imunosnog odgovora. Prema tome, jetrena urođena imunost je ključna za kontrolu i ishod HCV infekcije, tj razvoj imunosti. Međutim, većina zaraženih HCV-om ne uspijeva uspostaviti produktivni imunosni odgovor koji čisti infekciju. Kao prvi razlog izostanka produktivne imunosti ističe se sposobnost HCV-a da putem više različitih mehanizama regulira i izbjegava urođenoj imunosti, čime si osigurava temelj za uspostavu kronične infekcije. Standard terapija HCV infekcije obuhvaća liječenje pegiliranim interferonom (IFN $\alpha$ ) i ribavirinom. Kao dio urođene imunosti i antivirusni citokin, IFN je učinkovit terapijski, no s druge strane vrlo je neugodan za pacijente, a za one zaražene s teško izlječivim genotipova HCV-a (29), pomaže u samo 40-50% slučajeva (30).

Osim toga, još jedan važan čimbenik koji utječe na ishod HCV infekcije je polimorfizam IFNL3 (također se naziva IL28B), ljudski gen sustava urođene antivirusne obrane domaćina. Ti polimorfizmi mogu utjecati kako na ishod infekcije mimo terapije, tako i na odgovor na terapiju (31). Razumijevanje kako HCV regulira jetreni imunosni odgovor je neophodno za poboljšanje HCV terapije, razvoja učinkovite primjene cjepiva i osmišljavanje novih terapijskih strategija za kontrolu infekcije i suzbijanje jetrene bolesti.

## 2.4 Urođeni imunosni odgovor domaćina na HCV infekciju

HCV je hepacivirus i član obitelji Flaviviridae. Virusni genom je jedna molekula RNA, koja se oslobađa nakon ulaska virusa u hepatocyte, pa se virusni genom prevodi na jedan poliprotein koji se post-translacijski obrađuje i od njega se deriviraju strukturni i ne-strukturni proteini djelovanjem peptidaza domaćina i dviju virusom kodiranih proteaza. Ne-strukturni proteini HCV-a povezuju se u replikacijski kompleks na modificiranim unutarstaničnim membranama na kojima se HCV genom replicira. Ovaj proces uključuje proizvodnja RNA antigenomske replikacije i vjerojatno akumulaciju dvostruko uzvijene RNA (dsRNA). Novi virusni genom se pakira u virusne čestice pomoću virusnih strukturnih proteina. Nastali virusi otpuštaju se iz hepatocita u suradnji s lipoproteinima domaćina, tako da je HCV u krvi prisutan kao virus (32) obložen lipoproteinima. Za vrijeme procesa virusne replikacije HCV se prepoznaje kao strana tvar pomoću receptora za prepoznavanje patogenih obrazaca (PRRs, od engl. Pattern Recognition Receptors) u stanicama domaćina koji prepoznaju i vežu patogenima pridružene molekularne obrasce (PAMPs, od engl. Pathogen-Associated Molecular Patterns) samih virusnih proizvoda, što dovodi do koordinirane aktiviranja urođenog i adaptivnog imunosnog odgovora. Oba kraka imunosti, i urođeni i adaptivni, uključujući i interferenciju između jetrenih rezidentnih i infiltriranih stanica (kao što su hepatociti, Kupffer-ove stanice, plasmacitoidne dendritične stanice (pDCs), prirodne ubilačke stanice (NK) i druge imunosne stanice), doprinose sposobnosti domaćina da očiste HCV infekciju (33). Međutim, unatoč ovoj imunosnoj obrani, HCV infekcija postaje kronična u oko 70-80% onih koji su akutno inficirani (34). Takav ishod nalazimo zbog kombinacije domaćinovih i virusnih faktora koji reguliraju unutarstanični urođeni imunosni odgovor protiv HCV-a. Kao posljedica nedostatne aktivacije ove unutarstanične urođene imunosti posljedično uslijedi nefunkcionalan adaptivni imunosni odgovor. Kao primjer može se navesti da su posebno važni PRR signali od strane mitohondrijskog antivirusnog signalnog proteina (MAVS, od

engl. Mitochondrial Antiviral Signaling Protein) koji je neophodan za pokretanje urođene i adaptivne imunosti tijekom infekcije s virusom groznice zapadnog Nila, srodnim virusom obitelji Flaviviridae (35).



Slika 3. Prepoznavanje HCV-a aktivira urođenu antivirusnu obranu kroz indukciju stvaranja IFN-a u hepatocitima.

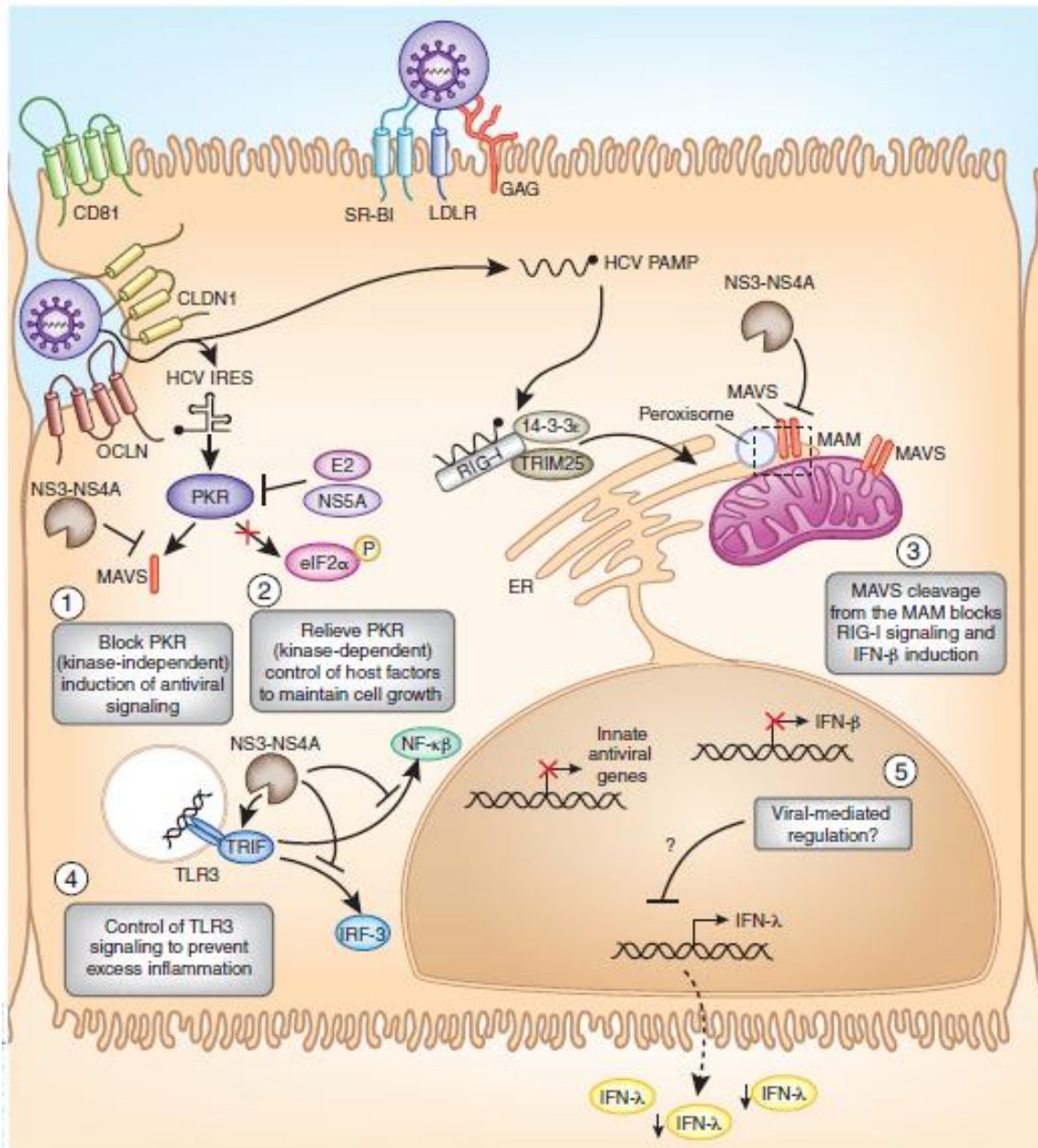
Urođeno prepoznavanje HCV-a u zaraženom hepatocita događa se kroz kombinirano djelovanje PKR, RIG-I i TLR3 (36). Ovi proteini prepoznaju specifičnosti HCV-a, uključujući dsRNA u HCV IRES i HCV poli U/UC PAMP-ovima vrlo rano u tijeku infekcije, te dsRNA, koja se nakuplja nakon HCV infekcije, (tj. virusna čestica obložena apolipoproteinima (LP)) ili nakon uzimanja HCV dsRNA od umirućih stanica kasnije tijekom infekcije. To prepoznavanje vodi u nishodno signaliranje, kao što je prikazano strelicama, što

rezultira indukcijom antivirusnih i imunomodulatornih gena, napose IFN $\beta$  i drugih proupalnih citokina. AP-1, protein aktivacije 1; CLDN1, kladin 1; I $\kappa$ B, I $\kappa$ B kinaza- $\epsilon$ ; LDLR, receptor lipoproteina niske gustoće; OCLN; okcludin; SR-BI, Receptor čistača razreda B; TBK-1, TANK-vezna kinaza 1; TRAF3, faktor povezan s TNF receptorom 3. GAG, glikozaminoglikani.

## **2.5 Izbjegavanje urođene antivirusne imunosti HCV-a**

Primarna akutna HCV infekcija može biti očišćena spontano i kada postoji visoka početna viremia (37), što upućuje na zaključak da zajedničkim djelovanjem brzog PRR signaliranja i indukcije urođene imunosti nakon prepoznavanja HCV PAMP-ova može omogućiti kontrolu akutne HCV infekcije. Međutim, unatoč snažnoj reakciji na strane PAMP-ove i detekcije HCV-a sa strane RIG-I, TLR3 i PKR koji aktiviraju urođeni imunosni program, više od 80% osoba s akutnom infekcijom HCV-a ne uspijeva učinkovito kontrolirati virus i razvija kroničnu infekciju (34). Ova visoka učestalost kronične infekcije odražava činjenicu da je HCV razvio nekoliko mehanizama izbjegavanja i potiskivanja urođene imunosti, što rezultira kroničnim hepatitisom (38). Virusna NS3-NS4A proteaza je središnja komponenta strategije izbjegavanja urođene imunosti od strane HCV-a. Višenamjenska NS3-NS4A proteaza potrebna je za replikaciju HCV-a, za obradbu HCV poliproteina na nekoliko mjesta kako bi se oslobodio virusni NS proteins (39). NS3- NS4A proteazni kompleks usidri se na unutarstaničnim membranama pomoću NS4A transmembranske domene i amfipatsku  $\alpha$ -uzvojnice koja olakšava povezivanje s membranom i oslobađanje supstrata (40). NS3-NS4A može blokirati RIG-I signalizaciju, budući da pored proteolitičke obrade HCV poliproteina, NS3-NS4A cijepa i MAVS na intracelularnim membranama kako bi se spriječio prijenos signala (41) (slika 4). Kako se MAVS mora pričvrstiti na membrane za uspješno nizhodno signaliranje, ovo cijepanje MAVS sprječava aktivaciju RIG-I aktivacijskog puta tijekom

akutne infekcije, onemogućava indukciju IFN i podržava progresiju infekcije u kronični oblik. Međutim, slično djeluju i drugi hepatotropni virusi, poput hepatitis A virusa (HAV) i GB virusa B (GVB-B), koji kodiraju proteaze koje također cijepaju MAVS (42). Bez obzira na taj mehanizam HAV u pravilu ne prelazi u kronična bolest. Prema tome, MAVS cijepanje je vjerojatno potrebno, ali ne i dovoljno za virusnu kroničnu infekciju.

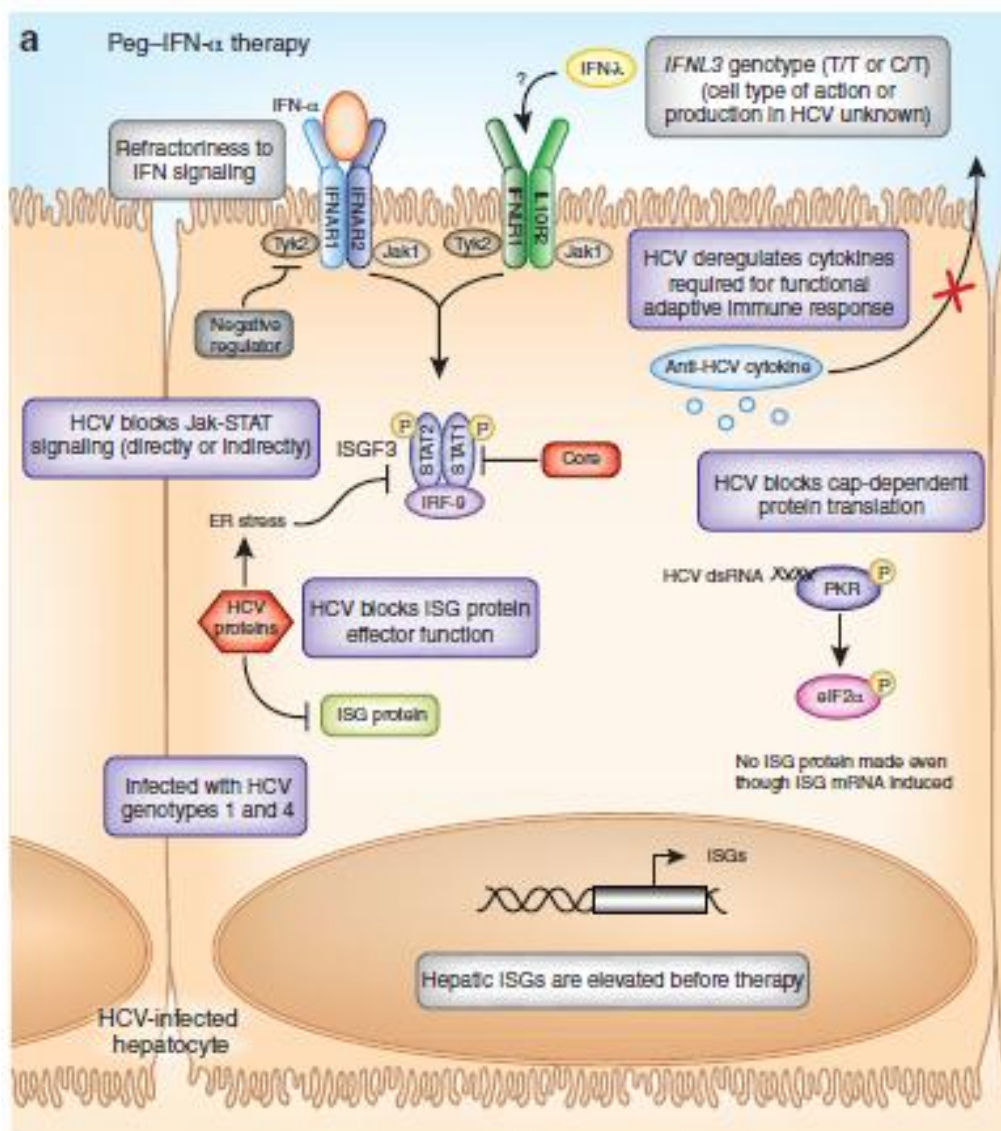


Slika 4. Izbjegavanje imunom nadzoru HCV-a kroz kontrolu indukcije IFN-a Izbjegavanje imunskog nadzora HCV-a u hepatocitima pojavljuje se u nekoliko točaka tijekom virusne infekcije.



## 2.6 Regulacija urođene imunosti može odrediti reakciju na terapiju interferonom

Terapija IFN-om je standardni oblik terapije za HCV infekciju. IFN je antivirusni citokin koji inducira ekspresiju stotina ISGs (ISG, od engl. Interferon Stimulated Gene), od kojih mnogi pokazuju antivirusne ili imunomodulatorne učinke koji obuhvaćaju replikaciju virusa i njegovo širenje te stimulaciju odgovarajućeg imunosnog odgovora na HCV infekciju (43). Najvažniji učinak ove terapije odnosi se na akutno inficirane bolesnike, budući da IFN terapija izuzetno uspješno prevenira razvoju kronične infekcije (44). Međutim, odgovor kronično inficiranih bolesnika na terapiju IFN-om je vrlo promjenjiv i mnogi bolesnici imaju snažnu HCV viremiju unatoč liječenju IFN-om. Čini se da niska učinkovitost IFN terapije u kronično inficiranih se može pripisati kombinaciji virusnih i domaćinovitih faktora koji pridonose negativnoj regulaciji djelovanja IFN-a, a time i problemima u liječenju (slika 5). Virusni faktor koji u najvećoj mjeri uvjetuje rezultat liječenja s IFN-om je virusni genotip. Postoji šest glavnih HCV genotipova koji su definirani na temelju konzerviranih sekvencijskih karakteristika, dok se na temelju varijacija u RNA sekvenciji dodatno razlikuju virusne podvrste (45). Zanimljivo je da bolesnici zaraženi s različitim HCV genotipova imaju različit terapijski odgovor. Bolesnici inficirani s HCV genotipom 2 ili 3 pokazuju najbolji odgovor na terapiju, tako da 70-80% tih bolesnika postižu trajan anti-virusni odgovor, dok samo 45 do 60% bolesnika s HCV genotipom 1 ili 4 postižu takav odgovor (46). Ovi HCV genotipovi 1 i 4 izazvaju visoke razine jetrenih ISG prije terapije, što rezultira sa IFN neosjetljivim fenotipom koji vrlo slabo reagira na tretman (47).



**b**

	Elevated pretreatment ISGs			
	HCV genotype	Hepatocyte	Macrophage	IFNL3 genotype
Responder (SVR)	2 or 3	No	Yes	C/C
Nonresponder	1 or 4	Yes	No	C/T or T/T

Slika 5. Čimbenici koji utječu na odgovor domaćina na terapiju IFN-om tijekom HCV infekcije.

U HCV inficiranom hepatocitu, brojni su faktori koji utječu na terapijsku reakciju na pegilirani IFN $\alpha$ . Ti faktori uključuju bolesnikov IFNL3 genotip, virusni genotip i aktivacijski status ISG-a jetre prije liječenja, uključujući ISG koji su negativni regulatori IFN $\alpha$  receptora (IFNAR) koje čine stanice otpornijim na djelovanje IFN-a.

## 2.7 Imunološke karakteristike čišćenja virusa hepatitisa C

Limfociti T prepoznaju antigenske peptide (epitope) predočene u okviru molekula glavnog sustava tkivne podudarnosti (MHC, od engl. Major Histocompatibility Complex) na površini antigen predočnih stanica i aktiviraju se te efektorskim mehanizmima reagiraju prema ciljnim stanicama. Čini se snažni odgovor  $CD8^+$  citotoksičnih limfocita T (CTL) i pomagačkih limfocita T  $CD4^+$  T (Th, od engl. T helper) nije dostatan za čišćenje virusa i ozdravljenje od HCV infekcije (48). Doduše HCV-specifični  $CD8^+$  CTL su u početku virusne infekcije zakočeni, no u većine bolesnika koji prevladaju akutnu infekciju te stanice se oporave te iz ovog potisnutog stanja u kojem ne luče  $IFN\gamma$  i  $TNF\alpha$ , postaju stanice koje pokreću snažan i simultani odgovor protiv više različitih virusnih antigena (49). Iako CTL mogu pokazivati antivirusno djelovanje, čak i u nedostatku Th stanica, ipak nisu u stanju držati korak s evolucijom HCV infekcije. Kao rezultat toga nedostatka, HCV se brzo akumulira koristeći mutacije u svojem genomu kojima izbjegava imunost, pa usljedi uporna, trajna viremija niske razine (50).

Kao nastavak dosadašnjih istraživanja koja su pokazala da snažni Th1 imunosni odgovor s visokim razinama  $IFN\gamma$  i interleukina 2 (IL 2, faktor rasta limfocita T) omogućava čišćenje virusa (51), nedavne studije provedene na HCV inficiranim čimpanzama pokazale su jedinstvenu funkciju  $CD4^+$  Th stanica u imunosno-posredovanom odstranjenju virusa (50). Interferoni imaju ključnu ulogu u mnogim virusnim infekcijama.  $IFN-\alpha$  i  $IFN-\beta$  (Interferoni tipa I) izlučuju gotovo sve virusom inficirane stanice, uključujući hepatocite. S druge strane, proizvodnja i lučenje  $IFN\gamma$  (Interferon tipa II) ograničeno je na stanice imunosnog sustava kao što su limfociti T, stanice prirodne ubojice (NK, od engl. Natural Killer) i makrofagi. Dugo se smatralo da su i čišćenje HCV kao i hepatitis koji se razvija posljedica izravnog ubijanja hepatocita imunosnim mehanizmima. Ovaj scenarij nastao je u posljednjih nekoliko godina te je predlagao da se najviše HCV očisti djelovanjem lokalno proizvedenog  $IFN\gamma$ , odnosno

djelovanjem necitolitičkog mehanizma (52). Zaista u *in vitro* uvjetima, IFN $\gamma$  može inhibirati sintezu HCV proteina i virusnu replikaciju neovisno o djelovanju interferona  $\alpha/\beta$  (53). Iako je ova teorija u skladu s opažanjima dobivenim na HCV inficiranim čimpanzama (54) točan mehanizam(i) odgovoran za čišćenje infekcije HCV-om u ljudi ostaje otvoren i predmetom rasprave.

U nedavno objavljenom istraživanju postavljenom sa ciljem da se raščlane izvršne funkcije virus-specifičnih CTL, primjetilo se da se primarni virus-specifični CTL klonovi mogu degranulirati (citotoksična funkcija) ili proizvoditi IFN $\gamma$  (proizvodnja citokina, regulacijska funkcija) u ovisnosti o koncentraciji antigena (55). Citotoksičnosti se može pokrenuti koncentracijama antigenskih peptida 10 do 100 puta manjim od one potrebne za proizvodnju IFN $\gamma$ . Ovi rezultati ukazuju na to da je uloga virus-specifičnih CTL efektoru u smislu citokinske i citotoksične funkcije, prvenstveno određena trenutnom i danom *in vivo* interakcijom virusa i domaćina. Da li ovo zapažanje ima kakvog utjecaja na razvoj akutne i kronične faze HCV infekcije nije poznato, no i dalje se ispituje.

Kronične HCV infekcije povezane su sa niskom zastupljenošću i smanjenim funkcijskim kapacitetom HCV-specifičnih CTL (56) za što razlozi kao ni mehanizmi ove pojave nisu u potpunosti jasni. Dendritičke stanice (DC, od engl. dendritic cells) su profesionalne stanice koje predočavaju antigen i snažni su proizvođači citokina i kemokina, koji aktiviraju i privlače limfocite T. Pokazalo se da DC u HCV-om inficiranih pojedinaca ne sazrijevaju normalno, te da im je umanjena stimulatívna aktivnost (57). Kao rezultat toga, zahvaćeni pomagački CD4<sup>+</sup> limfociti T pojačano izražavaju aktivacijski marker CD25 ( $\alpha$  lanac IL-2 receptora), dok im je smanjena proizvodnja i lučenje IL-2, a time i proliferacijski kapacitet. Trajna HCV infekcija također je povezan s visokom frekvencijom CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulacijskih limfocita T koje mogu izravno potiskivati funkciju HCV-specifičnih CTL u bolesnika. Budući da ova skupina regulacijskih limfocita T može kontrolirati težinu upalnih lezija nastalih

virusnim i imunskim djelovanjima (58), njihov značaj u odstranjenju virusa i imunopatogenezi hepatitisa C nije posve jasan.

U etiopatogenezi hepatitisa C poznato je da je razvoj kronične infekcije povezan sa promjenama u imunskom sustavu. U suprotnosti prema nekim ranijim opažanjima primjećeno je u pokusima na HCV-om inficiranim čimpanzama da mogu odstraniti virus bez detektibilne stečene imunosti, što ukazuje na značaj drugih imunskih mehanizama mimo induciranog odgovora limfocita T pri čišćenju HCV-a (59). U ljudi, primjećena je supresija citotoksičnosti stanica NK u tijeku infekcije, ali kao reverzibilna pojava u onih bolesnika koji su reagirali na terapiju sa  $IFN\alpha$ . Razlog NK supresije pronađen je u imunosubverzivnom djelovanju HCV-a kojim se potiru izvršne funkcije NK stanica križnim povezivanjem njihovih membranskih molekula CD81 (60). Pored stanica NK, zastupljenost NKT stanica, podvrste limfocita T koje izražavaju NK biljege, također je smanjena u bolesnika sa HCV-om (61). Još je manje jasna uloga protutijela u tijeku HCV infekcije. Da protutijela nemaju veću ulogu dolaze iz zapažanja da u odsutnosti detektibilnog odgovora virus-specifičnim protutijelima zaražene osobe mogu očistiti virus (62). Nadalje, neutralizacijska protutijela, koja su utvrđena u bolesnika i čimpanza sa HCV-om, često su usmjerena protiv vrlo promjenjivog virusnog proteina E2, što ih čini manje učinkovitim u neutraliziranju virusnih sojeva koji prevladavaju u zaraženim bolesnicima. Ipak, neke su studije pokazale da neutralizirajuća protutijela u bolesnicima pokazuju daleko širu reaktivnost na HCV antigene nego što se prije mislilo, te ukazale na potrebu daljnjeg istraživanja moguće primjene protutijela za pasivnu i aktivnu imunoprofilaksu protiv HCV-a (63)

## 2.8 Čimbenici koji omogućavaju održavanje virusne infekcije

Tijekom stotina tisuća godina koevolucije sa svojim domaćinima, mnogi su virusi razvili strategije "kamuflaže" ili "sabotaže" kojim izbjegavaju djelovanje imunskog sustava domaćina (64). Tako je niz istraživačkih rezultata poduprlo hipotezu da je pojava virusnih varijanti usko povezana s ishodom infekcije (65). Kao brzo replicirajući, mali RNA virus s genomom sklonom mutacijama [36], HCV može izbjeći imunskom nadzoru u ranim fazama infekcije i izbjeći odgovor limfocita T u većini inficiranih domaćina. Neke virusne varijante koje izbjegnu imunskom odgovoru mogu suzbijati CTL odgovor protiv divljeg tipa HCV (66). Zanimljivo je da akumulacija mutacija može omogućiti virusu izbjegavanje i urođene antivirusne obrane (67). Tako primjerice, HCV RNA iz relativno IFN-rezistentnih genotipova (1a i 1b) imaju manje UA i UU dinukleotida, koje inače može cijepati IFN-regulirana ribonukleaza L, nego što ih imaju genotipovi koji su osjetljivi na IFN (2a, 2b, 3a, 3b). Tako u bolesnika podvrgnutih terapiji IFN-om često se nalaze virusna varijante koje nose RNA 1b sa akumuliranim mutacijama UA i UU dinukleotida (67).

Uspostava trajne HCV infekcije ne mora uvijek biti samo posljedica genetskih varijacija virusa (68). Po svemu sudeći HCV, poput adenovirusa i herpes simplex virusa može kodirati jedan ili više proteina koji djeluju inhibicijski na antivirusne mehanizme domaćina. Pa tako nekoliko HCV proteina mogu spriječiti pokretanje lučenja ili efektorske akcije IFN-a (npr. proteini nukleoproteinske jezgre, te E2 i NS5A proteini). Pokazalo se da proteini nukleoproteinske jezgre HCV-a inhibiraju JAK-STAT put kojim IFN prenosi stanični signal (69). E2 i NS5A virusni proteini reagiraju sa IFN-om induciranom protein kinazom R, inhibirajući njenu katalitičku aktivnost i blokirajući njenu temeljnu funkciju ograničavanja sinteze proteina (70). Nadalje, primjećeno je da HCV NS3/4A serinska proteaza blokira virusnu aktivaciju IFN-regulacijskog faktora-3 (IRF-3, od engl. Interferon Regulatory Factor - 3) proteolitičkom razgradnjom jednog još uvijek nepoznatog staničnog proteina koji sudjeluje

u aktivaciji IRF-3, ključnog faktora transkripcije IFN-a tipa I. (71). S druge strane, potiranje funkcija virusne NS3/4A proteaze peptidomimetskim inhibitorom ketoamidom prekida ovu blokadu i obnovljuje IRF-3 fosforilaciju tj. njegovu funkciju.

Osim suzbijanja urođene antivirusne obrane, HCV interfira i sa drugim mehanizmima odgovora inficiranog domaćina (72) Dok su se neke istraživačke skupine fokusirale na izučavanje imunomodulatornih učinaka proteina nukleoproteinske jezgre HCV-a, druge skupine nisu mogle potvrditi ove imunosupresivne učinke (73). U jednoj detaljnoj analizi provedenoj na nekoliko čimpanza zaraženim HCV-om, Chisari i suradnici (54) utvrdili su da geni koje potiče IFN $\gamma$ , a koji su normalno uključeni u antigensku prezentaciju i ostale aspekte imunskog odgovora, bili jaki prediktori virusnog čišćenja. S druge strane, ushodna regulacija mnogih gena koje stimulira IFN $\alpha$ , što se normalno događa u HCV inficiranim čimpanzama, ima vrlo malo utjecaja na virusni titar i klinički ishod infekcije. Međutim, u *in vitro* uvjetima, pokazalo se da IFN $\alpha$  ima i antivirusne i imunomodulacijske učinke. Ovi rezultati kao i novije studije na ljudima ukazuju na značaj oba mehanizama u uspješnom čišćenju HCV-a (74).

## **2.9 Oštećenje jetre posredovano imunosnim mehanizmima u hepatitisu C**

Pored činjenice da HCV-specifični CD8<sup>+</sup> CTL migriraju u jetru i proizvode IFN $\gamma$  u tkivu, što omogućava čišćenje virusa, značajan broj CTL također može doprinijeti imunopatogenetskom oštećenju jetre (75), što ovisi o tkivnim karakteristikama u njihovom okolišu i njihovim funkcionalnim obilježjima. Normalne jetrene stanice odraslih ljudi izražavaju vrlo nisku razinu MHC molekula, dok imunosnih kostimulacijskih molekula gotovo da i nemaju, čime održavaju toleranciju na većinu antigena koji su deriviraju iz gastrointestinalnog trakta i prolaze kroz jetru, uključujući antigene hrane, patogena, i toksina (76). Međutim, tijekom HCV infekcije u bolesnika, zabilježene su visoke razine izražaja molekula MHC razreda II

kao i kostimulacijskih molekula (npr. B7 i CD40) na aktiviranim Kupfferovim stanicama i hepatocitima, a njihove su razine u uskoj korelaciji sa intenzitetom intrahepatične upale i razinama serumske aminotransferaze. Osim toga, kemokini izraženi u jetri potentni su kemoatraktanti i aktivatori leukocitnih subpopulacija.

Korištenjem MHC tetramera obilježenih virusnim peptidima, nekoliko skupina istraživača izravno je pratilo HCV-specifične CTL i pronašli da je zastupljenost virus-specifičnih CD8<sup>+</sup> CTL relativno niska u perifernoj krvi kronično inficiranih bolesnika, ali je vrlo visoka u jetri (77). Iz ovih tih studija proizašlo je jedno zanimljivo opažanje da su čišćenje virusa i progresija hepatitisa bili posredovani jednom fenotipski karakterističnom CD8<sup>+</sup> CTL populacijom. Naime, CD8<sup>+</sup> CTL koji sudjeluju u virusnom klirensu luče visoke razine IFN $\gamma$  i izražavaju niske razine aktivacijskog biljega CD38 (52). S druge strane, CTL koji posreduju oštećenje jetre obično luče male količine IFN $\gamma$  (ili su IFN $\gamma$ <sup>-</sup>), te su CD38<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> limfociti T. Kada su usporedili karakteristike intrahepatičnih i limfocita periferne krvi iz 23 bolesnika s kroničnim hepatitisom C, He i sur. utvrdili su da intrahepatični CTL ne samo izražavaju CD38, nego da i zastupljenost ovih stanice ima tendenciju rasta s rastom intenziteta upale rezultatom. Bez obzira na njihovu ulogu u infekciji ova obilježja CD8<sup>+</sup> CTL-a samo odražavaju njihov diferencijacijski i funkcijski status kao i izvor podrijetla. Jetrene  $\gamma\delta$  T limfocitne linije, izolirane iz bolesnika sa HCV-om, pokazale su visoke razine MHC-nesprengnute citotoksičnosti protiv primarne kulture hepatocita, te proizvodile veće količine IFN $\gamma$  i TNF $\alpha$  nakon aktivacije (78). Jetra u ranoj fazi kroničnog hepatitisa C sadrži više različitih tipova stanica, uključujući limfocite T, NK i NKT stanice, kao i neutrofile i makrofage. NK i NKT stanice postaju najzastupljenija populacija stanica u završnim stupnjevima jetrene bolesti u bolesnika sa HCV-om (79). Procjenjuje se da je HCV inficira samo mali udio (1% -10%) hepatocita, iako je puno više stanica ugroženo infekcijom. Naime, koristeći prijenos limfocita T, Bertolino i sur. (80) utvrdili su da antigene predočavaju stanice



podrijetlom iz koštane srži (antigen predočne stanice) i time aktiviraju CD8<sup>+</sup> CTL, koje potom lučenjem IFN $\gamma$  i TNF $\alpha$  uništavaju obližnje hepatocite koji ne nose antigen. Ova teorija o ubijanju obližnjih, nezaraženih hepatocita podržana je rezultatima studije u kojoj su CTL izolirani iz bolesnika s hepatitisom C bili kadri prepoznati mali broj stanica koje su predočavale proteine nukleoproteinske jezgre HCV-a i NS3 antigen te ubiti i te stanice kao i veći broj okolnih stanica koje nisu izražavale antigene. Čini se da je za ovo usputno (engl. bystander) ubijanje stanica odgovoran apoptotički put koji je posredovan FAS-FasL interakcijama. Ovi mehanizmi usputnog ubijanja hepatocita nisu u potpunosti poznati, no u svakom slučaju čine značajni doprinos imunopatogenetskom oštećenju jetre koje se pojavljuje u tijeku HCV infekcije.

## **2.10 Zaključne napomene**

Procjenjuje se da je preko 170 milijuna ljudi širom svijeta inficirano hepatitis C virusom, što ovu bolest čini pet puta raširenijom od infekcije s ljudskim HIV-1 virusom. Rješenje ove raširene pandemije najvjerojatnije je potrebno tražiti u razvoju učinkovitog cjepiva (81). Poznato je da snažni i održivi odgovor CD8<sup>+</sup> CTL i CD4<sup>+</sup> Th stanica vodi u povoljan ishod infekcije. Sva tri interferona ( $\alpha$ ,  $\beta$  i  $\gamma$ ) važni su za čišćenje HCV i ozdravljenje od hepatitisa, bez obzira na mehanizam odstranjenja virusa (necitolitički, citolitički, ili oba) (54). NK i NKT stanice su aktivni sudionici u tom procesu, iako im precizne uloge nisu u potpunosti poznate. Virusna potreba da imunosubverzivnim i imunoevazijskim mehanizmima osigurava bijeg od potpunog imunskog nadzora domaćina čini virus ranjivim na budući razvoj farmakoloških inhibitora koji imaju za cilj ometanje virusnog replikacijskog ciklusa. Intenzivni istraživački naponi ulažu se u želji da se identificiraju potencijalne virusne komponente važne za replikacijski ciklus (proteaza, helikaza, i polimeraza) (4). Eksperimentalni terapijski pristupi usmjereni na pokušaje bilo prevladavanja otpornosti na liječenje interferonom ili smanjenje

imunopatogeneze provedeni su u pokusima s različitim razinama uspješnosti (82). Među važnim preprekama koje otežavaju ta nastojanja je nedostatak znanja o interakcijama virusa i domaćina. Primjerice, postoji li i koja je učestalost spolnog prijenosa HCV-a ? (83) Je li virus u potpunosti iskorijenjen iz organizma nakon spontanog ozdravljenja ili liječenjem izazvanog nestanka hepatitisa C? (84) Da li HCV replicira u limfnim ili gastrointestinalnim odjeljcima i koje odjeljke koristi kao svoje rezervoare tijekom prirodne infekcije? Dok se ne odgovori na većinu ovih pitanja, liječenje i prevencija HCV-a ostati će globalni izazov.

### **3. SAŽETAK**

Iako imunski odgovor može očistiti HCV u potpunosti, izloženost virusu često progredira u kroničnu infekciju. Kronične HCV infekcije povezane su sa deregulacijom urođene i stečene imunosti, antivirusne citotoksičnosti te apoptoze u jetrenom okolišu, što zajedno utječe na ishod infekcije, na odgovor na terapiju te doprinosi razvoju jetrene fibroze i ciroze. HCV ostvaruje tu imunsku deregulaciju izbjegavanjem domaćinovo urođenoj imunosti više točaka čime sprječava učinkovitu početnu koordinaciju imunosti koja stimulira cijeli imunski odgovor, uključujući i stečenu imunost. Nedostatna funkcija imunosti dovodi do povećane replikacije virusa i doprinosi održanju infekcije. Unutar jetrenog mikrookoliša, više različitih tipova stanica doprinosi imunskom odgovoru prema HCV paoštećenje bilo kojeg aspekta urođenog odgovora od strane HCV-a može dovesti do neučinkovitog imunskog odgovora, kako u mehanizmima prirodnog čišćenja tako i tijekom odstranjivanja virusa liječenjem, koji vodi u napredovanje jetrene bolesti. Potpuno razumijevanje mehanizama kojim virusna modulacija imunskog odgovora utječe na ishod infekcije zahtijeva definiranje spektra antivirusnih i imunomodulacijskih citokina koji reguliraju suradnju između različitih vrsta stanica unutar složenog jetrenog tkiva.

Istraživanja pokušavaju objasniti pojave i ključne čimbenike potrebne za uspješnu otpornost na HCV. Razvojem personalizirane medicine, ovaznanja mogu omogućiti individualno prilagođene terapije HCV-a na temelju poznavanja reaktivnosti domaćina i virusnih genotipova. Razumijevanje

ovih detaljnih komponenti učinkovitog imunskog odgovora na HCV na razini urođene i adaptivne imunosti biti će korisno za usmjeravanje razvoja dugoročno željenog cjepiva protiv HCV.

**Ključne riječi:** hepatitis C virus, kronični hepatitis, anti-virusni imunski odgovor, virusne strategije izbjegavanja imunosti, citotoksičnost

#### 4. SUMMARY

Although the immune system can clear hepatitis C virus, infection often carries forward into a chronic phase. Chronic HCV is inducing dysregulation of adaptive and innate immune response, antiviral cytotoxicity and hepatocyte apoptosis in the liver, which together reflects to a infection outcome and therapy efficacy and probably contribute to hepatic fibrosis and cirrhosis. HCV achieves this immune system dysregulation by escaping the host immune response at different points to inhibit the initial coordination of immunity that induces the whole immune response, including adaptive, specific immunity, which enables the increase of the viral replication and contributes to establishment of chronic infection. Within the liver tissue environment, multiple immune cell types contribute to the antiviral response toward HCV. A prevention of any part of the innate immune response by HCV could result by an ineffective immunity, both in natural HCV clearance and virus clearance during the treatment, what could enable the infection to progress to a liver disease. A full understanding of how viral modulation of immune system affects HCV infection outcome will require identification of the numerous antiviral and immunomodulatory cytokines that mediate the cross-talk between the various immune and non-immune cell types within the complex hepatic tissue.

Research to continue in these discoveries and developments are focused to reveal the key factors required for successful antiviral immunity to HCV. In the ongoing age of personalized medicine, this knowledge could lead to individually made HCV therapies based on knowledge of both viral strategies and host characteristics. A detailed understanding of these components of an effective immunity to HCV at the non-specific and adaptive levels will be useful tool to guide the research development of the long-desired HCV vaccine.

**Key words:** hepatitis C virus, chronic hepatitis, anti-viral immune response, virus evasion strategies; cytotoxicity

## 5. LITERATURA

1. Alter MJ, Kruszon-Moran D, Nainan OV, et al.: The prevalence of hepatitis C virus infection in the United States, 1988 through 1994. *N Engl J Med* 1999, 341:556–562.
2. Bronowicki JP, Venard V, Bottâe C, et al.: Patient-to-patient transmission of hepatitis C virus during colonoscopy. *N Engl J Med* 1997, 337:237–240.
3. Alter MJ, Kruszon-Moran D, Nainan OV, et al.: The prevalence of hepatitis C virus infection in the United States, 1988 through 1994. *N Engl J Med* 1999, 341:556–562
4. Lamarre D, Anderson PC, Bailey M, et al.: An NS3 protease inhibitor with antiviral effects in humans infected with hepatitis C virus. *Nature* 2003, 426:186–189.
5. Choo, Q.L. et al. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science* 244, 359–362 (1989).
6. Alter, H.J. et al. Detection of antibody to hepatitis C virus in prospectively followed transfusion recipients with acute and chronic non-A, non-B hepatitis. *N. Engl. J. Med.* 321, 1494–1500 (1989).
7. Kuo, G. et al. An assay for circulating antibodies to a major etiologic virus of human non-A, non-B hepatitis. *Science* 244, 362–364 (1989).
8. Bukh, J. Animal models for the study of hepatitis C virus infection and related liver disease. *Gastroenterology* 142, 1279–1287.e3 (2012).
9. Mercer, D.F. et al. Hepatitis C virus replication in mice with chimeric human livers. *Nat. Med.* 7, 927–933 (2001).
10. Dorner, M. et al. A genetically humanized mouse model for hepatitis C virus infection. *Nature* 474, 208–211 (2011).
11. Kapoor, A. et al. Characterization of a canine homolog of hepatitis C virus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 108, 11608–11613 (2011).

12. Kapoor, A. et al. Identification of rodent homologs of hepatitis C virus and pegiviruses. *MBio* 4, e00216–e00213 (2013).
13. Quan, P.L. et al. Bats are a major natural reservoir for hepaciviruses and pegiviruses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 110, 8194–8199 (2013).
14. Gottwein, J.M. & Bukh, J. Cutting the gordian knot-development and biological relevance of hepatitis C virus cell culture systems. *Adv. Virus Res.* 71, 51–133 (2008).
15. Bartenschlager, R., Penin, F., Lohmann, V. & Andre, P. Assembly of infectious hepatitis C virus particles. *Trends Microbiol.* 19, 95–103 (2011).
16. Merz, A. et al. Biochemical and morphological properties of hepatitis C virus particles and determination of their lipidome. *J. Biol. Chem.* 286, 3018–3032 (2011).
17. Lindenbach, B.D. et al. Cell culture-grown hepatitis C virus is infectious in vivo and can be recultured in vitro. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103, 3805–3809 (2006).
18. Chang, K.S., Jiang, J., Cai, Z. & Luo, G. Human apolipoprotein E is required for infectivity and production of hepatitis C virus in cell culture. *J. Virol.* 81, 13783–13793 (2007).
19. Agnello, V., Abel, G., Elfahal, M., Knight, G.B. & Zhang, Q.X. Hepatitis C virus and other flaviviridae viruses enter cells via low density lipoprotein receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96, 12766–12771 (1999).
20. Scarselli, E. et al. The human scavenger receptor class B type I is a novel candidate receptor for the hepatitis C virus. *EMBO J.* 21, 5017–5025 (2002).
21. Pileri, P. et al. Binding of hepatitis C virus to CD81. *Science* 282, 938–941 (1998).
22. Evans, M.J. et al. Claudin-1 is a hepatitis C virus co-receptor required for a late step in entry. *Nature* 446, 801–805 (2007).
23. Zheng, A. et al. Claudin-6 and claudin-9 function as additional coreceptors for hepatitis C virus. *J. Virol.* 81, 12465–12471 (2007).

24. Ploss, A. et al. Human occludin is a hepatitis C virus entry factor required for infection of mouse cells. *Nature* 457, 882–886 (2009).
25. Lupberger, J. et al. EGFR and EPHA2 are host factors for hepatitis C virus entry and possible targets for antiviral therapy. *Nat. Med.* 17, 589–595 (2011).
26. Sainz, B. Jr. et al. Identification of the Niemann-Pick C1-like 1 cholesterol absorption receptor as a new hepatitis C virus entry factor. *Nat. Med.* 18, 281–285 (2012).
27. Tscherne, D.M. et al. Time- and temperature-dependent activation of hepatitis C virus for low-pH-triggered entry. *J. Virol.* 80, 1734–1741 (2006).
28. Timpe, J.M. et al. Hepatitis C virus cell-cell transmission in hepatoma cells in the presence of neutralizing antibodies. *Hepatology* 47, 17–24 (2008).
29. Lavanchy, D. The global burden of hepatitis C. *Liver Int.* 29 (suppl. 1), 74–81 (2009).
30. Soriano, V., Peters, M.G. & Zeuzem, S. New therapies for hepatitis C virus infection. *Clin. Infect. Dis.* 48, 313–320 (2009).
31. Suppiah, V. et al. IL28B is associated with response to chronic hepatitis C interferon- $\alpha$  and ribavirin therapy. *Nat. Genet.* 41, 1100–1104 (2009).
32. André, P., Perlemuter, G., Budkowska, A., Brechot, C. & Lotteau, V. Hepatitis C virus particles and lipoprotein metabolism. *Semin. Liver Dis.* 25, 93–104 (2005).
33. Bowen, D.G. & Walker, C.M. Adaptive immune responses in acute and chronic hepatitis C virus infection. *Nature* 436, 946–952 (2005).
34. Seeff, L.B. The history of the “natural history” of hepatitis C (1968–2009). *Liver Int.* 29 Suppl. 1, 89–99 (2009).
35. Suthar, M.S. et al. IPS-1 is essential for the control of West Nile virus infection and immunity. *PLoS Pathog.* 6, e1000757 (2010).
36. Soriano, V., Peters, M.G. & Zeuzem, S. New therapies for hepatitis C virus infection. *Clin. Infect. Dis.* 48, 313–320 (2009).

37. Liu, L., Fisher, B.E., Thomas, D.L., Cox, A.L. & Ray, S.C. Spontaneous clearance of primary acute hepatitis C virus infection correlated with high initial viral RNA level and rapid HVR1 evolution. *Hepatology* 55, 1684–1691 (2012).
38. Horner, S.M. & Gale, M. Jr. Intracellular innate immune cascades and interferon defenses that control hepatitis C virus. *J. Interferon Cytokine Res.* 29, 489–498 (2009).
39. Morikawa, K. et al. Nonstructural protein 3–4A: the Swiss army knife of hepatitis C virus. *J. Viral Hepat.* 18, 305–315 (2011).
40. Horner, S.M., Park, H.S. & Gale, M. Jr. Control of innate immune signaling and membrane targeting by the hepatitis C virus NS3/4A protease are governed by the NS3 helix a0. *J. Virol.* 86, 3112–3120 (2012).
41. 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.* 83, 1299–1311 (2009).
42. Yang, Y. et al. Disruption of innate immunity due to mitochondrial targeting of a picornaviral protease precursor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 104, 7253–7258 (2007).
43. de Veer, M.J. et al. Functional classification of interferon-stimulated genes identified using microarrays. *J. Leukoc. Biol.* 69, 912–920 (2001).
44. Jaeckel, E. et al. Treatment of acute hepatitis C with interferon alfa-2b. *N. Engl. J. Med.* 345, 1452–1457 (2001).
45. Simmonds, P. Genetic diversity and evolution of hepatitis C virus—15 years on. *J. Gen. Virol.* 85, 3173–3188 (2004).
46. Pang, P.S., Planet, P.J. & Glenn, J.S. The evolution of the major hepatitis C genotypes correlates with clinical response to interferon therapy. *PLoS ONE* 4, e6579 (2009).



47. Dill, M.T. et al. Interferon-induced gene expression is a stronger predictor of treatment response than IL28B genotype in patients with hepatitis C. *Gastroenterology* 140, 1021–1031 (2011).
48. Shoukry NH, Grakoui A, Houghton M, et al.: Memory CD8+ T cells are required for protection from persistent hepatitis C virus infection. *J Exp Med* 2003, 197:1645–1655.
49. Lechner F, Wong DK, Dunbar PR, et al.: Analysis of successful immune responses in persons infected with hepatitis C virus. *J Exp Med* 2000, 191:1499–1512.
50. Grakoui A, Shoukry NH, Woollard DJ, et al.: HCV persistence and immune evasion in the absence of memory T cell help. *Science* 2003, 302:659–662.
51. Tsai SL, Liaw YF, Chen MH, et al.: Detection of type 2-like T-helper cells in hepatitis C virus infection: implications for hepatitis C virus chronicity. *Hepatology* 1997, 25:449–458.
52. Thimme R, Bukh J, Spangenberg HC, et al.: Viral and immunological determinants of hepatitis C virus clearance, persistence, and disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002, 99:15661–15668.
53. Frese M, Schwärzle V, Barth K, et al.: Interferon-gamma inhibits replication of subgenomic and genomic hepatitis C virus RNAs. *Hepatology* 2002, 35:694–703.
54. Su AI, Pezacki JP, Wodicka L, et al.: Genomic analysis of the host response to hepatitis C virus infection. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002, 99:15669–15674.
55. Betts MR, Price DA, Brenchley JM, et al.: The functional profile of primary human antiviral CD8+ T cell effector activity is dictated by cognate peptide concentration. *J Immunol* 2004, 172:6407–6417.

56. Kantzanou M, Lucas M, Barnes E, et al.: Viral escape and T cell exhaustion in hepatitis C virus infection analysed using Class I peptide tetramers. *Immunol Lett* 2003, 85:165–171.
57. Goutagny N, Vieux C, Decullier E, et al.: Quantification and functional analysis of plasmacytoid dendritic cells in patients with chronic hepatitis C virus infection. *J Infect Dis* 2004, 189:1646–1655.
58. Suvas S, Azkur AK, Kim BS, et al.: CD4(+)CD25(+) regulatory T cells control the severity of viral immunoinflammatory lesions. *J Immunol* 2004, 172:4123–4132.
59. Thomson M, Nascimbeni M, Havert MB, et al.: The clearance of hepatitis C virus infection in chimpanzees may not necessarily correlate with the appearance of acquired immunity. *J Virol* 2003, 77:862–870.
60. Tseng CT, Klimpel GR: Binding of the hepatitis C virus envelope protein E2 to CD81 inhibits natural killer cell functions. *J Exp Med* 2002, 195:43–49.
61. Lucas M, Gadola S, Meier U, et al.: Frequency and phenotype of circulating V $\alpha$ 24/V $\beta$ 11 double-positive natural killer T cells during hepatitis C virus infection. *J Virol* 2003, 77:2251–2257.
62. Post JJ, Pan Y, Freeman AJ, et al.: Clearance of hepatitis C viremia associated with cellular immunity in the absence of seroconversion in the hepatitis C incidence and transmission in prisons study cohort. *J Infect Dis* 2004, 189:1846–1855.
63. Bartosch B, Bukh J, Meunier JC, et al.: In vitro assay for neutralizing antibody to hepatitis C virus: evidence for broadly conserved neutralization epitopes. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003, 100:14199–14204.
64. Lucas M, Karrer U, Lucas A, et al.: Viral escape mechanisms—escapology taught by viruses. *Int J Exp Pathol* 2001, 82:269–286.

65. Abbate I, Cappiello G, Lo Iacono O, et al.: Heterogeneity of HVR-1 quasispecies is predictive of early but not sustained virological response in genotype 1b-infected patients undergoing combined treatment with PEG- or STD-IFN plus RBV. *J Biol Regul Homeost Agents* 2003, 17:162–165.
66. Neumann AU, Lam NP, Dahari H, et al.: Hepatitis C viral dynamics in vivo and the antiviral efficacy of interferon-alpha therapy. *Science* 1998, 282:103–107.
67. Han JQ, Barton DJ: Activation and evasion of the antiviral 2'-5' oligoadenylate synthetase/ribonuclease L pathway by hepatitis C virus mRNA. *RNA* 2002, 8:512–525.
68. Gruener NH, Lechner F, Jung MC, et al.: Sustained dysfunction of antiviral CD8+ T lymphocytes after infection with hepatitis C virus. *J Virol* 2001, 75:5550–5558.
69. Blindenbacher A, Duong FH, Hunziker L, et al.: Expression of hepatitis c virus proteins inhibits interferon alpha signaling in the liver of transgenic mice. *Gastroenterology* 2003, 124:1465–1475.
70. Taylor DR, Shi ST, Romano PR, et al.: Inhibition of the interferon-inducible protein kinase PKR by HCV E2 protein. *Science* 1999, 285:107–110.
71. Foy E, Li K, Wang CF, et al.: Regulation of interferon regulatory factor-3 by the hepatitis C virus serine protease. *Science* 2003, 300:1145–1148.
72. Lucas M, Vargas-Cuero AL, Lauer GM, et al.: Pervasive influence of hepatitis C virus on the phenotype of antiviral CD8+ T cells. *J Immunol* 2004, 172:1744–1753.
73. Liu ZX, Nishida H, He JW, et al.: Hepatitis C virus genotype 1b core protein does not exert immunomodulatory effects on virus-induced cellular immunity. *J Virol* 2002, 76:990–997.

74. Hultgren C, Desombere I, Leroux-Roels G, et al.: Evidence for a relation between the viral load and genotype and hepatitis C virus-specific T cell responses. *J Hepatol* 2004, 40:971–978.
75. Ando K, Guidotti LG, Wirth S, et al.: Class I-restricted cytotoxic T lymphocytes are directly cytopathic for their target cells in vivo. *J Immunol* 1994, 152:3245–3253.
76. Sun JR, Stalls MA, Thompson KL, et al.: Cell cycle block in anergic T cells during tolerance induction. *Cell Immunol* 2003, 225:33–41.
77. He XS, Rehermann B, Lopez-Labrador FX, et al.: Quantitative analysis of hepatitis C virus-specific CD8(+) T cells in peripheral blood and liver using peptide-MHC tetramers. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999, 96:5692–5697.
78. Tseng CT, Miskovsky E, Houghton M, et al.: Characterization of liver T-cell receptor gamma delta T cells obtained from individuals chronically infected with hepatitis C virus (HCV): evidence for these T cells playing a role in the liver pathology associated with HCV infections. *Hepatology* 2001, 33:1312–1320.
79. Boisvert J, Kunkel EJ, Campbell JJ, et al.: Liver-infiltrating lymphocytes in endstage hepatitis virus: subsets, activation status, and chemokine receptorphenotypes. *J Hepatol* 2003, 38:67–75.
80. Bowen DG, Warren A, Davis T, et al.: Cytokine-dependent bystander hepatitis due to intrahepatic murine CD8 T-cell activation by bone marrow-derived cells. *Gastroenterology* 2002, 123:1252–1264.
81. Lanford RE, Guerra B, Chavez D, et al.: Cross-genotype immunity to hepatitis C virus. *J Virol* 2004, 78:1575–1581.
82. Inoue K, Sekiyama K, Yamada M, et al.: Combined interferon alpha2b and cyclosporin A in the treatment of chronic hepatitis C: controlled trial. *J Gastroenterol* 2003, 38:567–572.

83. Lai KW, Young KC, Cheng PN, et al.: Interspousal transmission of hepatitis C virus: application of comparing the variability of HVR1 nucleotide region. *Hepatology* 2004, 51:791–795.
84. Pham TN, MacParland SA, Mulrooney PM, et al.: Hepatitis C virus persistence after spontaneous or treatment-induced resolution of hepatitis C. *J Virol* 2004, 78:5867–5874.

## **6. ŽIVOTOPIS**

Jurica Vidović rođen je 09.11.1990. godine u Čakovcu gdje završava osnovnoškolsko obrazovanje te 2005. godine upisuje Gimnaziju Josipa Slavenskog u Čakovcu. Nakon završetka srednjoškolskog obrazovanja 2009. godine upisuje Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci. Uz redovnu nastavu aktivno je sudjelovao u radu udruge FOSS MedRi te je obnašao dužnost predstavnika studenata u studentskom zboru te u Fakultetskom vijeću Medicinskog fakulteta.