

# HCV MİKROBİYOLOJİ PATOGENEZ

E. Ediz Tütüncü  
KLİMİK Hepatit Akademisi  
26 Ocak 2013, Lefkoşa

# Sunum planı

- ▣ Mikrobiyoloji
- ▣ Patogenez

# Sunum planı

- Mikrobiyoloji Virion özellikleri
  - Genom organizasyonu
  - Poliproteininin işlenmesi
  - Replikasyon
  - Genetik çeşitlilik
- Patogenez
  - Doğal seyir
  - Bağışık yanıt
  - Patoloji

# HCV

- ▣ Hepatit A ve hepatit B için serolojik testlerin geliştirildiği 1970'lerde, transfüzyon ilişkili hepatitlerin önemli bir kısmına bir başka etkenin yol açtığı fark edilmiş ve non-A non-B (NANB) hepatit terimi kullanılmaya başlanmıştır.

## **Seroepidemiological Studies of Transfusion-associated Hepatitis**

AKIRA TATEDA,\* KANEO KIKUCHI,\* RYOICHI SHIRACHI, TAKUSEI UMENAI and NAKAO ISHIDA

*Surgical Department of National Sendai Hospital\* and Department of Bacteriology, Tohoku University School of Medicine, Sendai*

Avustralya antijeni negatif kan  
transfüzyonu sonrasında 8 hastada  
gelişen hepatit tablosu...



Full Text (PDF)

**Non-B Hepatitis in Japanese Recipients of Blood Transfusions: Clinical and Serologic Studies after the Introduction of Laboratory Screening of Donor Blood for Hepatitis B Surface Antigen**

*J Infect Dis.* (1979) 139(5): 511-518

1082 Japon hastada transfüzyon sonrası hepatit, donör kanlarında HBsAg taramaya başlandıktan sonra

“hepatit tip B” %0.9,

“non-A non-B hepatit” %10.7

transfüzyon sonrası NANB hepatit olgularında inkübasyon ortalama 15 hafta

# THE LANCET

Volume 312, Issue 8095, 21 October 1978, Pages 853–856

Originally published as Volume 2, Issue 8095



## HEPATITIS "C" ANTIGEN IN NON-A, NON-B POST-TRANSFUSION HEPATITIS

Ryoichi Shirachi<sup>a, b, c</sup>, Akira Tateda<sup>a, b, c</sup>, Hiroyuki Shiraishi<sup>a, b, c</sup>, Kaneo Kikuchi<sup>a, b, c</sup>, Nakao Ishida<sup>a, b, c</sup>

<sup>a</sup> Department of Microbiology, Miyagi Prefectural Institute of Public Health, Sendai, Japan

<sup>b</sup> Surgical Clinic of National Sendai Hospital, United Kingdom

<sup>c</sup> Department of Bacteriology, Tohoku University School of Medicine, Sendai, Japan

NANB hepatiti olan hastaların serumunda yeni bir  
“hepatit spesifik antijen” tanımlanıyor  
“hepatit C antijeni” terimi öneriliyor.

# Isolation of a cDNA Clone Derived from a Blood-Borne Non-A, Non-B Viral Hepatitis Genome

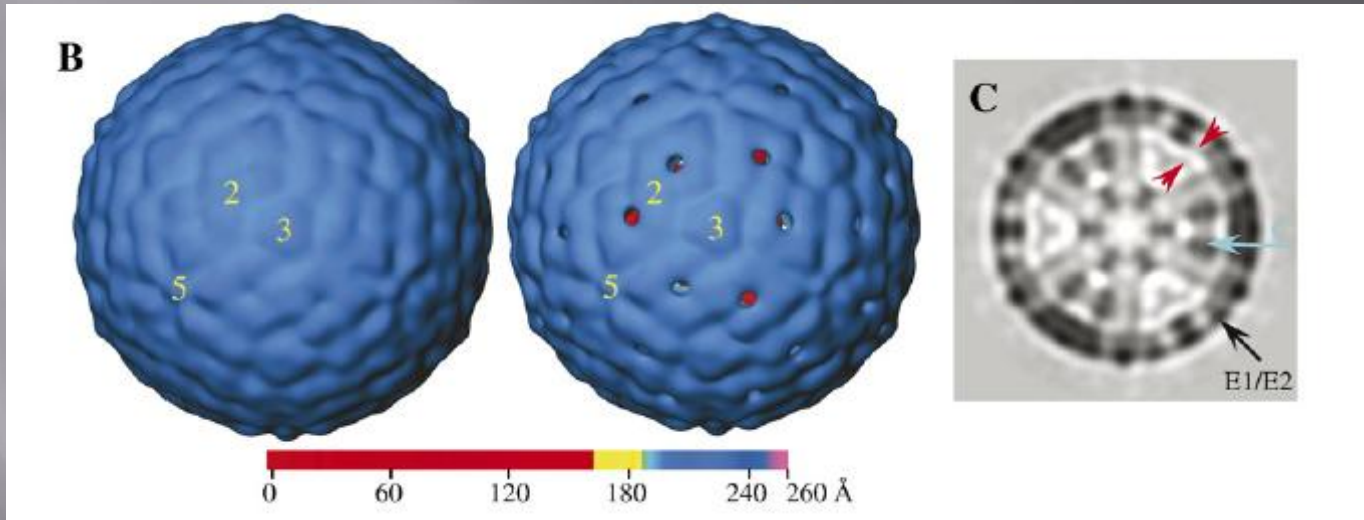
QUI-LIM CHOO, GEORGE KUO, AMY J. WEINER, LACY R. OVERBY,  
DANIEL W. BRADLEY, MICHAEL HOUGHTON

A random-primed complementary DNA library was constructed from plasma containing the uncharacterized non-A, non-B hepatitis (NANBH) agent and screened with serum from a patient diagnosed with NANBH. A complementary DNA clone was isolated that was shown to encode an antigen associated specifically with NANBH infections. This clone is not derived from host DNA but from an RNA molecule present in NANBH infections that consists of at least 10,000 nucleotides and that is positive-stranded with respect to the encoded NANBH antigen. These data indicate that this clone is derived from the genome of the NANBH agent and are consistent with the agent being similar to the togaviridae or flaviviridae. This molecular approach should be of great value in the isolation and characterization of other unidentified infectious agents.

Viral genomun klonlanması...



# Virion özellikleri ve sınıflandırma



HCV yaklaşık 55 nm çapında sferik, zarflı, pozitif iplikçikli bir RNA virüsüdür

# Flaviviridae ailesi

- ▣ Flavivirus cinsi

Sarı humma virusu, Dengue virusu, Japon ensefalit virusu, Batı Nil virusu, Tick borne ensefalit, Kyasanur orman hastalığı, Murray vadisi ensefaliti, St Louis ensefaliti virusları

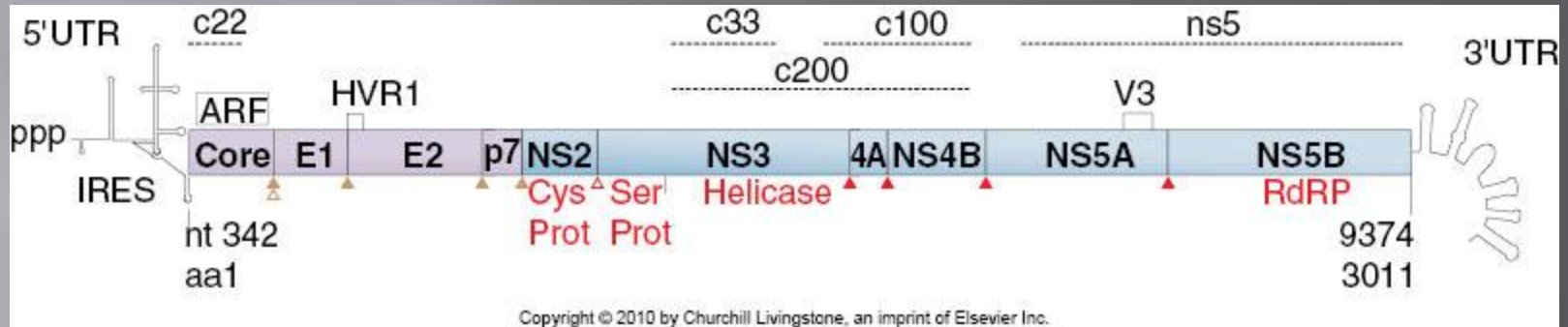
- ▣ Hepacivirus

HCV

- ▣ Pestivirus

Bovin viral diare virusu

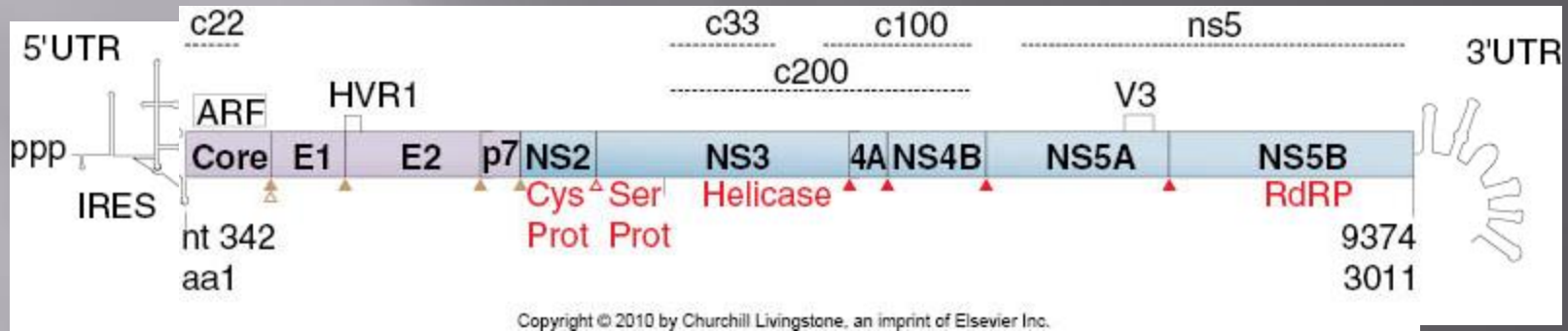
# HCV genom organizasyonu



HCV genomu yaklaşık 9.6 kb uzunluğunda pozitif polariteli, tek iplikçikli RNA molekülüdür

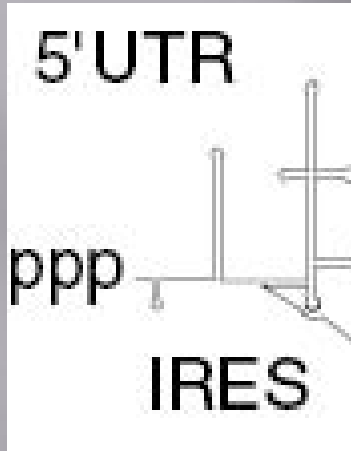
Büyük bir açık okuma çerçevesi (ORF), yaklaşık 3010 aminoasitten oluşan tek bir büyük poliproteini kodlar.

# HCV genom organizasyonu



Büyük ORF'nin, her iki ucunda (5' ve 3') iyi korunmuş, translasyon olmayan bölgeler (UTR) vardır. Bu bölgeler translasyon ve RNA replikasyonunda görev alırlar

# 5' UTR



Yaklaşık 341 nükleotid uzunluğunda  
Üst üste binen iki ayrı fonksiyonel bölgesi vardır

## Sequences in the 5' Nontranslated Region of Hepatitis C Virus Required for RNA Replication

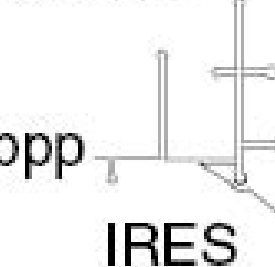
PETER FRIEBE, VOLKER LOHMANN, NICOLE KRIEGER, AND RALF BARTENSCHLAGER\*

*Institute for Virology, Johannes-Gutenberg University Mainz, 55131 Mainz, Germany*

Received 3 May 2001/Accepted 18 September 2001

Sequences in the 5' and 3' termini of plus-strand RNA viruses harbor *cis*-acting elements important for efficient translation and replication. In case of the hepatitis C virus (HCV), a plus-strand RNA virus of the family *Flaviviridae*, a 341-nucleotide-long nontranslated region (NTR) is located at the 5' end of the genome. This sequence contains an internal ribosome entry site (IRES) that is located downstream of an about 40-nucleotide-long sequence of unknown function. By using our recently developed HCV replicon system, we mapped and characterized the sequences in the 5' NTR required for RNA replication. We show that deletions introduced into the 5' terminal 40 nucleotides abolished RNA replication but only moderately affected translation. By generating a series of replicons with HCV-poliovirus (PV) chimeric 5' NTRs, we could show that the first 125 nucleotides of the HCV genome are essential and sufficient for RNA replication. However, the efficiency could be tremendously increased upon the addition of the complete HCV 5' NTR. These data show that (i) sequences upstream of the HCV IRES are essential for RNA replication, (ii) the first 125 nucleotides of the HCV 5' NTR are sufficient for RNA replication, but such replicon molecules are severely impaired for multiplication, and (iii) high-level HCV replication requires sequences located within the IRES. These data provide the first identification of signals in the 5' NTR of HCV RNA essential for replication of this virus.

5'UTR



Birinci bölge 125 nükleotid uzunluğundadır ve viral replikasyon için gereklidir. Muhtemelen RNA'nın viral replikaz tarafından tanınmasını sağlar.

# The Pathway of HCV IRES-Mediated Translation Initiation

Geoff A. Otto<sup>1</sup> and Joseph D. Puglisi<sup>2,\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Microbiology and Immunology

<sup>2</sup>Department of Structural Biology

Stanford University School of Medicine

Stanford, California 94305

IRES initiation demonstrated that the IRES assembles on purified 40S subunits devoid of initiation factors (Pestova et al., 1998). The IRES-40S binary complex forms near the AUG codon; addition of only eIF3 and ternary complex docks the AUG in the ribosomal start site and yields a 48S-like (48S\*) complex without eIF4F during

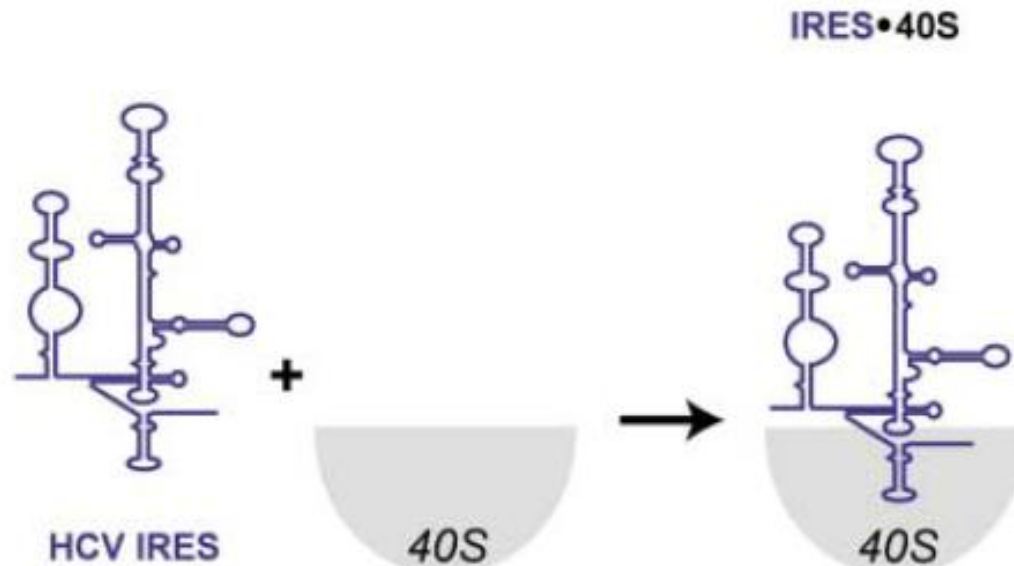
5'UTR

ppp

IRES

İlk segmentin üstüne binen 300 nükleotidlik ikinci segment “internal ribozomal entry site (IRES)” olarak davranır ve viral ORF’nin translasyonunu başlatır

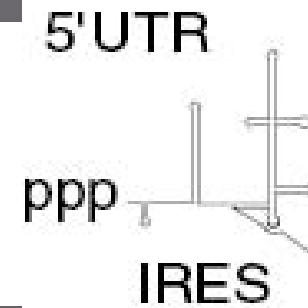
## The Pathway of HCV IRES-Mediated Translation Initiation



HCV IRES herhangi bir translasyon başlatıcı faktöre gerek duymaksızın, doğrudan 40S ribozomal subunite bağlanma yeteneğindedir



## The Pathway of HCV IRES-Mediated Translation Initiation



5' UTR RNA ile 40S subunit kompleksi, HCV translasyon başlatıcı kodon ile ilişkiye geçer.

Sonuç olarak, HCV, proteinlerinin translasyonunu kendine özgü bir mekanizma ile başlatır ve bu gelecekte antiviral ilaçlar için bir hedef olabilir.

## 3' RNA Elements in Hepatitis C Virus Replication: Kissing Partners and Long Poly(U)<sup>▽</sup>

Shihyun You and Charles M. Rice\*

*Center for the Study of Hepatitis C, Laboratory of Virology and Infectious Disease, The Rockefeller University,  
1230 York Avenue, New York, New York 10065*

Received 15 August 2007/Accepted 7 October 2007

The hepatitis C virus (HCV) genomic RNA possesses conserved structural elements that are essential for its replication. The 3' nontranslated region (NTR) contains several of these elements: a variable region, the poly(U/UC) tract, and a highly conserved 3' X tail, consisting of stem-loop 1 (SL1), SL2, and SL3. Studies of drug-selected, cell culture-adapted subgenomic replicons have indicated that an RNA element within the NS5B coding region, 5BSL3.2, forms a functional kissing-loop tertiary structure with part of the 3' NTR, 3' SL2. Recent advances now allow the efficient propagation of unadapted HCV genomes in the context of a complete infectious life cycle (HCV cell culture [HCVcc]). Using this system, we determine that the kissing-loop interaction between 5BSL3.2 and 3' SL2 is required for replication in the genotype 2a HCVcc context. Remarkably, the overall integrity of the 5BSL3 cruciform is not an absolute requirement for the kissing-loop interaction, suggesting a model in which *trans*-acting factor(s) that stabilize this interaction may interact

3'UTR

3' UTR ucu, terminasyon kodonundan sonra gelen kısmen değişken 30-60 nükleotidlik bir segment ile bunu izleyen oldukça değişken 50-100 nükleotidlik polyU/UC segmenti,

# Kissing-Loop Interaction in the 3' End of the Hepatitis C Virus Genome Essential for RNA Replication

Peter Friebe,<sup>1</sup> Julien Boudet,<sup>2</sup> Jean-Pierre Simorre,<sup>2</sup> and Ralf Bartenschlager<sup>1\*</sup>

*Department of Molecular Virology, University of Heidelberg, Heidelberg, Germany,<sup>1</sup> and Institut de Biologie Structurale Jean-Pierre Ebel, Grenoble, France<sup>2</sup>*

Received 7 June 2004/Accepted 9 August 2004

The hepatitis C virus (HCV) is a positive-strand RNA virus belonging to the *Flaviviridae*. Its genome carries at either end highly conserved nontranslated regions (NTRs) containing *cis*-acting RNA elements that are crucial for replication. In this study, we identified a novel RNA element within the NS5B coding sequence that is indispensable for replication. By using secondary structure prediction and nuclear magnetic resonance spectroscopy, we found that this RNA element, designated 5BSL3.2 by analogy to a recent report (S. You, D. D.

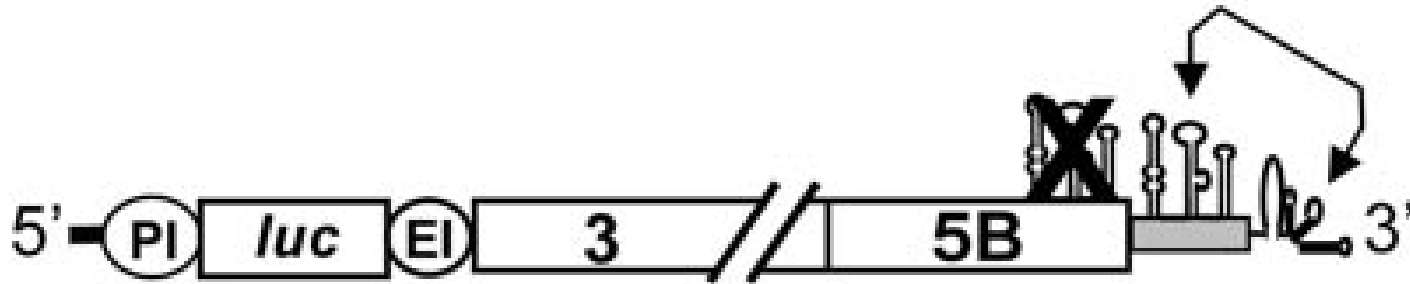
PolyU/UC segmentinin sonunda ise iyi korunmuş 98 baz sekansı (3'-X bölgesi) vardır. 3' terminalindeki 98 baz sekansı HCV genomundaki en iyi korunmuş segmenttir.

# Kissing-Loop Interaction in the 3' End of the Hepatitis C Virus Genome Essential for RNA Replication

Peter Friebe,<sup>1</sup> Julien Boudet,<sup>2</sup> Jean-Pierre Simorre,<sup>2</sup> and Ralf Bartenschlager<sup>1\*</sup>

*Department of Molecular Virology, University of Heidelberg, Heidelberg, Germany,<sup>1</sup> and Institut de Biologie Structurale Jean-Pierre Ebel, Grenoble, France<sup>2</sup>*

Received 7 June 2004/Accepted 9 August 2004



İn vitro çalışmalar ile 3'-X bölgesi ile NS5B'yi kodlayan bölge arasındaki ilişkinin viral RNA replikasyonu için kesinlikle gerekli olduğu gösterilmiştir.

# **Innate immunity induced by composition-dependent RIG-I recognition of Hepatitis C virus RNA**

**Takeshi Saito<sup>1</sup>, David M. Owen<sup>1,2</sup>, Fuguo Jiang<sup>3</sup>, Joseph Marcotrigiano<sup>3</sup>, and Michael Gale Jr.<sup>1,\*</sup>**

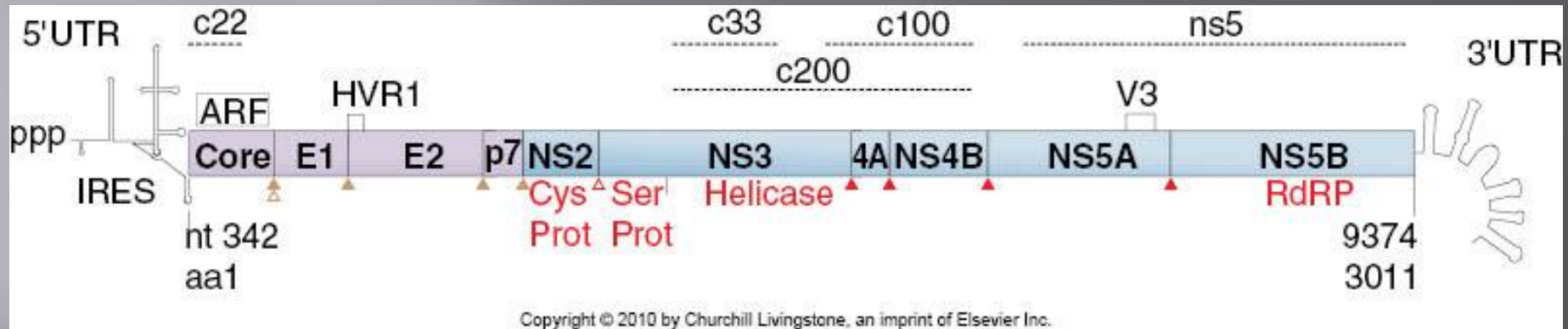
<sup>1</sup>University of Washington School of Medicine, Department of Immunology Seattle, WA 98195-7650

<sup>2</sup>Department of Microbiology, UT Southwestern Medical Center, Dallas, TX 75235-9048

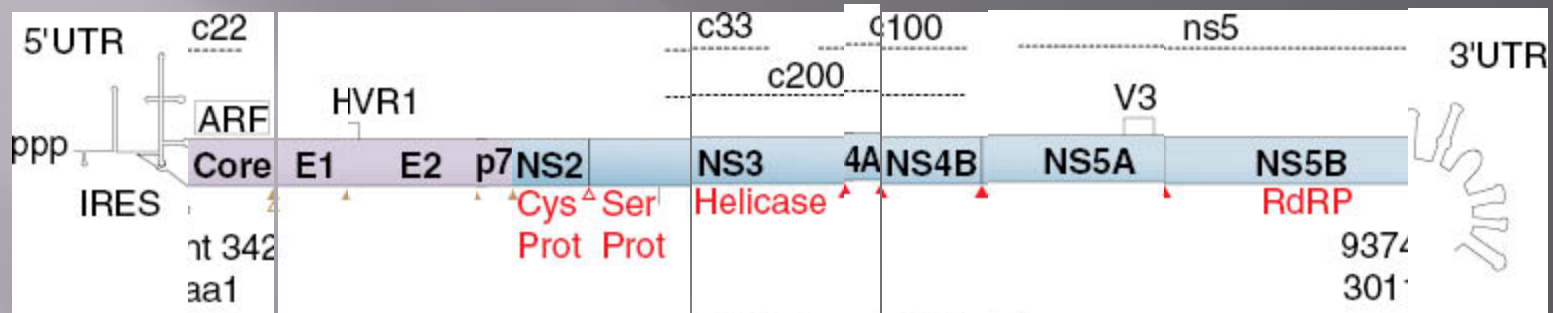
<sup>3</sup>Department of Chemistry and Chemical Biology, Rutgers University, Piscataway, NJ 08854, USA

PolyU/UC segmentinin HCV'nin temel "patojen ilişkili moleküler yapı (PAMP)"sı olduğu gösterilmiştir. Bu yapı, "insan sitoplazmik yapı tanıma reseptörü (PRR)" RIG-1 tarafından tanınır.

# Poliprotein



9.0 kb ORF, translasyonla eşzamanlı yürüyen bir işlemle “en az” 10 proteine ayrılan büyük bir poliprotein kodlar.



3 “yapısal” protein

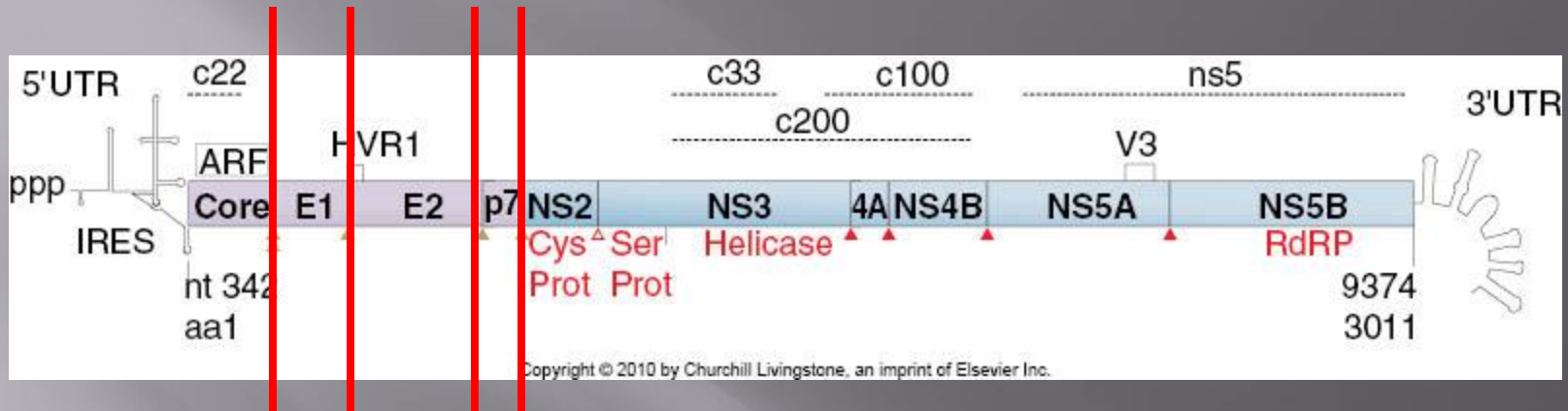
nükleokapsid proteini, core (C)

iki zarf proteini E1 ve E2

viral RNA replikasyonu için elzem olmayan  
ancak virion üretimi için gerekli olan iki protein  
p7 ve NS2

5 “yapısal olmayan”, viral RNA replikaz  
kompleksini oluşturan protein

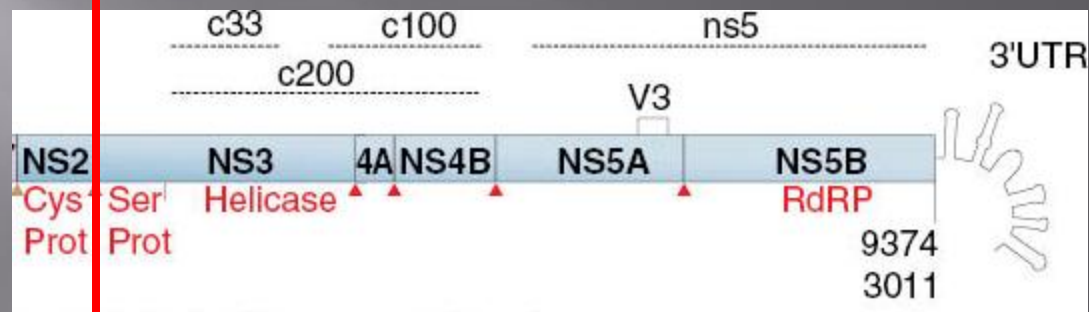
NS3, NS4A, NS4B, NS5A, NS5B



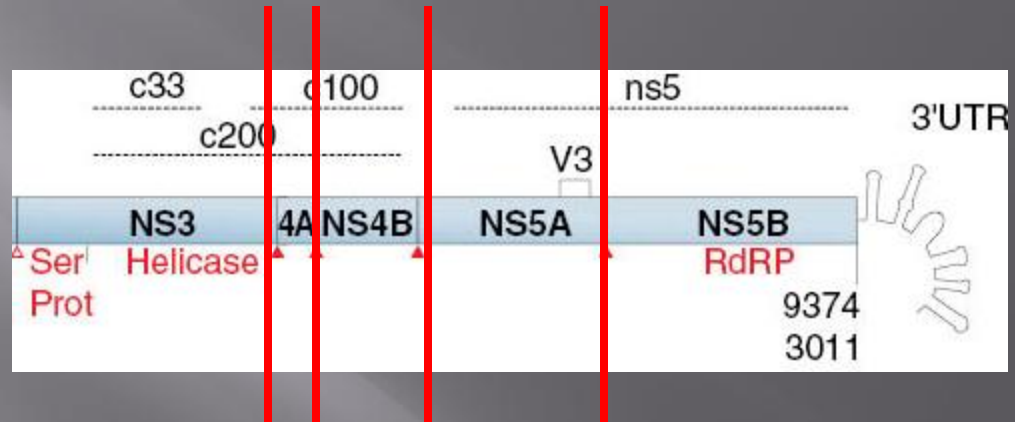
Poliprotein'in işlenmesi hem hücresel hem de viral proteazlarla gerçekleşir. Poliproteindeki 4 farklı sinyal sekansı proteinin ER'a translokasyonunu sağlar.

Sinyal peptidaz, poliproteini C/E1, E1/E2, E2/p7 ve p7/NS2 bileşenlerinden keser.





Oluşan NS2/NS3 proteini bir sistein proteazdır ve NS2/NS3 bileşkesini keser.



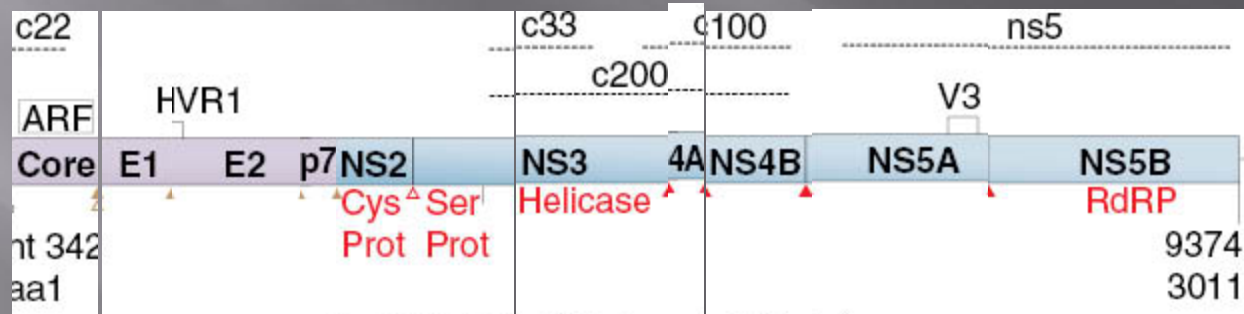
NS3 proteininde ise diğer yapısal olmayan proteinleri ayıran serin proteaz aktivitesi vardır.

NS3 proteaz aktivitesinin ekspresyonu NS4A proteini ile bir kompleks oluşumunu gerektirir

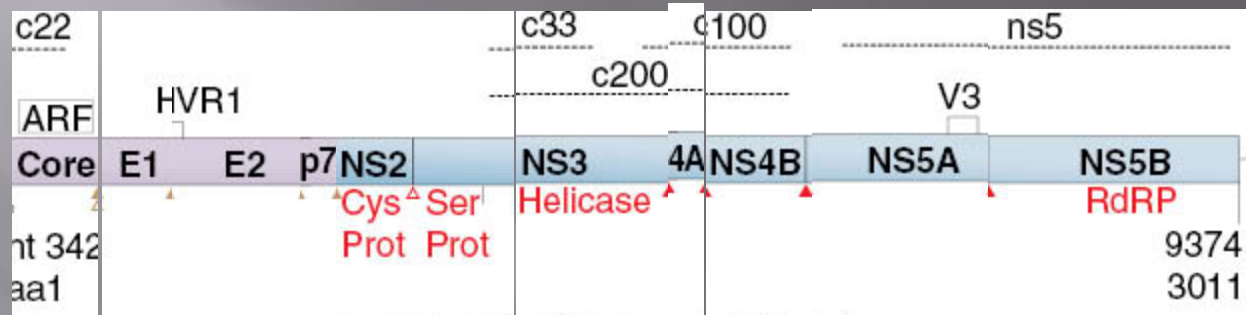
# Expression and Identification of Hepatitis C Virus Polyprotein Cleavage Products

ARASH GRAKOU<sup>1</sup>, CZESLAW WYCHOWSKI<sup>2†</sup>, CHAO LIN<sup>1</sup>, STEPHEN M. FEINSTONE<sup>2</sup>,  
 AND CHARLES M. RICE<sup>1\*</sup>

*Department of Molecular Microbiology, Washington University School of Medicine, Box 8230, 660 South Euclid Avenue, St. Louis, Missouri 63110-1093,<sup>1</sup> and Division of Virology, CBER, Food and Drug Administration, Bethesda, Maryland 20892<sup>2</sup>*



# Yapısal proteinler / C



HCV poliproteininin amino terminalindeki 191 aa uzunluğundaki segmenti, yeni oluşan poliproteinden sinyal peptidaz aktivitesi ile ayrılır ve RNA bağlama aktivitesine sahip nükleokapsid proteini oluşur.

# Yapısal proteinler / C

ARF

Core

Bunun ardından, endoplasmik retikulum membranında sinyal peptid peptidaz aktivitesi ile matur nükleokapsid proteini 171 aa uzunluğa indirilir ve hücre sitoplazmasına salınır.

Nükleokapsid proteini immünojeniktir ve infekte bireylerin serumlarında hem nükleokapsid proteini hem de buna karşı antikorlar saptanabilir.

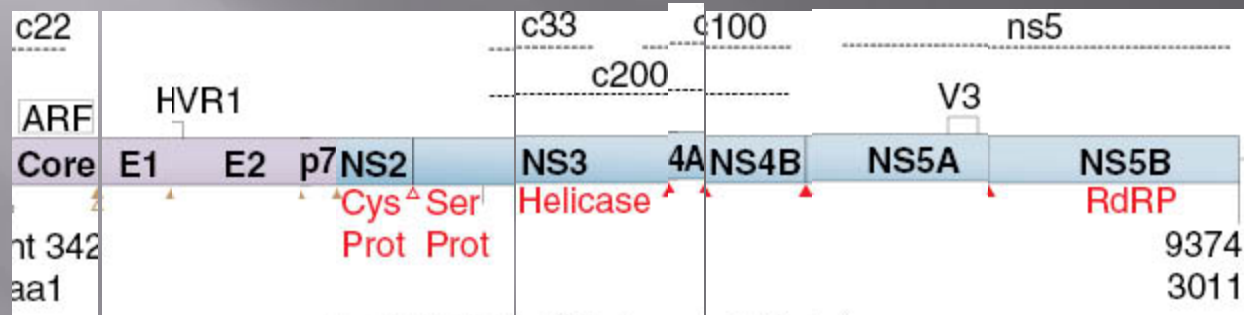
# Yapısal proteinler / C

- ▣ Nükleokapsid proteini ile ilişkili biyolojik aktiviteler arasında,
  - HBV replikasyonunun supresyonu,
  - Hücre döngüsü regülasyonunda değişiklikler,
  - Hücresel proto-onkogenlerin transkripsiyonu,
  - Apoptosisin supresyonu / indüksiyonu,
  - Fare embriyo fibroblastlarının transformasyonu

# Yapısal proteinler / C

- ▣ Nükleokapsid proteininin HCV'ye karşı gelişen immün yanıtı da etkilediği,  
MHC sınıf I ekspresyonunu arttırarak NK hücre inhibisyonuna yol açtığı,  
T hücre proliferasyonunu inhibe ettiği,  
TNF reseptör ailesine ait hücresel reseptörler ile etkileştiği

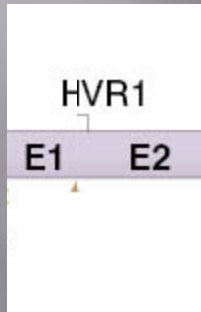
# Yapısal proteinler E1 ve E2



HCV poliproteininin sinyal peptidaz aktivitesi ile 383 ve 746. aminoasit residülerinden kesilmesi ile E1 ve E2 proteinleri oluşur.



# Yapısal proteinler E1 ve E2



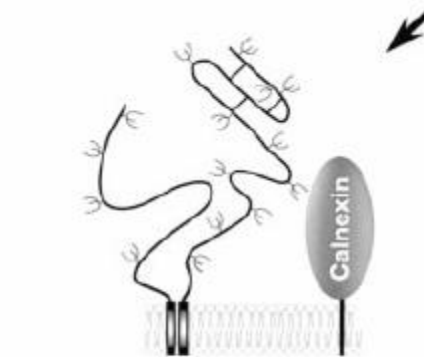
Bu proteinler ER'a sekrete edilir ve “tip 1 membran proteinleri” olarak, hidrofobik C terminal aracılığıyla, membrana bağlı kalırlar.

E1 ve E2 proteinleri yoğun biçimde glikozile, tüm kütlesinin yaklaşık %50'si şeker yapısında olan proteinlerdir.

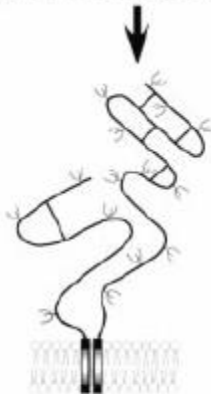
## Biogenesis of hepatitis C virus envelope glycoproteins

Anne Op De Beeck, Laurence Cocquerel and Jean Dubuisson

Equipe Hépatite C, CNRS-FRE2369, IBL/Institut Pasteur de Lille, 1 rue Calmette, BP 447, 59021 Lille cedex, France



**folding of E1 helped by E2**



**noncovalent heterodimer  
(T 1/2 of assembly  $\approx$  120 min)**

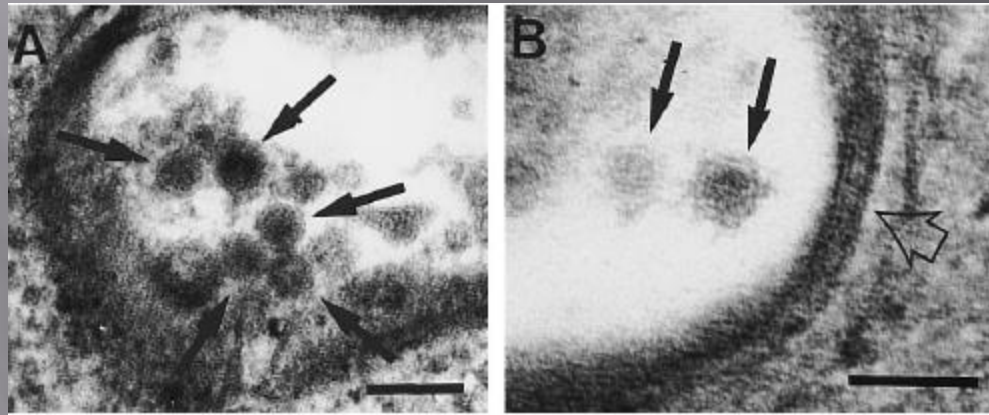
İki major zarf proteini  
nonkovalent heterodimerik  
kompleks biçiminde  
ilişkidir

# Yapısal proteinler E1 ve E2

- ▣ Flavivirus cinsinin diğer üyelerinde tek bir major zarf proteini ve nötralizan antikor yanıtına yol açan, hücre ilişkili, glikozile NS-1 proteini olmasına karşın, HCV iki major zarf proteinine sahiptir (E1 ve E2) ve NS-1 proteini yoktur.

# Hepatitis C Virus: Detection of Intracellular Virus Particles by Electron Microscopy

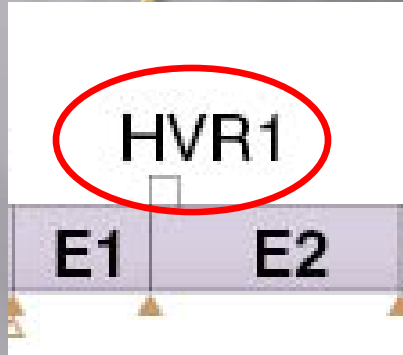
YOHKO K. SHIMIZU,<sup>1</sup> STEPHEN M. FEINSTONE,<sup>2</sup> MICHINORI KOHARA,<sup>3</sup> ROBERT H. PURCELL,<sup>4</sup>  
AND HIROSHI YOSHIKURA<sup>1</sup>



HCV hücre kültürlerinde E1 ve E2, ER kompartmanındadır.

Bu durum, diğer Flavivirus ailesi üyelerinde olduğu gibi, HCV partiküllerinin intrasitoplazmik veziküllerde bir araya geldiğini ve sekretuar yolla salındığını düşündürmektedir.

# Yapısal proteinler E1 ve E2



E2 proteininin amino terminaline yakın ucunda yaklaşık 30 aa residüsünden oluşan oldukça değişken bir bölge vardır (hypervariable region 1 HVR-1)

Bu bölge zarf proteinlerinin genetik olarak en değişken bölgesidir ve virionun yüzeyinde polipeptid bir loop biçiminde bulunduğu düşünülmektedir.

## Humoral Immune Response to Hypervariable Region 1 of the Putative Envelope Glycoprotein (gp70) of Hepatitis C Virus

NOBUYUKI KATO,<sup>1</sup> HITOMI SEKIYA,<sup>1</sup> YUKO OOTSUYAMA,<sup>1</sup> TAKAHIDE NAKAZAWA,<sup>1</sup>  
MAKOTO HIJIKATA,<sup>1</sup> SHOWGO OHKOSHI,<sup>2</sup> AND KUNITADA SHIMOTOHNO<sup>1\*</sup>

*Virology Division, National Cancer Center Research Institute, 5-1-1, Tsukiji, Chuo-ku, Tokyo 104,<sup>1</sup>  
and Third Department of Internal Medicine, School of Medicine, Niigata University,  
1-757 Asahimachi, Niigata City 951,<sup>2</sup> Japan*

HVR-1 üzerinde bir ya da daha fazla sayıda nötralizasyon epitopu vardır ve bu bölge akut ve kronik infeksiyonlarda immün yanıtta kaçışı sağlayan mutasyonların olduğu bölgedir.

## Acute Hepatitis C Virus Structural Gene Sequences as Predictors of Persistent Viremia: Hypervariable Region 1 as a Decoy

STUART C. RAY,<sup>1</sup> YU-MING WANG,<sup>2</sup> OLIVER LAEYENDECKER,<sup>1</sup> JOHN R. TICEHURST,<sup>3,4</sup>  
STEPHEN A. VILLANO,<sup>1</sup> AND DAVID L. THOMAS<sup>1\*</sup>

*Departments of Medicine<sup>1</sup> and Pathology,<sup>3</sup> Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, and Center for Devices and Radiological Health, U.S. Food and Drug Administration, Rockville,<sup>4</sup> Maryland, and Department of Infectious Diseases, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, Peoples' Republic of China<sup>2</sup>*

HVR-1 bölgesinin infeksiyon sırasında immünolojik bir “yanlış hedef” fonksiyonu gördüğü, zarf içindeki korunmuş yapıları maskeleyiği/ sakladığı düşünülmektedir.

## Genetic Drift in Hypervariable Region 1 of the Viral Genome in Persistent Hepatitis C Virus Infection†

NOBUYUKI KATO,<sup>1</sup> YUKO OOTSUYAMA,<sup>1</sup> HITOMI SEKIYA,<sup>1,‡</sup> SHOWGO OHKOSHI,<sup>2</sup>  
TAKAHIDE NAKAZAWA,<sup>1</sup> MAKOTO HIJIKATA,<sup>1</sup> AND KUNITADA SHIMOTOHNO<sup>1\*</sup>

*Virology Division, National Cancer Center Research Institute, 5-1-1 Tsukiji, Chuo-ku, Tokyo 104,<sup>1</sup> and  
Third Department of Internal Medicine, School of Medicine, Niigata University,  
1-757 Asahimachi, Niigata-city 951,<sup>2</sup> Japan*

İnfekte bireylerde, o bireydeki virüsün HVR-1 sekanslarına karşı antikorlar saptanabilir.

Bu antikorların varlığının quasispecies oluşumuna etki etmesi, HVR-1 sekansı daha az reaktif olan varyantların seçilmesi söz konusudur.



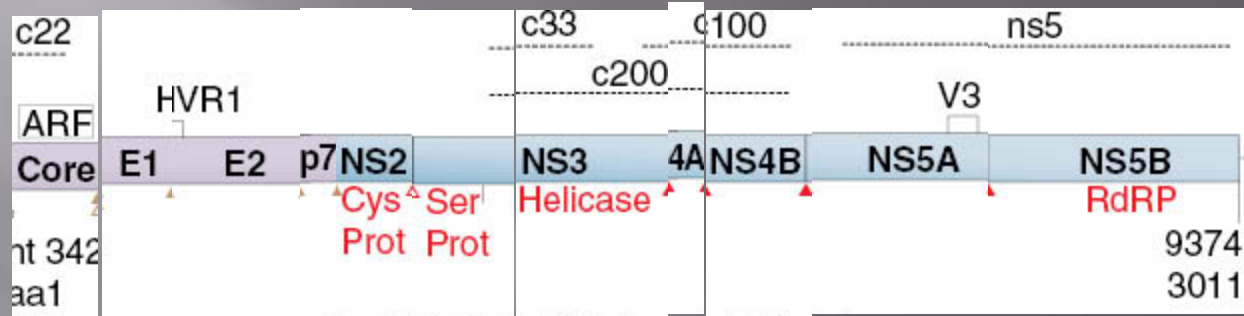
# Hepatitis C virus lacking the hypervariable region 1 of the second envelope protein is infectious and causes acute resolving or persistent infection in chimpanzees

Xavier Forns\*, Robert Thimme<sup>†</sup>, Sugantha Govindarajan<sup>‡</sup>, Suzanne U. Emerson<sup>§</sup>, Robert H. Purcell\*, Francis V. Chisari<sup>†</sup>, and Jens Bukh\*<sup>¶</sup>

\*Hepatitis Viruses Section and <sup>§</sup>Molecular Hepatitis Section, Laboratory of Infectious Diseases, National Institute of Allergy and Infectious Diseases, National Institutes of Health, Bethesda, MD 20892; <sup>†</sup>Division of Experimental Pathology, Department of Molecular and Experimental Medicine, The Scripps Research Institute, La Jolla, CA 92037; and <sup>‡</sup>Liver Research Laboratory, Rancho Los Amigos Medical Center, Downey, CA 90242

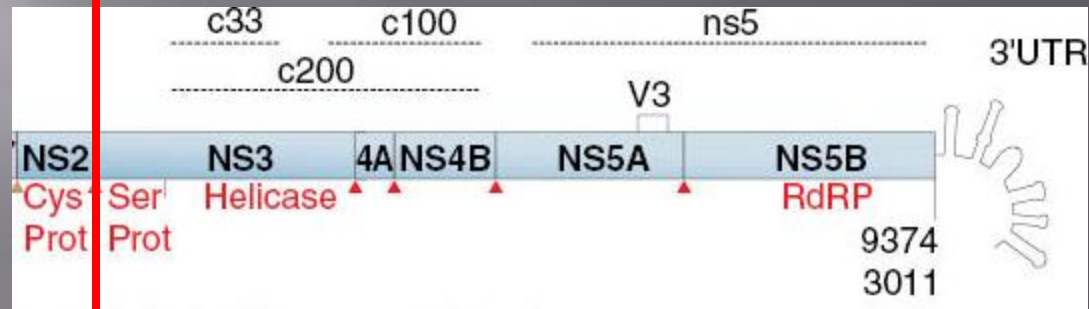
Bu bölgenin delesyonu, virüsün şempanzeleri infekte etme yeteneğini etkilememektedir. Dolayısıyla virüsün hücre girmesi ya da salınımı için kritik öneme sahip olmadığı söylenebilir.

# p7 ve NS2 proteinleri



E2 proteininin karboksil ucu yakınında sinyal peptidaz aktivitesi ile gerçekleşen kesilme, p7 (önceden NS2A) proteinini oluşturur. Küçük, 63 aminoasitten oluşan, hidrofobik polipeptid, voltaj ayarlı bir iyon kanalı oluşturma kapasitesine sahiptir.

# p7 ve NS2 proteinleri



NS2 (önceden NS2B) proteini membran ilişkili dimerik bir sistein proteazdır, NS2 NS3 bileşkesinden kesilmeyi sağlar.

## Hepatitis C Virus p7 and NS2 Proteins Are Essential for Production of Infectious Virus<sup>▽</sup>

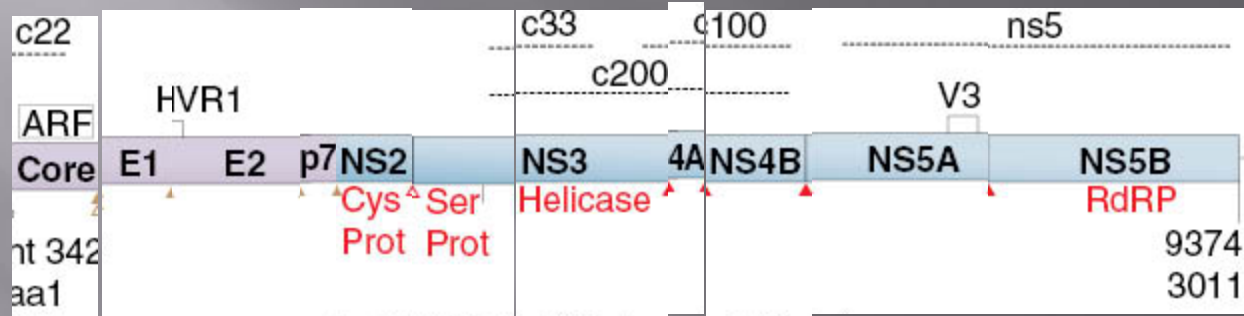
Christopher T. Jones, Catherine L. Murray, Dawnnica K. Eastman,<sup>†</sup>  
Jodie Tassello, and Charles M. Rice\*

*Laboratory of Virology and Infectious Disease, Center for the Study of Hepatitis C,  
The Rockefeller University, New York, New York 10021*



Bu iki proteinin viral partiküllerin bir araya gelmesinden önceki evrede, virion morfogenezinde gerekli olduğu düşünülmektedir ancak viral RNA replikasyonu için gerekli değildir.

# Yapısal olmayan proteinler

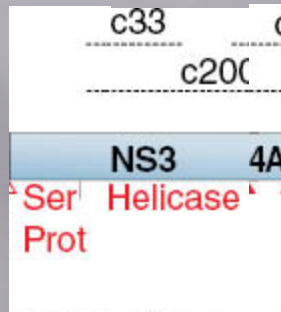


Poliprotein üzerinde NS3'ten NS5B'ye kadar sıralanmış olan proteinler RNA replikasyonu için gereklidir.

Replikasyon sitoplazmada membran ilişkili replikaz kompleksinde gerçekleşir.

# Yapısal olmayan proteinler

## NS3



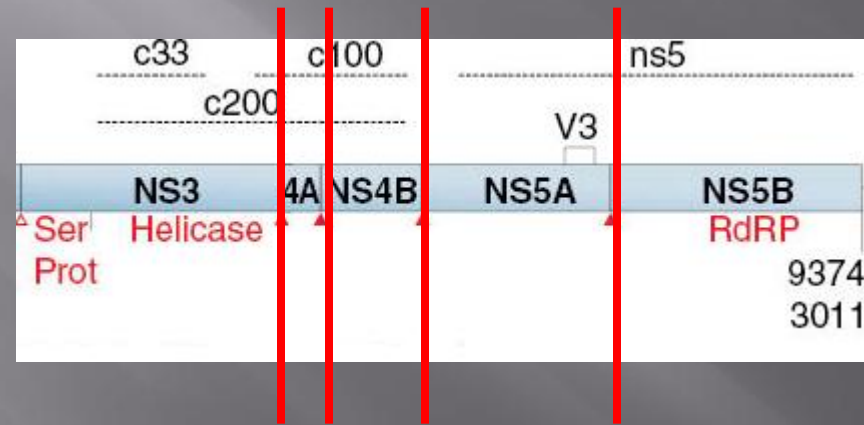
Amino terminalinde serin proteaz aktivitesi, karboksi terminalinde RNA helikaz ile NTPaz aktivitesine sahiptir.

Tamamen aktive olmuş NS3 proteaz aktivitesi için NS3 ile NS4A proteinlerinin nonkovalen ilişkisi gerekir.

## Hepatitis C Virus NS3 Serine Proteinase: *trans*-Cleavage Requirements and Processing Kinetics

CHAO LIN, BÉLA M. PRÁGAI, ARASH GRAKOU, JIAN XU, AND CHARLES M. RICE\*

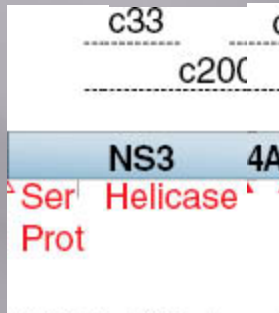
*Department of Molecular Microbiology, Washington University School of Medicine, St. Louis, Missouri 63110-1093*



NS3 serin proteaz trans pozisyonunda aktiftir, çinko bağımlıdır ve NS3/NS4A, NS4A/NS4B, NS4B/NS5A ve NS5A/NS5B bileşkelerindeki kesilmeyi gerçekleştirir.

# Yapısal olmayan proteinler

## NS3



Karboksi terminalindeki 465 aminoasit NTPaz ve RNA helikaz aktivitelere sahiptir ve viral genomun replikasyonu sırasında oluşan duplex RNA molekülünün çözülmesini sağlar.

Helikaz 3' 5' yönünde çalışır ve 3' ucundaki poly U/UC sekansına bağlanır. NS3 proteininin proteaz ve helikaz aktiviteleri için bir kesilme gerçekleşmez



# Yapısal olmayan proteinler NS3

- ▣ NS3 proteaz aktivitesinin,  
“interferon regulatuar faktör 3 (IRF3)”ün  
aktive olmasını bloke ederek interferon  
aracılı yanıtla etkileştiği,  
HCV’nin spesifik olmayan doğal hücresel  
antiviral yanıttan kaçmasını sağladığı

# Yapısal olmayan proteinler

## NS4A



NS3 proteazın kofaktörü olarak görev yapar. Amino terminal segmenti, NS3/4A kompleksini intrasellüler membranlara bağlar.

Aynı zamanda NS4A, replikaz kompleksinin kritik bir parçası olarak NS5A ile de ilişkilidir.

## Nonstructural Protein Precursor NS4A/B from Hepatitis C Virus Alters Function and Ultrastructure of Host Secretory Apparatus

Kouacou V. Konan,<sup>1</sup> Thomas H. Giddings, Jr.,<sup>2</sup> Masanori Ikeda,<sup>3</sup> Kui Li,<sup>3</sup>  
Stanley M. Lemon,<sup>3</sup> and Karla Kirkegaard<sup>1\*</sup>

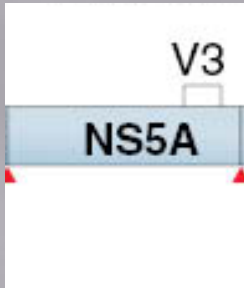
*Department of Microbiology and Immunology, Stanford University School of Medicine, Stanford, California<sup>1</sup>;  
Department of Molecular, Cellular and Developmental Biology, University of Colorado, Boulder, Colorado<sup>2</sup>;  
and Department of Microbiology and Immunology, The University of Texas  
Medical Branch at Galveston, Galveston, Texas<sup>3</sup>*

**NS4B**

NS4B hidrofobik, membran ilişkili bir proteindir. ER membran modifikasyonlarını sağladığı ve normal ER-Golgi sekretuar yolları inhibe ettiği düşünülmektedir

# Yapısal olmayan proteinler

## NS5A



NS5A membrana bağlı, RNA bağlayan bir fosfoproteindir ve RNA replikasyonunda rol aldığı düşünülmektedir ancak fonksiyonu tam olarak aydınlatılamamıştır.

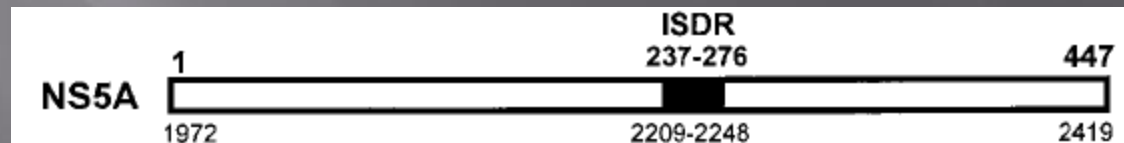
## Comparison of Full-length Sequences of Interferon-sensitive and Resistant Hepatitis C Virus 1b

Sensitivity to Interferon is Conferred by Amino Acid Substitutions in the NS5A Region

Nobuyuki Enomoto,\* Ikuo Sakuma,\* Yasuhiro Asahina,\* Masayuki Kurosaki,\* Takeshi Murakami,\* Chikara Yamamoto,\* Namiki Izumi,<sup>§</sup> Fumiaki Marumo,\* and Chifumi Sato\*\*

\*Second Department of Internal Medicine and <sup>†</sup>Division of Health Science, Faculty of Medicine, Tokyo Medical and Dental University, Tokyo 113, Japan; and <sup>§</sup>Department of Internal Medicine, Musashino Red Cross Hospital, Tokyo 180, Japan

NS5A karboksi terminalinde 2154-2383. kodonlardaki mutasyonlar ile interferona yanıt arasında ilişki gösterilmiş ve bu bölge “interferon sensitivity determining region” olarak adlandırılmıştır.



# MUTATIONS IN THE NONSTRUCTURAL PROTEIN 5A GENE AND RESPONSE TO INTERFERON IN PATIENTS WITH CHRONIC HEPATITIS C VIRUS 1b INFECTION

NOBUYUKI ENOMOTO, M.D., IKUO SAKUMA, M.D., YASUHIRO ASAHINA, M.D., MASAYUKI KUROSAKI, M.D.,  
TAKESHI MURAKAMI, M.D., CHIKARA YAMAMOTO, M.D., YUKI OGURA, M.D., NAMIKI IZUMI, M.D.,  
FUMIAKI MARUMO, M.D., AND CHIFUMI SATO, M.D.

[illegible]

Mutant type (n = 16)	Y-GP	W	Yes
A	P-N	T	Yes
	N	LGV	Yes
	L	LGV	Yes
L	A-A	AP-V	Yes
L	A	GR-V	Yes
	R	YV-C	Yes
V	A	R	Yes
V	A	AR-G	Yes
	T	F-ACPN-V	Yes
	R	AR-GA-T	Yes
L	VR-G	R-E-V	Yes
	S	YI-QY	Yes
	SR	WAAY-V	Yes
L	A	AP-GA-V	Yes
	RN		Yes

## Evidence That Hepatitis C Virus Resistance to Interferon Is Mediated through Repression of the PKR Protein Kinase by the Nonstructural 5A Protein

MICHAEL J. GALE JR.,\* MARCUS J. KORTH,† NORINA M. TANG,\* SENG-LAI TAN,\* DEBORAH A. HOPKINS,† THOMAS E. DEVER,‡ STEPHEN J. POLYAK,§ DAVID R. GRETCH,§ and MICHAEL G. KATZE\*†<sup>1</sup>

*\*Department of Microbiology, University of Washington, Box 357242, Seattle, Washington 98195; †Regional Primate Research Center, University of Washington, Box 357330, Seattle, Washington 98195; ‡Laboratory of Eukaryotic Gene Regulation, National Institute of Child Health and Human Development, National Institutes of Health, Building 6B, 3B-326, Bethesda, Maryland 20892; §Department of Laboratory Medicine, University of Washington and Pacific Medical Center, 1200 12th Avenue S., Seattle, Washington 98144*

İnterferon tarafından indüklenen protein kinaz R (PKR), interferon aracılı antiviral direncin bir mediatörüdür.

PKR'nin NS5A tarafından inaktivasyonu, interferonun hem antiviral hem de antiproliferatif etkilerini azaltabilir

# Yapısal olmayan proteinler

## NS5B

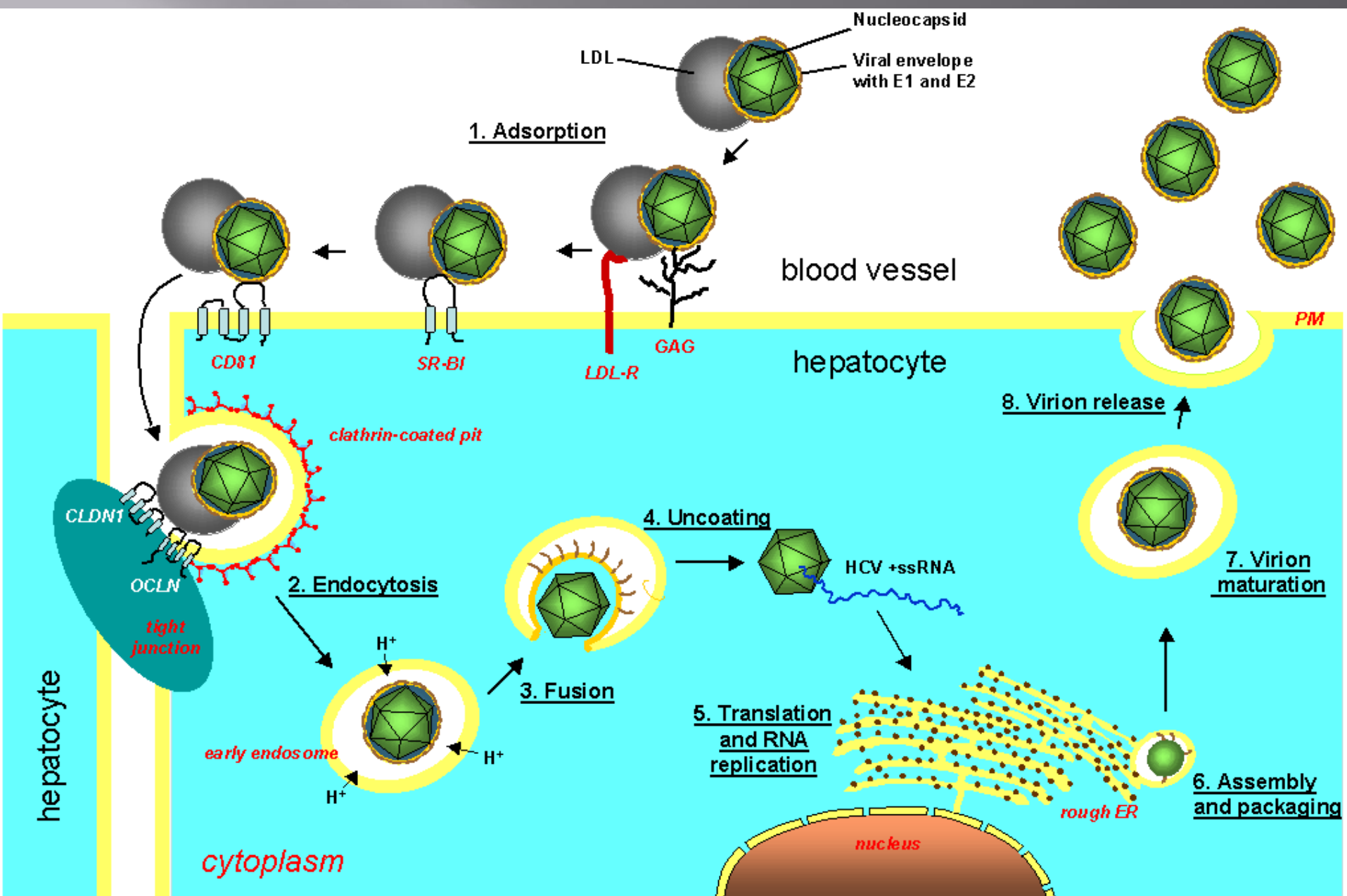


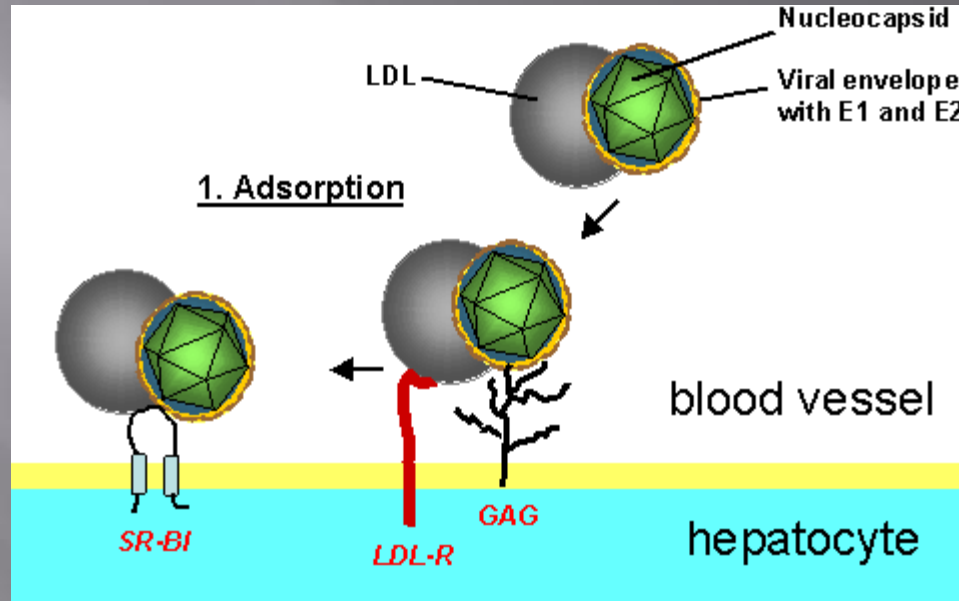
NS5B, membrana bağlı bir proteindir  
RNA bağımlı RNA polimeraz aktivitesine sahip,  
replikaz kompleksinin katalitik parçasıdır.



# Viral replikasyon aşamaları

- 1 – Adsorbsiyon
- 2 – Penetrasyon
- 3 – Kapsidin soyulması
- 4 – Biyosentez
- 5 – Olgun virüs partiküllerinin oluşumu
- 6 – Viral partiküllerin hücreden çıkışı





Virüsün hücreye girmesinde birden fazla sayıda spesifik, hücre yüzey reseptör molekülleri rol oynar.

# Hepatitis C virus and other Flaviviridae viruses enter cells via low density lipoprotein receptor

Vincent Agnello<sup>\*†‡</sup>, György Ábel<sup>\*</sup>, Mutasim Elfahal<sup>\*</sup>, Glenn B. Knight<sup>\*</sup>, and Qing-Xiu Zhang<sup>\*</sup>

<sup>\*</sup>Lahey Clinic Medical Center, Department of Laboratory Medicine, Burlington, MA 01805; and <sup>†</sup>Edith Nourse Rogers Memorial Veterans Affairs Hospital, Bedford, MA 01730

Edited by Robert J. Lefkowitz, Duke University Medical Center, Durham, NC, and approved August 24, 1999 (received for review November 25, 1998)

**Endocytosis of the Flaviviridae viruses, hepatitis C virus, GB virus C/hepatitis G virus, and bovine viral diarrhoeal virus (BVDV) was shown to be mediated by low density lipoprotein (LDL) receptors on cultured cells by several lines of evidence: by the demonstration that endocytosis of these virus correlated with LDL receptor activity, by complete inhibition of detectable endocytosis by anti-LDL receptor antibody, by inhibition with anti-apolipoprotein E and -apolipoprotein B antibodies, by chemical methods abrogating lipoprotein/LDL receptor interactions, and by inhibition with the endocytosis inhibitor phenylarsine oxide. Confirmatory evidence was provided by the lack of detectable LDL receptor on cells known to be resistant to BVDV infection. Endocytosis via the LDL receptor was shown to be mediated by complexing of the virus to very low density lipoprotein or LDL but not high density lipoprotein. Studies**

Purified IgG 2a mouse monoclonal anti-LDL receptor antibody (C7 clone) was obtained from Oncogene Scientific Products (Cambridge, MA). Anti-bovine viral diarrhoea virus (BVDV) envelope antibody bovine serum,  $\alpha$ 49, was provided by Marc S. Collett (Viro Pharma, Malvern, PA). Mouse monoclonal IgG 2a anti-CD-16, anti-CD-19, and anti-transferrin (CD71) were purchased from Immunotech (Hialeah, FL). Anti- $\mu$  was purchased from Jackson ImmunoResearch. Anti-apolipoprotein ( $\alpha$ apo) E and  $\alpha$ apo A-I were purchased from Cortex Pharmaceuticals (San Leandro, CA);  $\alpha$ apo B was purchased from Sigma. Purified mouse monoclonal IgG  $\alpha$ apo E (1D7),  $\alpha$ apo A-I (3G10), and  $\alpha$ apo B (4G3) were purchased from the University of Ottawa Heart Institute. F(ab')<sub>2</sub>, an antibody fragment with two antigen-combining sites, preparations of mouse IgG were prepared by treating the mouse mono-

Flaviviridae ailesi virüslerinin endositozunun LDL reseptörü aracılığıyla gerçekleştirildiği gösterilmiştir.

Review

**Open Access**

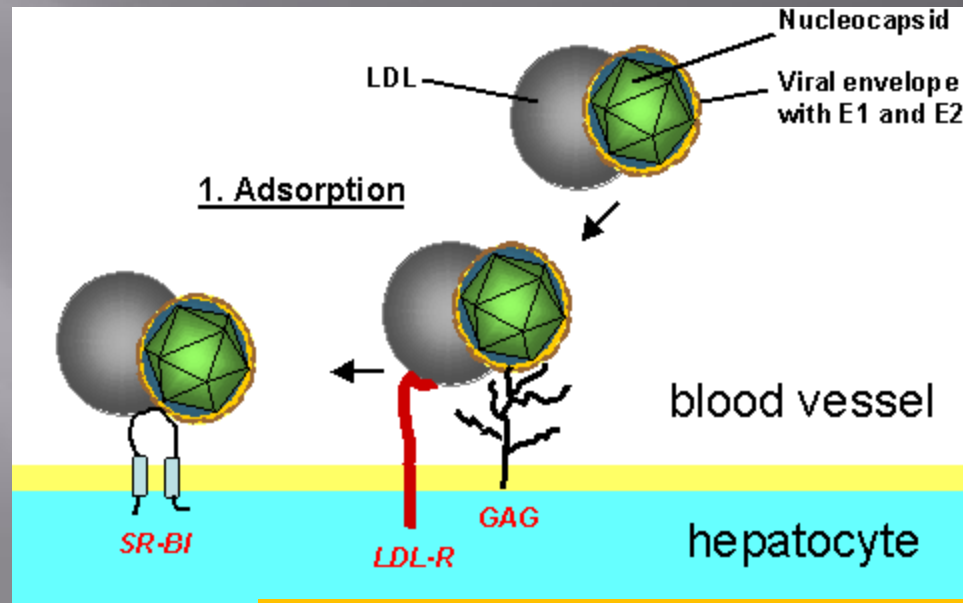
## **Hepatitis C Virus entry: the early steps in the viral replication cycle**

Ali Sabahi

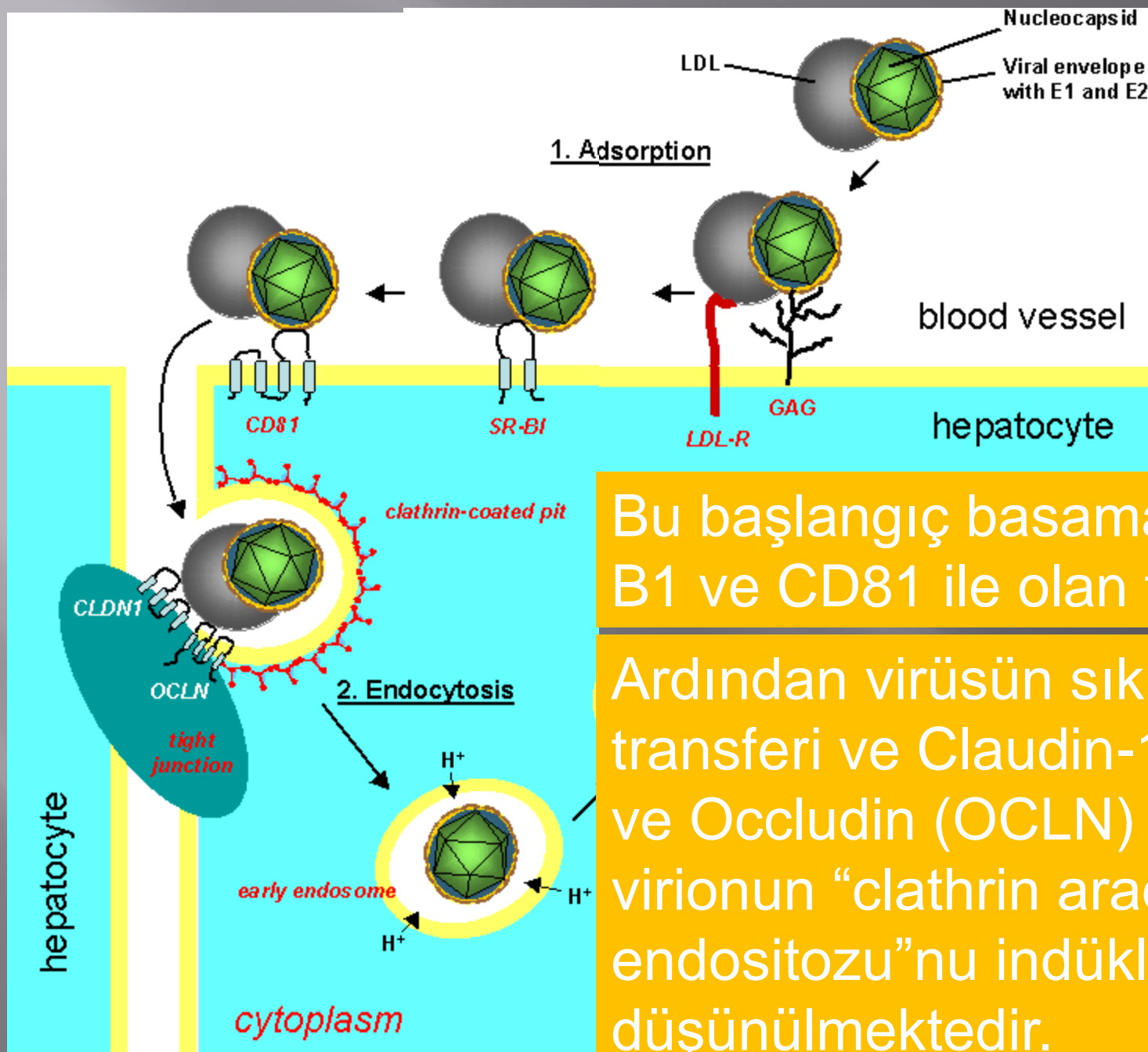
Address: Department of Microbiology and Immunology, Tulane University Health Sciences Center, New Orleans, Louisiana, USA

Email: Ali Sabahi - [asabahi@gmail.com](mailto:asabahi@gmail.com)

CD81,  
LDL reseptörü,  
SR-B1,  
Claudin-1

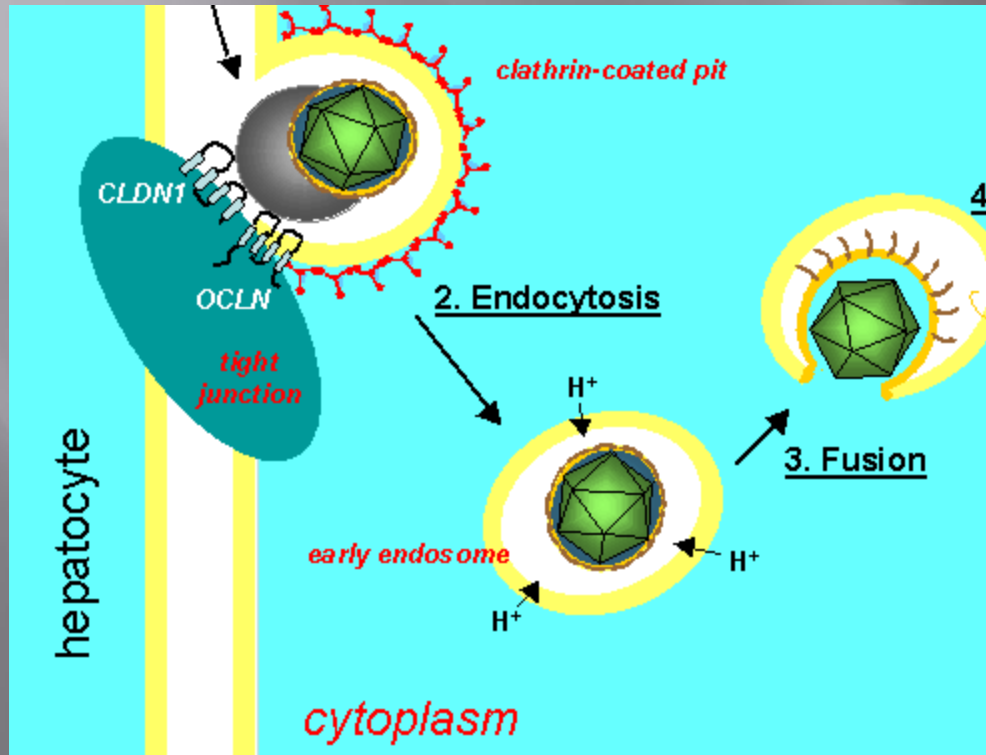


Hücre yüzeyindeki LDL reseptörüne tutunmayla başlar ve eşzamanlı olarak viral glikoproteinler, hücresel glikozaminoglikanlarla ilişkiye geçer.



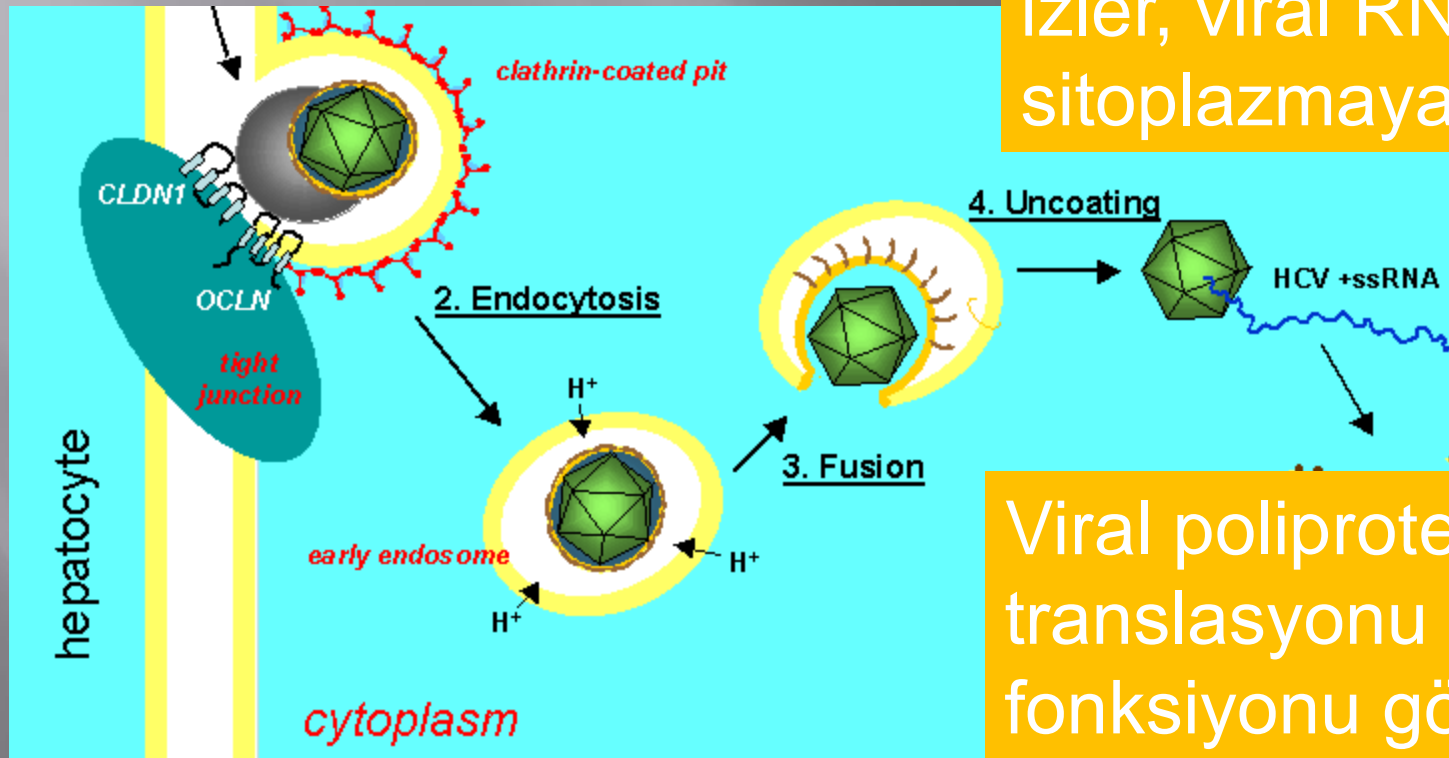
Bu başlangıç basamağını SR-B1 ve CD81 ile olan temas izler

Ardından virüsün sıkı bileşkeye transferi ve Claudin-1 (CLDN1) ve Occludin (OCLN) ile ilişkisinin virionun “clathrin aracılı endositozu”nu indüklediği düşünülmektedir.



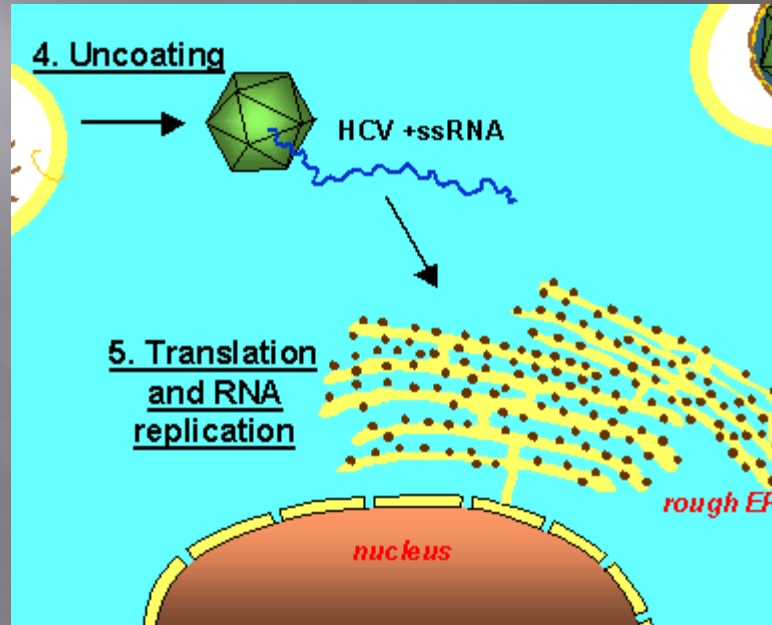
Tutunma, penetrasyon ve hücresel bir endosomla hücre içine girişin ardından, lokal pH değişiklikleri, zarf E1 ve E2 glikoproteinlerinin konformasyonunu değiştirir ve endosomal membranla füzyon gerçekleşir.



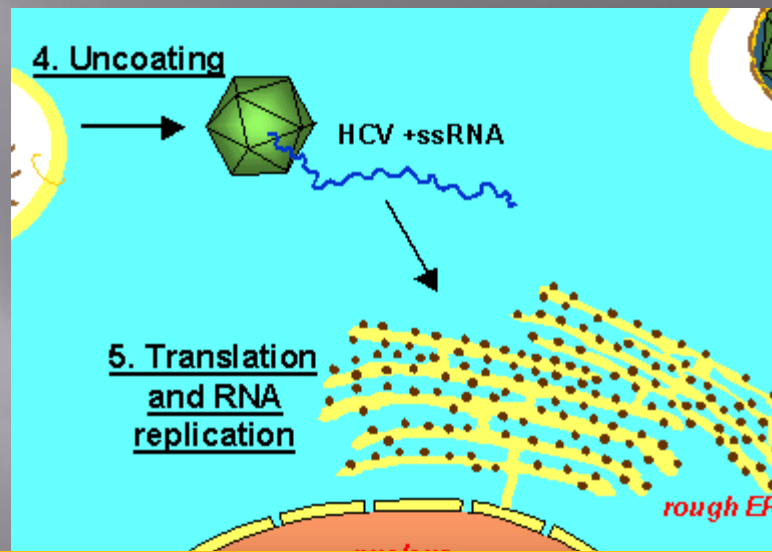


Füzyonu “uncoating”  
izler, viral RNA  
sitoplazmaya salınır

Viral poliproteininin  
translasyonu için mRNA  
fonksiyonu görür



Viral translasyon granüllü ER'da olur ve poliprotein translasyonla eşzamanlı olarak proteolitik aktiviteye maruz kalır.



Nükleokapsid proteini sinyal peptid peptidaz ile karboksi terminalindeki sinyal sekansından ayrıldıktan sonra sitoplazmada kalır

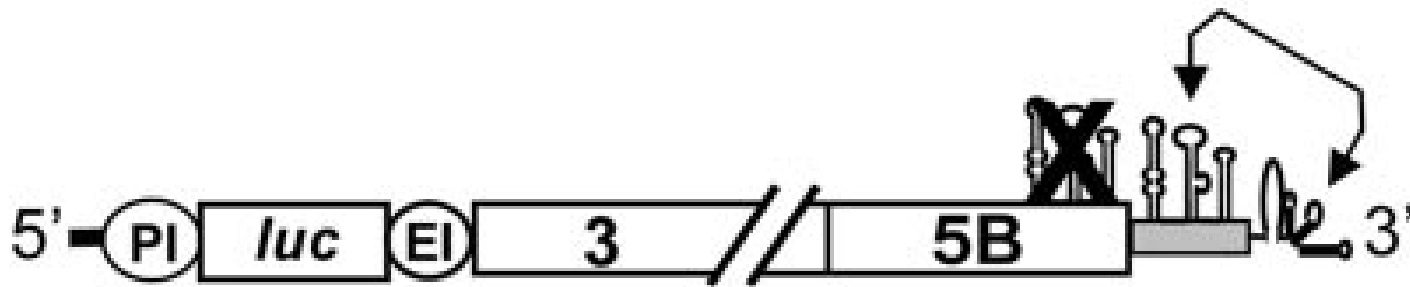
E1 ve E2 ER lümenine sekrete edilir ve burada membrana bağlı olarak kalırlarken yoğun biçimde glikozile edilirler.

NS3, NS4A, NS4B, NS5A ve NS5B'den oluşan replikaz kompleksi sitoplazmada, ER'dan köken alan membranöz girintilerde bulunur.

## Kissing-Loop Interaction in the 3' End of the Hepatitis C Virus Genome Essential for RNA Replication

Peter Friebe,<sup>1</sup> Julien Boudet,<sup>2</sup> Jean-Pierre Simorre,<sup>2</sup> and Ralf Bartenschlager<sup>1\*</sup>

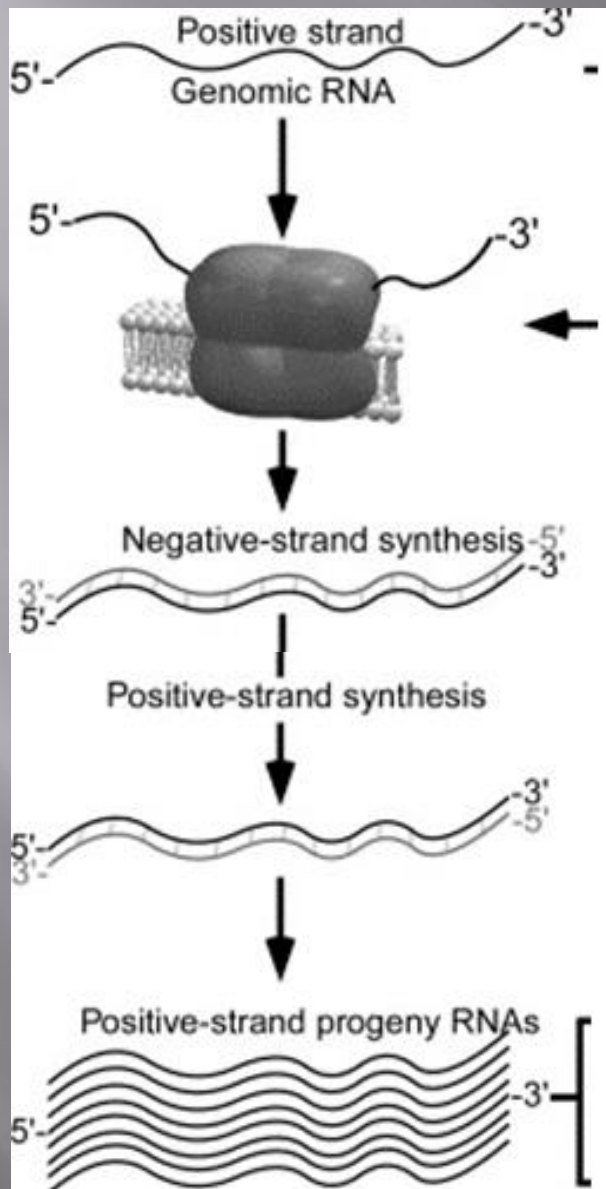
*Department of Molecular Virology, University of Heidelberg, Heidelberg, Germany,<sup>1</sup> and Institut de Biologie Structurale Jean-Pierre Ebel, Grenoble, France<sup>2</sup>*



İn vitro çalışmalar ile 3'-X bölgesi ile NS5B'yi kodlayan bölge arasındaki ilişkinin viral RNA replikasyonu için kesinlikle gerekli olduğu gösterilmiştir.

Viral replikasyon için kilit enzim NS5B, HCV'nin RNA bağımlı RNA polimerazı (RdRp)'dır.

Replikaz kompleksi genomik RNA'nın 3' ucunda yer alan spesifik yapıları ve sekansları tanır.

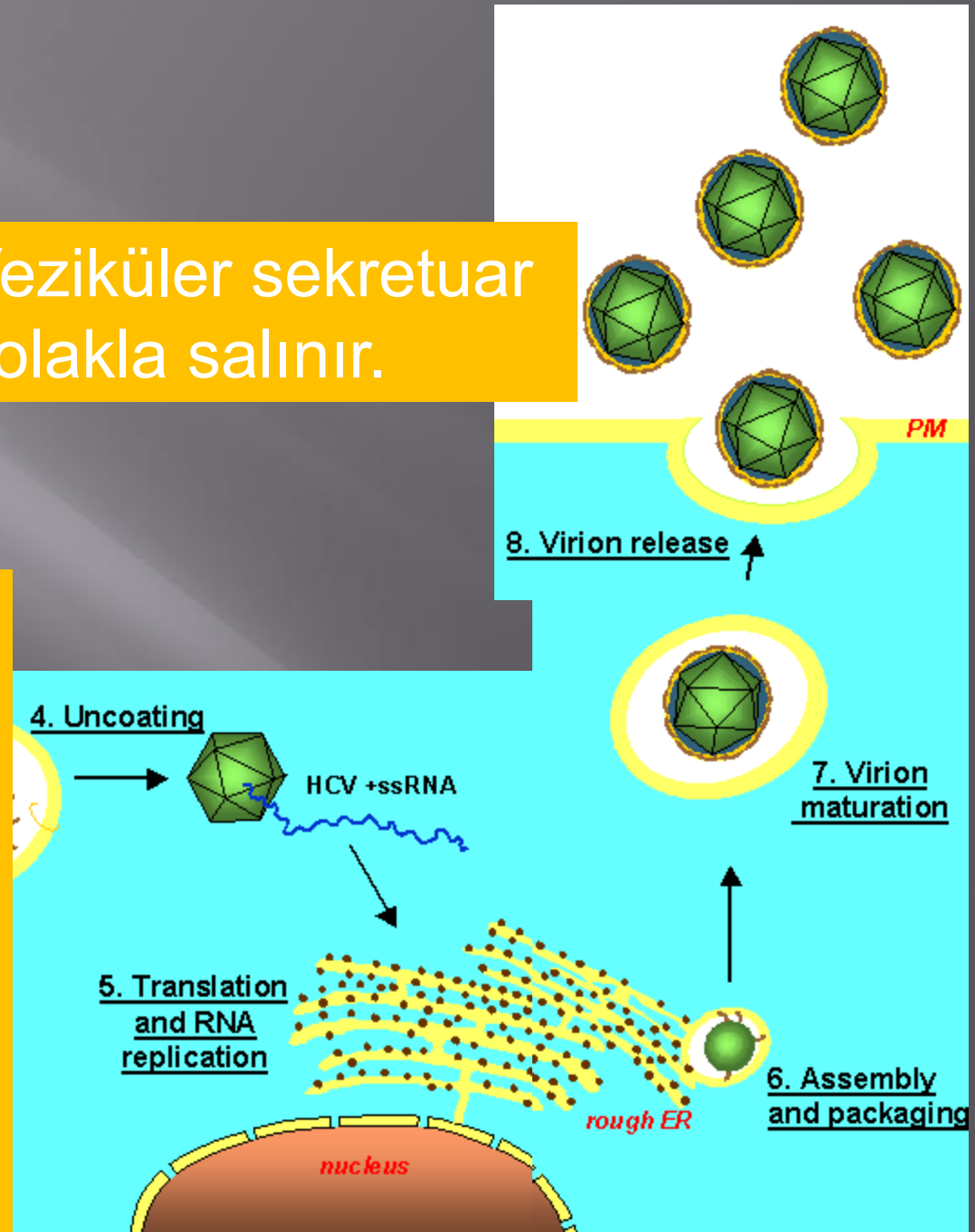


RdRp, kalıp görevi görecek RNA molekülüne bağlandıktan sonra, negatif polariteli RNA sentezlenir.

Ardından, negatif polariteli RNA kalıp görevi görür ve çok sayıda pozitif polariteli RNA molekülü sentezlenir.

Veziküler sekretuar  
yolakla salınır.

Viral proteinler,  
glikoproteinler ve  
genomik HCV RNA  
sentezi sonrası, bu  
komponentler ER'da,  
infeksiyöz virionun  
oluşumu için bir araya  
gelir ve paketlenir.



## Sequence Analysis of the Hepatitis C Virus Genome Recovered from Serum, Liver, and Peripheral Blood Mononuclear Cells of Infected Chimpanzees

YOHKO K. SHIMIZU,<sup>1,2\*</sup> HIROKO IGARASHI,<sup>2</sup> TAKAYOSHI KANEMATU,<sup>2</sup> KENJI FUJIWARA,<sup>3</sup>  
DORIS C. WONG,<sup>4</sup> ROBERT H. PURCELL,<sup>4</sup> AND HIROSHI YOSHIKURA<sup>2</sup>

*Departments of Hepatitis Virology (SKBB)<sup>1</sup> and Bacteriology,<sup>2</sup> Faculty of Medicine, University of Tokyo, Tokyo 113, and Third Department of Internal Medicine, Saitama Medical School, Saitama 350-04,<sup>3</sup> Japan, and Laboratory of Infectious Diseases, National Institute of Allergy and Infectious Diseases, National Institutes of Health, Bethesda, Maryland 20892<sup>4</sup>*

Replikasyon hepatositlerde negatif polariteli intermediate üzerinden gerçekleşmesine karşın, buna ek olarak virüsün periferik mononükleer hücrelerde ve kemik iliğinde de replike olabildiğini gösteren veriler vardır.



# Genetik çeşitlilik

Viral kinetik matematiksel modelleri ile  
virionların yarı ömrü ~ 2.5 saat  
kronik infekte bireylerde  $10^{12}$  virion/gün

- Virion döngüsünün yüksek olması,
- RdRp'nin "proofreading aktivitesi"nin olmaması
- Pek çok genomik bölgenin nükleotid değişikliklerine toleransı,

## Hepatitis C Virus (HCV) Circulates as a Population of Different but Closely Related Genomes: Quasispecies Nature of HCV Genome Distribution

MARIA MARTELL,<sup>1</sup> JUAN I. ESTEBAN,<sup>1\*</sup> JOSEP QUER,<sup>1</sup> JOAN GENESCÀ,<sup>1</sup> AMY WEINER,<sup>2</sup>  
RAFAEL ESTEBAN,<sup>1</sup> JAUME GUARDIA,<sup>1</sup> AND JORDI GÓMEZ<sup>1</sup>

*Liver Unit, Department of Medicine, Hospital General Universitari Vall d'Hebron,  
08035 Barcelona, Spain,<sup>1</sup> and Chiron Corporation,  
Emeryville, California 94608-2916<sup>2</sup>*

İnfekte bireyde plazma ve karaciğerden çok sayıda HCV varyantı elde edilebilir

HCV, infekte bireylerde, birbirine çok yakın olmakla birlikte farklı genetik sekansları olan viral popülasyonlar “quasispecies” biçiminde bulunur.

# Quasispecies in viral persistence and pathogenesis of hepatitis C virus

**Xavier Forns, Robert H. Purcell and Jens Bukh**

Bir quasispecies popülasyonunda mutasyonun fiksasyonu, bu mutasyonun “viral fitness”ı nasıl etkilediğiyle; fonksiyonel protein/RNA yapılarına, virüs replikasyon kapasitesine, konak-virüs ilişkisine etkisi ile ilişkilidir.

C geninde ve genomun 5' 3' translasyon olmayan segmentlerinde en düşüktür.

# Quasispecies in viral persistence and pathogenesis of hepatitis C virus

**Xavier Forns, Robert H. Purcell and Jens Bukh**

E2 proteininin HVR-1 segmentinde spontan mutasyonlar, var olan nötralizan antikörlerin viral zarfa bağlanmasını azaltarak konakta çoğalma olasılığını arttırırken, viral replikasyonu etkilemezler.

Dolayısıyla, kandan elde edilen quasispecies varyantları, virüsün çoğalması ve seçici güçler arasındaki dengeyi yansıtır.

# Quasispecies

- ▣ Genetik diversity / çeşitlilik  
tek bir kan  
örneğindeki  
varyantlar arasında  
nükleotid  
farklılıklarının sayısı

- ▣ Genetik complexity / karmaşıklık  
tek bir bireydeki farklı  
varyantların sayısı

Klinik korelasyon??

HVR1'de yüksek genetik çeşitlilik, akut HCV enfeksiyonu sonrası viral persistans ile ilişkili...

## Progression of Fibrosis during Chronic Hepatitis C Is Associated with Rapid Virus Evolution<sup>▽</sup>

Xiao-Hong Wang,<sup>1,5</sup> Dale M. Netski,<sup>1</sup> Jacquie Astemborski,<sup>4</sup> Shruti H. Mehta,<sup>4</sup> Michael S. Torbenson,<sup>2</sup> David L. Thomas,<sup>1,4</sup> and Stuart C. Ray<sup>1,3\*</sup>

*Departments of Medicine,<sup>1</sup> Pathology,<sup>2</sup> and Oncology,<sup>3</sup> Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, Maryland; Department of Epidemiology, Johns Hopkins School of Hygiene and Public Health, Baltimore, Maryland<sup>4</sup>; and Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, Peoples Republic of China 400038<sup>5</sup>*

Genetik karmaşıklığın hastalığın yaygınlığı ve enfeksiyonun süresi ile ilişkili olduğu...

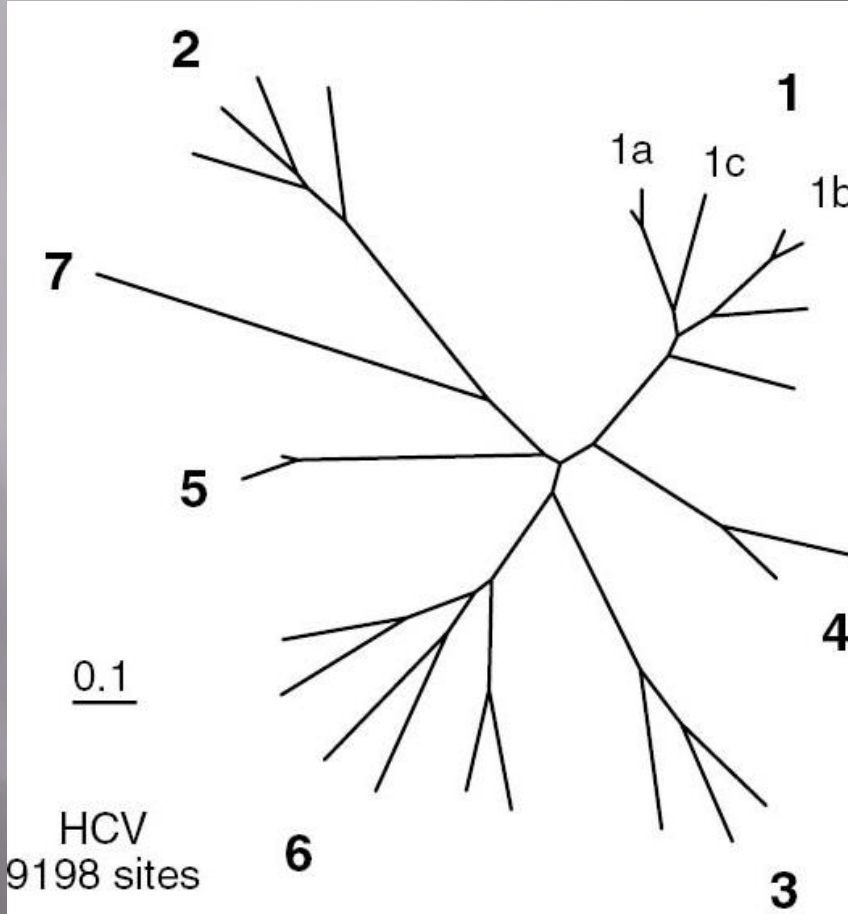
quasispecies varyasyonları persistansın tek nedeni değildir,  
aktif olmakla birlikte tamamen etkin olmayan  
immün yanıt nedeniyle infeksiyonun  
persistans kazanması sonucu ortaya çıktığı  
söylenabilir.

# HCV genotipleri

- ▣ İnfekte bir bireyde var olan HCV sekans heterojenitesi (quasispecies varyasyonu)'ne ek olarak, farklı bireylerden elde edilen HCV sekansları arasında da dikkat çekici bir genetik heterojenite ve farklılık vardır (genotip varyasyonu).



# HCV genotipleri



- ▣ Farklı coğrafik bölgelerden elde edilen HCV sekanslarının filogenetik değerlendirmesi, en az 6 farklı major genotip ya da klad olduğunu göstermektedir.

## Classification of hepatitis C virus into six major genotypes and a series of subtypes by phylogenetic analysis of the NS-5 region

P. Simmonds,<sup>1\*</sup> E. C. Holmes,<sup>2†</sup> T.-A. Cha,<sup>3‡</sup> S.-W. Chan,<sup>1</sup> F. McOmish,<sup>4</sup> B. Irvine,<sup>3</sup> E. Beall,<sup>3||</sup> P. L. Yap,<sup>4</sup> J. Kolberg<sup>3</sup> and M. S. Urdea<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Department of Medical Microbiology, Medical School, University of Edinburgh, Teviot Place, Edinburgh EH8 9AG,

<sup>2</sup> Division of Biology, University of Edinburgh, King's Buildings, West Mains Road, Edinburgh EH9 3JN, U.K.,

<sup>3</sup> Chiron Corporation, 4560 Horton Street, Emeryville, California 94608, U.S.A. and <sup>4</sup> Edinburgh and South East Scotland Blood Transfusion Service, Royal Infirmary of Edinburgh, Lauriston Place, Edinburgh EH3 9HR, U.K.

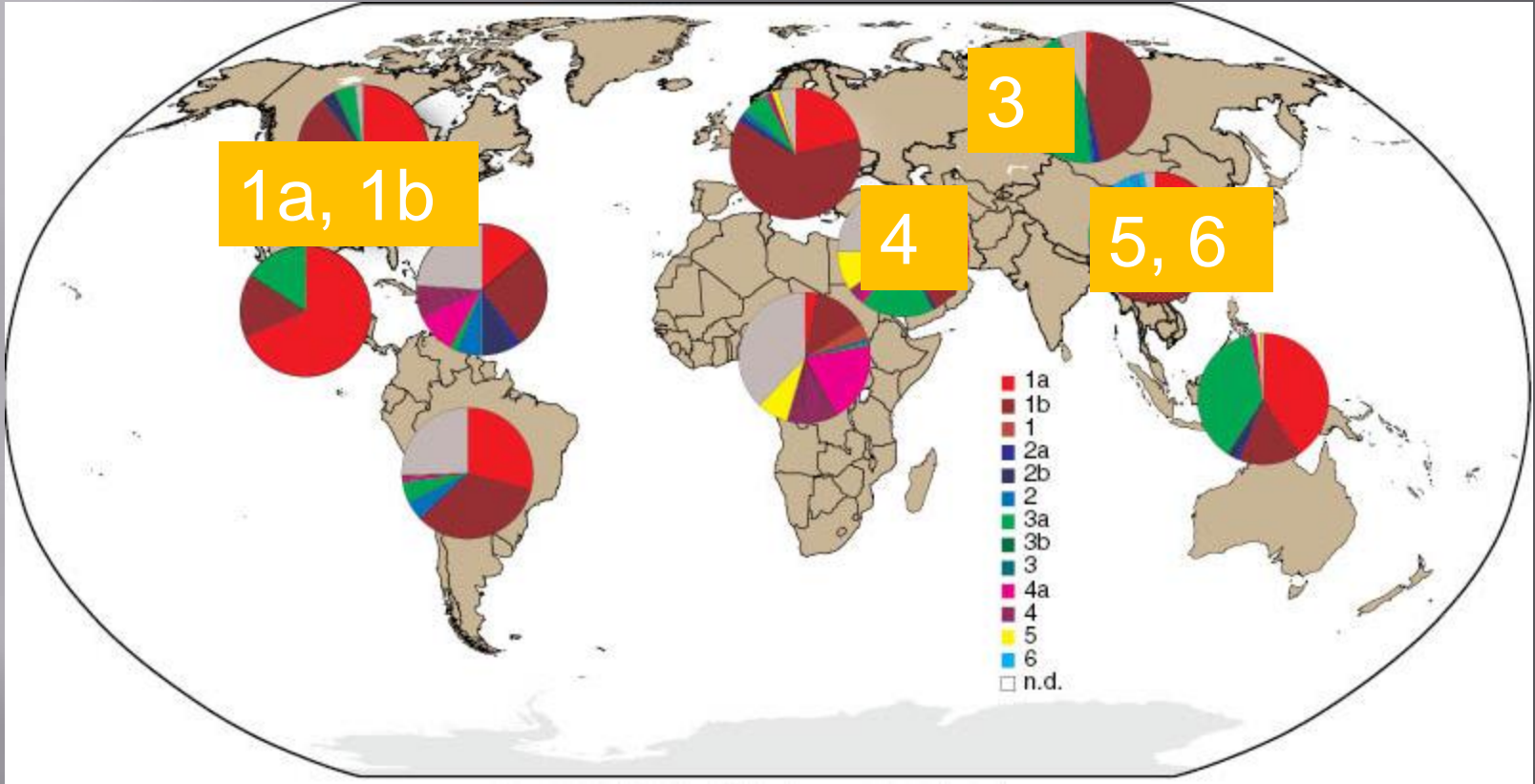
İncelenen genomik bölgeye göre değişmekle birlikte, farklı genotiplerdeki HCV sekansları %50'den daha az nükleotid sekans benzerliği gösterebilirler.

Her bir HCV genotipi altında, subgenotipler (subtipler) gruplandırılabilir. Subtipler, genomun C-E1 ve NS5B bölgelerinde %75-85 nükleotid sekans benzerliğine sahiptir.

# HCV genotipleri

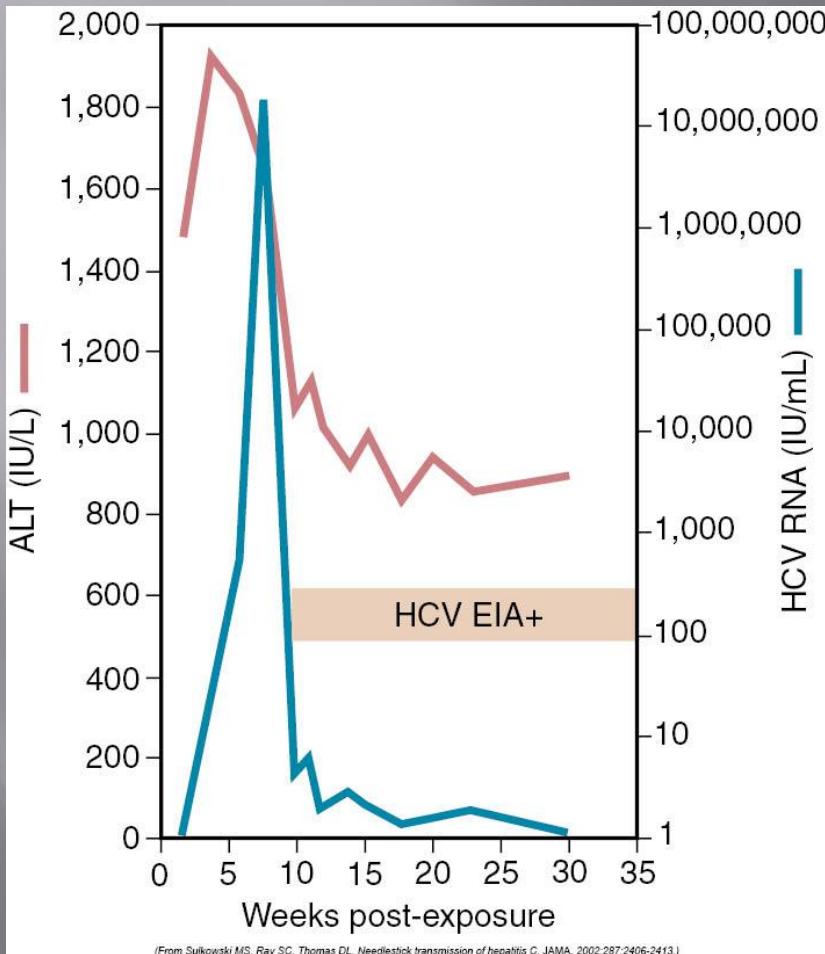
Bu düzeyde nükleotid sekans farklılığı, diğer RNA virüslerinde belirgin serotipik farklılıklarla koreledir. Örneğin, poliovirüs tip 1 ile tip 2, çapraz nötralizasyon göstermezler.

Çok sayıda çalışmaya rağmen, HCV genotipleri arasında bulaş yeteneği, replikasyon düzeyi / yeteneği, karaciğer hastalığına ilerleme hızı açısından belirgin farklılık saptanmamıştır.



HCV genotiplerinin coğrafi dağılımı tam anlamıyla karakterize edilememiş olsa da belirli eğilimlerden söz edilebilir.

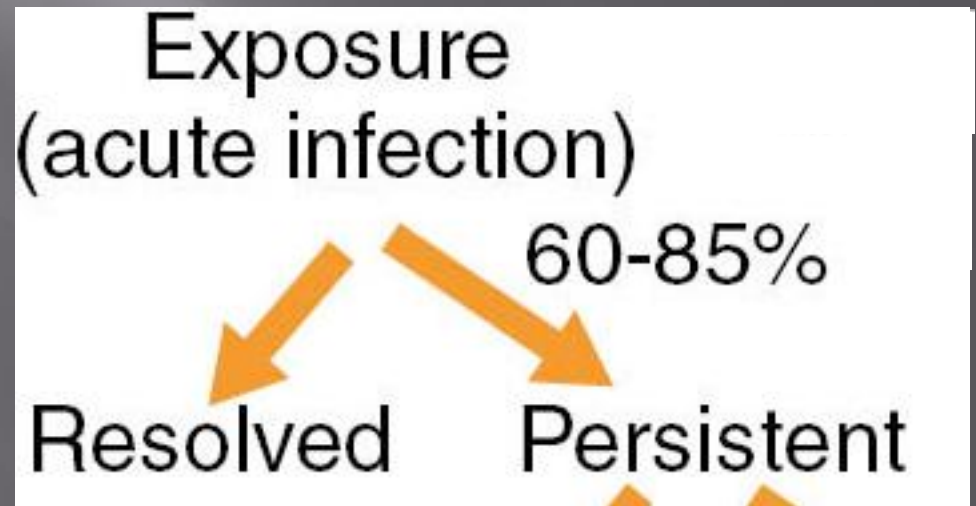
# Doğal seyir ve patogenezi



- Deneysel olarak infekte edilen şempanzeler ve insanlarda, temastan sonraki birkaç gün içinde plazmada HCV RNA saptanabilir; 1-4 hafta içinde de karaciğer enzim düzeyleri yükselir. Viremi infeksiyonun 8-12. haftalarında zirve yapar, ardından daha düşük düzeylere geriler ve persiste olur.

Bazı hastalarda plazma HCV RNA ilk birkaç ayda saptanamaz düzeye inerken; diğerlerinde viremi erken dönemde dalgalanabilir ve altı aydan uzun bir süre stabilleşmez.

İntermitant viremi ve rebound, başlangıçtaki etkin immün yanıtın kaçış anlamına gelebilir.  
Persistans?  
İyileşme?



**CLINICAL OUTCOMES AFTER HEPATITIS C INFECTION FROM CONTAMINATED  
ANTI-D IMMUNE GLOBULIN**

ELIZABETH KENNY-WALSH, M.D., FOR THE IRISH HEPATOLOGY RESEARCH GROUP\*

Konak faktörlerinin kritik olduğunu düşündüren klinik ve epidemiyolojik ipuçları vardır.

Viral persistansta konağın rolü, özellikle ortak kaynak kökenli salgınlar sonrasında dikkat çekicidir; aynı HCV inokulumu ile infekte olan bireylerin kimisi iyileşirken, kimisi kronik olarak infekte kalır.

# Acute Hepatitis C Virus Infection: Diagnosis, Pathogenesis, Treatment

*Florin Alexandru Căruntu<sup>1,2</sup>, Loredana Benea<sup>2</sup>*

1) “Carol Davila” University of Medicine and Pharmacy, and Infectious Diseases Institute “Prof. Dr. Matei Balș”. 2) Infectious Diseases Institute “Prof. Dr. Matei Balș” Bucharest

Viral hepatit patogenezinde immün sistem hem infeksiyonun kontrolü ve iyileşmeye hem de kronik infeksiyon ve siroz gelişimine katkıda bulunur.



# Kinetics of the Immune Response During HBV and HCV Infection

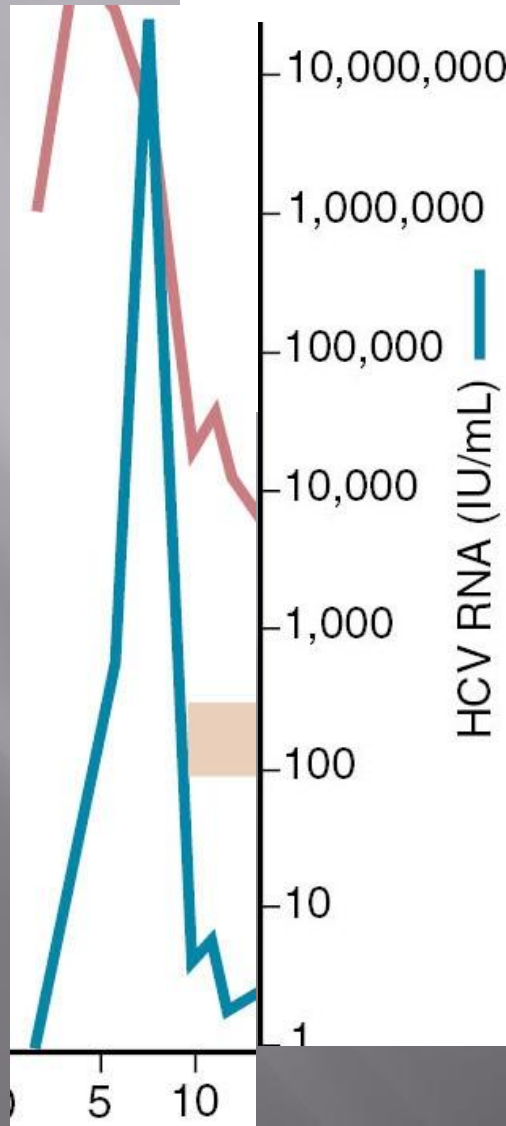
Antonio Bertoletti<sup>1</sup> and Carlo Ferrari<sup>2</sup>

The innate immune system has a role not only in protecting the host during the initial period of virus infection, but also in shaping the nature of the adaptive immune response. In this review, we follow the kinetics of the virologic and immunologic events occurring from the time of hepatitis B virus (HBV) and hepatitis C virus (HCV) infection. We primarily discuss how the early events after infection might influence the development of the adaptive immune response in these 2 important viral infections and how new strategies for more efficient preventive and therapeutic vaccines can be derived from this knowledge. (HEPATOLOGY 2003; 38:4-13.)

Karşılaşmadan sonraki ilk birkaç hafta içinde konak immün yanıtı ile HCV arasındaki ilişki, infeksiyonun izleyeceği seyir konusunda belirleyicidir.

# Kinetics of the Immune Response During HBV and HCV Infection

Antonio Bertolotti<sup>1</sup> and Carlo Ferrari<sup>2</sup>



immune system has a role not only in protecting the host during the initial period of infection, but also in shaping the nature of the adaptive immune response. In this review, we discuss the kinetics of the virologic and immunologic events occurring from the time of infection with hepatitis B virus (HBV) and hepatitis C virus (HCV) infection. We primarily discuss how these events after infection might influence the development of the adaptive immune response. We discuss these 2 important viral infections and how new strategies for more efficient therapeutic vaccines can be derived from this knowledge. (HEPATOLOGY 2003;

Primer infeksiyondan sonra hücresel immün yanıtın 1-2 ay, humoral immün yanıtın 2-3 ay geciktiği gösterilmiştir.

HCV immün yanıtı baskılıyor mu ?

# Doğal bağışık yanıt

İnterferon tip 1 ( $\alpha$  ve  $\beta$ )

infekte hücrelerde protein sentezini azaltır,  
APC MHC gen ekspresyonunu artırır,  
Mx proteinleri üzerinden viral replikasyonu

azaltır

NK ve dendritik hücre aktivitesini artırır  
apoptozun aktivasyonu ile hücre ölümünü

indükler

İnfeksiyonun başlangıç evresinde kontrolü ve  
izleyecek olan adaptif immün yanıtın aktivasyonu  
için son derece önemlidir

IRF 3 (İnterferon regulatuar faktör)  
latent bir sitoplazmik transkripsiyon faktörüdür

Viral infeksiyon

IRF 3



nükleusa geçerek interferon beta  
transkripsiyonunu indükler



IFN  $\beta$

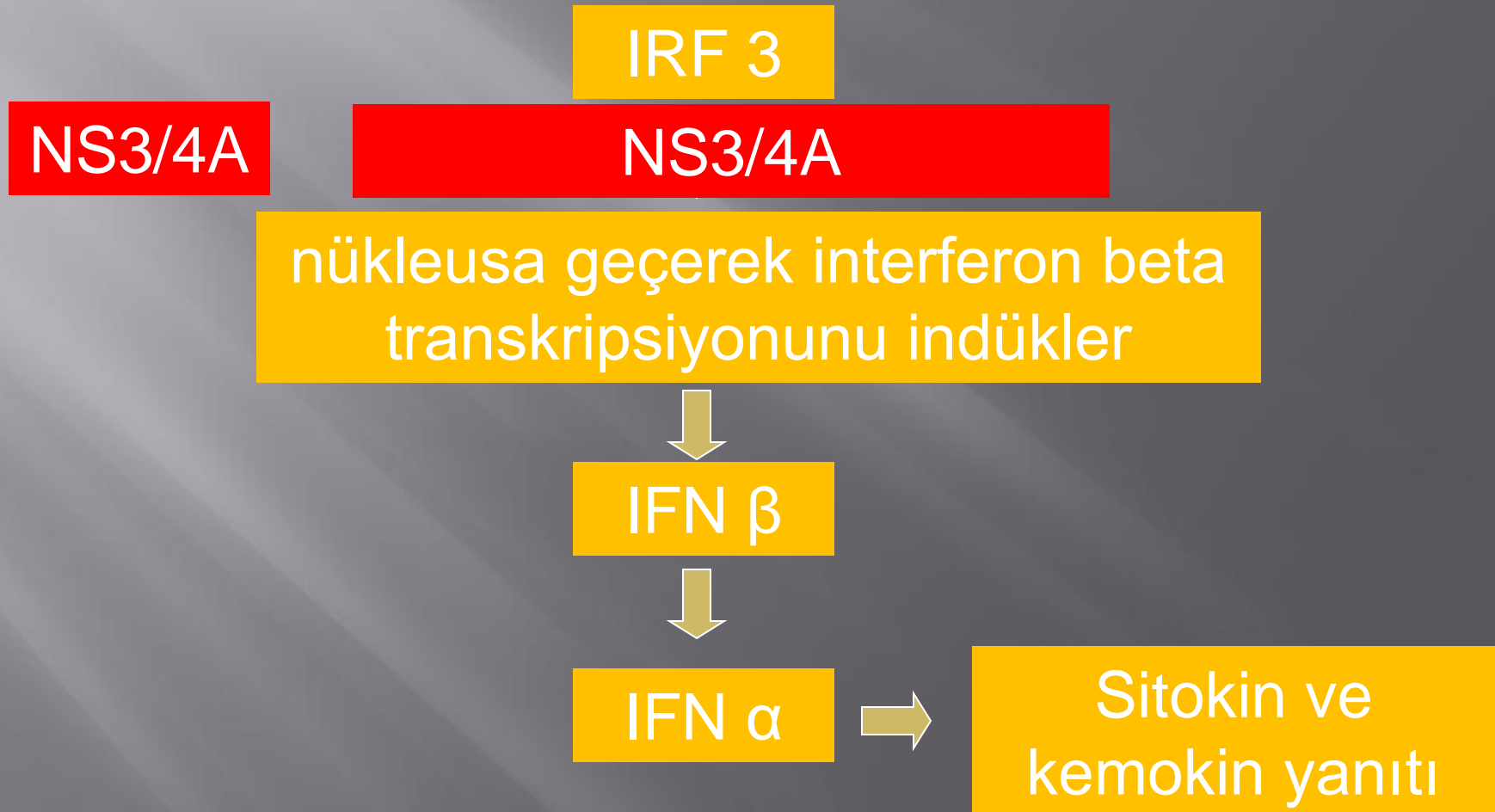


IFN  $\alpha$



Sitokin ve  
kemokin yanıtı

IRF 3 (İnterferon regulatuar faktör)  
latent bir sitoplazmik transkripsiyon faktörüdür



dsRNA bağımlı protein kinaz R (PKR)  
hücresel bir protein kinazdır

PKR

İnterferon



virüsle infekte hücrelerde protein  
sentezini azaltır

dsRNA bağımlı protein kinaz R (PKR)  
hücresel bir protein kinazdır

PKR

NS5A

NS5A

virüsle infekte hücrelerde protein  
sentezini azaltır

# Doğal bağışık yanıt

## NK Cells Cause Liver Injury and Facilitate the Induction of T Cell-Mediated Immunity to a Viral Liver Infection<sup>1</sup>

Zhang-Xu Liu, Sugantha Govindarajan, Shigefumi Okamoto, and Gunther Dennert<sup>2</sup>

NK cells are a relatively rare cell population in peripheral lymphoid organs but are abundant in the liver, raising questions as to their function in immune responses to infections of this organ. To investigate this, cell-mediated immunity to viral liver infection induced by a type 5, replication-defective, adenovirus was examined. It is shown that NK cells in the absence of T cells cause hepatocyte apoptosis in virus-infected livers associated with an increase in liver enzymes in the serum. Concomitantly, NK cells induce production of IFN- $\gamma$ , inhibitable by their elimination before infection. NK cells are shown to be necessary for optimal priming of virus-specific T cells, assessed by delayed-type hypersensitivity response and CTL activity, consistent with their ability to secrete IFN- $\gamma$ . The conclusion is drawn that NK cells mediate two important functions in the liver: they induce cell death in the infected organ and concomitantly stimulate the induction of T cell-mediated immunity by release of IFN- $\gamma$ . *The Journal of Immunology*, 2000, 164: 6480–6486.

E2

NK hücreleri karaciğerde yoğun olarak bulunur ve  
interferon- $\gamma$  salgılayarak dendritik hücrelerin NK hücreleri ile  
arasındaki etkileşimi düzenler ve aktivasyonunu bozar



# Adaptif bağışık yanıt Hücresel

## Different Clinical Behaviors of Acute Hepatitis C Virus Infection Are Associated with Different Vigor of the Anti-viral Cell-mediated Immune Response

Gabriele Missale,\* Roberto Bertoni,\* Vincenzo Lamonaca,\* Antonietta Valli,\* Marco Massari,<sup>‡</sup> Cristina Mori,\* Maria Grazia Rumi,<sup>§</sup> Michael Houghton,<sup>||</sup> Franco Fiaccadori,\* Carlo Ferrari\*

*\*Cattedra Malattie Infettive, Università di Parma, e Divisione Malattie Infettive e Immunopatologia Virale, Azienda Ospedaliera di Parma, 43100, Parma; <sup>§</sup>Divisione Malattie Infettive, Azienda Ospedaliera di Reggio Emilia, 42100, Reggio Emilia; <sup>‡</sup>Cattedra di Medicina Interna, Università di Milano, I.R.C.C.S. Ospedale Policlinico, 20122 Milano, Italy; <sup>||</sup>Chiron Corporation, Emeryville, California 94608-2916*

Spesifik HCV T lenfosit yanıtının yoğunluğu ve sürekliliğinin HCV infeksiyonunun seyrinde çok önemli olduğu kabul edilmektedir.

Erken, kuvvetli, poliklonal ve birden çok viral epitopa karşı multispesifik CD4 ve CD8 yanıtı, viral temizlenme ile ilişkilidir.



## Science commentary: Th1 and Th2 responses: what are they?

Cytokines are the hormonal messengers responsible for most of the biological effects in the immune system, such as cell mediated immunity and allergic type responses. Although they are numerous, cytokines can be functionally divided into two groups: those that are proinflammatory and those that are essentially anti-inflammatory but that promote allergic responses.

lular response in utero). The fetus can switch on an immune response early in pregnancy, and because pregnancy is chiefly a Th2 situation, babies tend to be born with Th2 biased immune responses. These can be switched off rapidly postnatally under the influence of microbiological exposure or can be enhanced by early exposure to allergens. It is also hypothesised that those

### Th1 sitokinler



IFN- $\gamma$ , TGF- $\beta$ , IL-2



Hücresel bağışık yanıt  
Sitotoksik CD8 T lenfosit

İyileşme

### Th2 sitokinler



IL-4, 5, 6, 10, 13



Antikor stimülasyonu  
B lenfositler

Kronikleşme

# Adaptif bağışık yanıt Hücresel

Persistan infeksiyonu olan hastalarda periferik kanda CD4 T lenfosit yanıtının, CD8 lenfosit yanıtına göre daha az olduğu bildirilmiştir

Periferik kanda ve karaciğerde daha kuvvetli poliklonal sitotoksik T lenfosit (CTL) yanıtı daha düşük HCV RNA düzeyleri ile korele bulunmuştur

# Humoral Immune Response in Acute Hepatitis C Virus Infection

**Dale M. Netski,<sup>1</sup> Tim Mosbruger,<sup>1</sup> Erik Depla,<sup>6</sup> Geert Maertens,<sup>6</sup> Stuart C. Ray,<sup>1,4</sup> Robert G. Hamilton,<sup>1,3</sup> Stacy Roundtree,<sup>1</sup> David L. Thomas,<sup>1,2</sup> Jane McKeating,<sup>5</sup> and Andrea Cox<sup>1,4</sup>**

Departments of <sup>1</sup>Medicine, <sup>2</sup>Epidemiology, <sup>3</sup>Clinical Immunology, and <sup>4</sup>Oncology, Johns Hopkins Medical Institutions, Baltimore, Maryland; <sup>5</sup>University of Birmingham, Birmingham, United Kingdom; and <sup>6</sup>Innogenetics NV, Gent, Belgium

HCV zarf proteinlerine karşı antikorlar, yapısal olmayan proteinlere karşı gelişen antikorlardan daha geç ve daha düşük titrelerde ortaya çıkarlar.

NS3 bölgesine karşı gelişen anti c-33, anti 22c / antikapsid antikorları, NS4 spesifik antikorlar, E1 ve E2 antikorları

# Adaptif bağışık yanıt

## Humoral

AntiHCV antikorlarının nötralizasyon yeteneği tartışmalıdır ve koruyucu etkisi kanıtlanmamıştır.

HCV spesifik antikorların gelişimi, iyileşme ile korelasyon göstermez. İmmün kompetan bireyler neredeyse istisnasız antikor yanıtı geliştirmelerine karşın, çoğunda infeksiyon kronikleşir.

# Neutralizing antibody response during acute and chronic hepatitis C virus infection

C. Logvinoff\*, M. E. Major<sup>†</sup>, D. Oldach<sup>‡</sup>, S. Heyward<sup>‡</sup>, A. Talal<sup>§</sup>, P. Balfe<sup>¶</sup>, S. M. Feinstone<sup>†</sup>, H. Alter<sup>||</sup>, C. M. Rice\*, and J. A. McKeating<sup>\*,\*\*</sup>

\*Center for the Study of Hepatitis C, The Rockefeller University, 1230 York Avenue, New York, NY 10021; <sup>†</sup>Laboratory of Hepatitis Viruses, Division of Viral Products, Center for Biologics Evaluation and Research, Food and Drug Administration, Bethesda, MD 20892; <sup>‡</sup>Institute for Human Virology, University of Maryland School of Medicine, Baltimore, MD 21201; <sup>§</sup>Department of Medicine and Center for the Study of Hepatitis C, Weill Medical College of Cornell University, New York, NY 10021; <sup>¶</sup>Division of Infectious Diseases, Columbia University, New York, NY 10032; and <sup>||</sup>Department of Transfusion Medicine, Clinical Center, National Institutes of Health, Bethesda, MD 20892

Nötralizan antikor yanıtı HCV viremisinin sonlandırılması için mutlak gerekli değildir.

Konjenital agamaglobulinemisi olan hastalarda iyileşme bildirilmiştir.

# Adaptif bağışık yanıt

## Humoral

Zarfin yüksek oranda glikozile olması, antikor aracılı nötralizasyona karşı koruyucu olabilir.

Zarf proteininin HVR-1 bölgesi, immünolojik bir yanlış hedef olarak davranır ve iyi korunmuş bir alan olan reseptör bağlayan ligandı antikor atağından korur.

HCV sekans varyasyonu, yeni bir quasispecies varyantı oluşturarak, varolan hücresel ve humoral immün yanıtın etkisiz kalmasına yol açabilir.

# Adaptif bağışık yanıt

## Humoral

Sonuç olarak, humoral immün yanıt, bazı HCV varyantlarını nötralize edebilir hastalığın ciddiyetini ve rekürrensini azaltabilir.

Ancak, vireminin ortadan kaldırılması için yeterli olmadığı gibi, şart da değildir.



Spesifik antikörlerin ve hücresel bağışık  
yanıtın varlığına karşın HCV persistansı hangi  
mekanizmalarla gelişmektedir??

# Acute Hepatitis C Virus Infection: Diagnosis, Pathogenesis, Treatment

*Florin Alexandru Căruntu<sup>1,2</sup>, Loredana Benea<sup>2</sup>*

1) “Carol Davila” University of Medicine and Pharmacy, and Infectious Diseases Institute “Prof. Dr. Matei Balș”. 2) Infectious Diseases Institute “Prof. Dr. Matei Balș” Bucharest

Viral hepatit patogenezinde immün sistem hem infeksiyonun kontrolü ve iyileşmeye hem de kronik infeksiyon ve siroz gelişimine katkıda bulunur.

Akut HCV infeksiyonunda hepatosit hasarı, viral replikasyonla değil, konak immün yanıtının gelişimiyle koreledir.

Belirgin hepatosit hasarı olmaksızın kronik HCV replikasyonu görülebilir.

Kronik HCV infeksiyonu olan hastalarda immünsüpresyon, HCV RNA düzeylerinde yükselme ve karaciğer fonksiyonlarında düzelme ile ilişkili bulunmuştur.

Hepatositlerdeki HCV infeksiyonu hücre ölümüne yol açmaz.

# Bağışık yanıt aracılı karaciğer hasarı

HCV SİTOPATİK DEĞİLDİR

HCV ilişkili hepatosit hasarı, konak immün yanıtı tarafından oluşturulmaktadır.

■ R E V I E W

## Immunopathogenesis in hepatitis C virus cirrhosis

**Ulrich SPENGLER and Jacob NATTERMANN**

Department of Internal Medicine I, University of Bonn, Sigmund-Freud-Strasse 25, Bonn, Germany

Kronik hepatit C patogenezindeki temel süreç, immün aracılı inflamatuvar hasardır.

Karaciğerdeki lenfomononükleer infiltrasyon esas olarak CD8 T lenfositler tarafından oluşturulur.

■ R E V I E W

## Immunopathogenesis in hepatitis C virus cirrhosis

**Ulrich SPENGLER and Jacob NATTERMANN**

Department of Internal Medicine I, University of Bonn, Sigmund-Freud-Strasse 25, Bonn, Germany

HCV spesifik CTL perforin, Fas/Fas ligand ve TNF yolakları üzerinden etkin bir öldürme gerçekleştirirler.

Yüksek intrahepatik proinflamatuvar sitokin düzeyleri, portal inflamasyon ve fibrozis ile ilişkilidir.



Journal of Hepatology 38 (2003) S38–S53

Journal of  
Hepatology

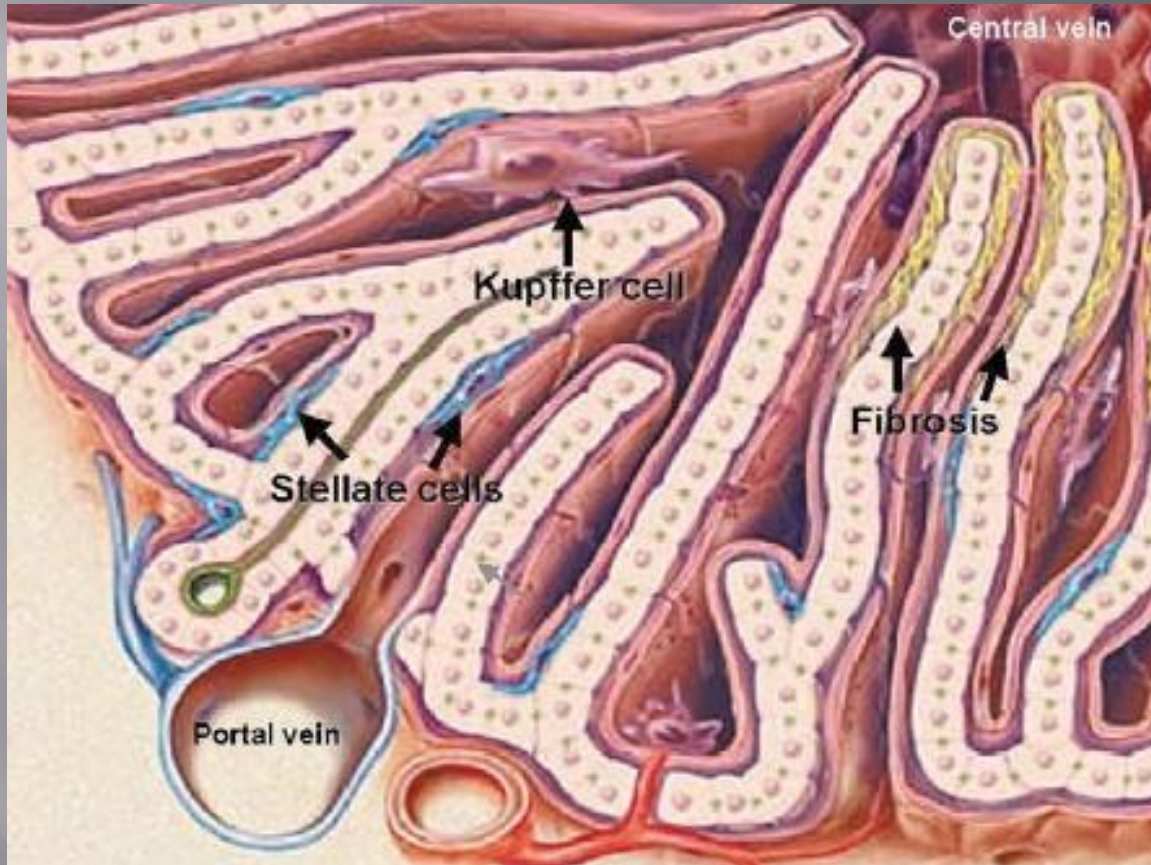
[www.elsevier.com/locate/jhep](http://www.elsevier.com/locate/jhep)

## Liver fibrosis – from bench to bedside

Scott L. Friedman\*

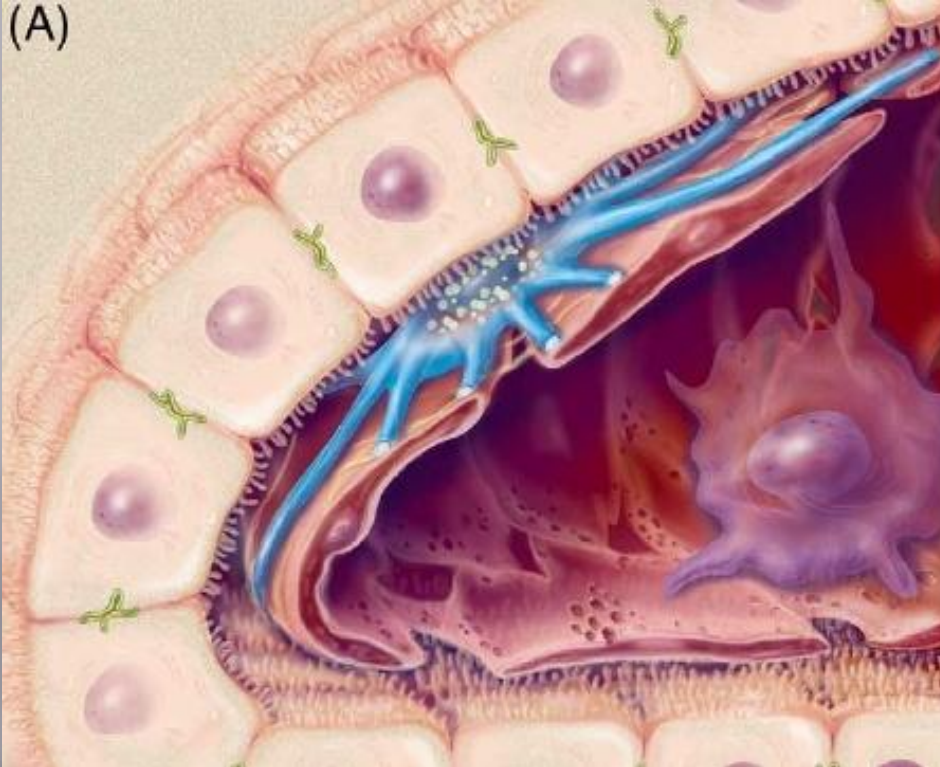
*Division of Liver Diseases, P.O. Box 1123, Mount Sinai School of Medicine, 1425 Madison Ave. Room 1170F, New York, NY 10029, USA*

Kronik hepatit C seyrinde görülen hepatik fibrozis, süregiden karaciğer hasarına karşı gelişen tipik bir yara iyileşmesi sürecidir.



Normal karaciğerde hepatosit kordonları, pencereli endotelial duvar ile çevrilmiştir. Hepatik stellat hücreleri Disse aralığında, Kupffer hücreleri intrasinüsoidal yerleşimlidir.





CD8 ve CD4 lenfositler  
Sitokinler  
Kemokinler  
Reaktif O<sub>2</sub> metabolitleri



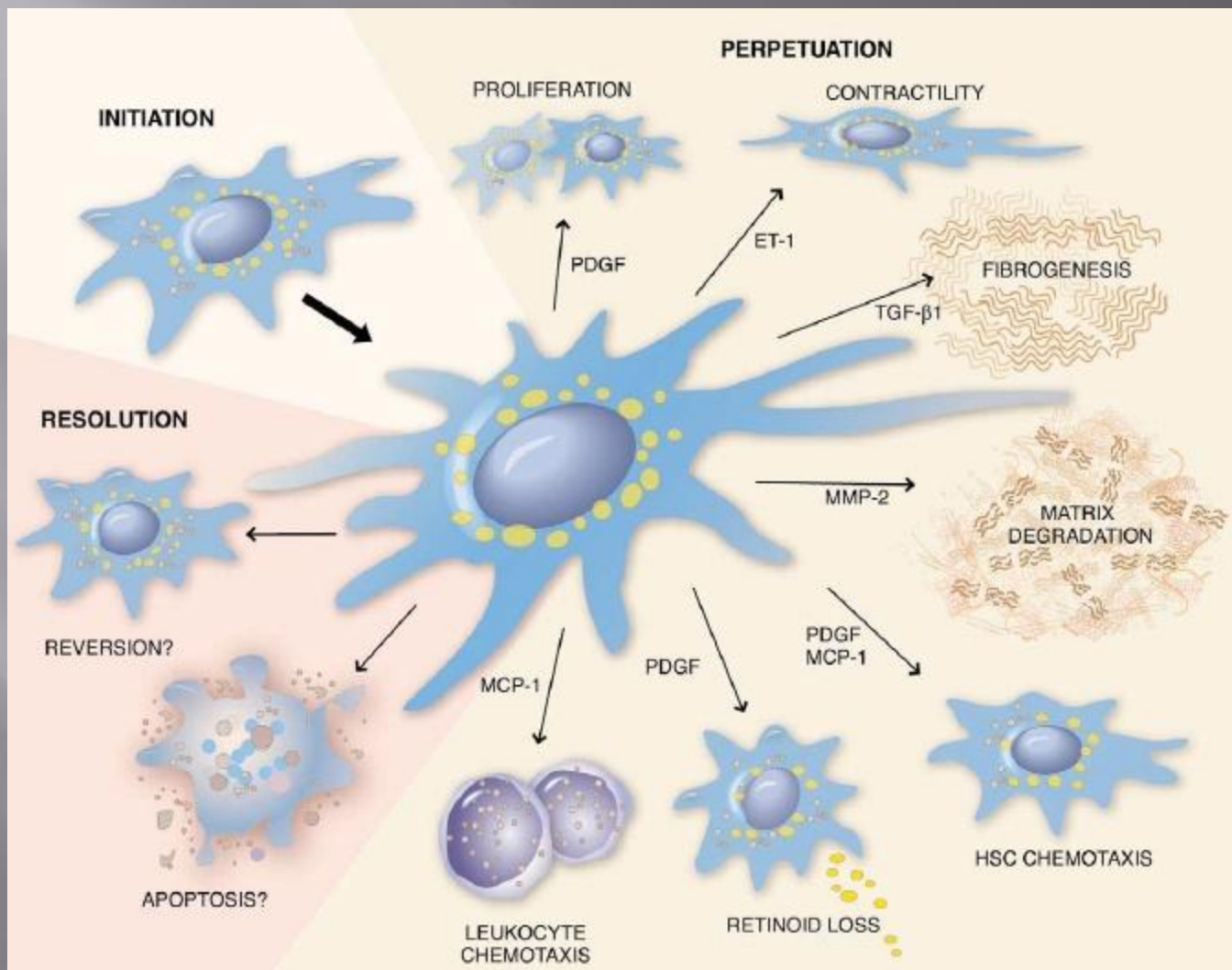
Stellat hücre  
aktivasyonu



Stellat hücre  
aktivasyonu ve  
proliferasyonu



Fibriler matriks birikimi





Journal of Hepatology 38 (2003) S38–S53

Journal of  
Hepatology

[www.elsevier.com/locate/jhep](http://www.elsevier.com/locate/jhep)

## Liver fibrosis – from bench to bedside

Scott L. Friedman\*

*Division of Liver Diseases, P.O. Box 1123, Mount Sinai School of Medicine, 1425 Madison Ave. Room 1170F, New York, NY 10029, USA*

Karaciğer fibrozisi, hepatositler ve sinüsoidal endotelyum arasındaki subendotelyal boşluktaki ekstrasellüler matrikste, kollajen ve diğer proteinlerin birikimi ve ortadan kaldırılmasının söz konusu olduğu, dinamik ve kompleks sürecin net sonucudur.

■ R E V I E W

## Immunopathogenesis in hepatitis C virus cirrhosis

**Ulrich SPENGLER and Jacob NATTERMANN**

Department of Internal Medicine I, University of Bonn, Sigmund-Freud-Strasse 25, Bonn, Germany

Histolojik olarak kronik hepatit C interface hepatit, köprüleşme nekrozu, portosentral ve portoportal fibröz septalarla seyreden nekroinflamatuvar süreçle karakterizedir.