

Научная статья

УДК 577.112.6:616.36-002:578.891

DOI: 10.31857/S0869769824020074

EDN: ldifvh

Значимость обнаружения антител к отдельным В-эпитопам оболочечных белков вируса гепатита С

М.Д. Стучинская✉, Л.И. Николаева, Н.Г. Шевченко,
Г.В. Сапронов, Н.С. Шастина

Мая Денисовна Стучинская

аспирант

МИРЭА - Российский технологический университет, Москва, Россия

младший научный сотрудник

НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи, Москва, Россия

mayastaya@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0001-8544-7482>

Людмила Ивановна Николаева

доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник

НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи, Москва, Россия

l.i.nikolaeva@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0002-1323-5568>

Надежда Григорьевна Шевченко

младший научный сотрудник

НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи, Москва, Россия

dr.nadya@inbox.ru

<https://orcid.org/0000-0002-2486-4554>

Георгий Витальевич Сапронов

кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник

НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи, Москва, Россия

доцент

РМАНПО, Москва, Россия

g_sapronov@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0002-2154-2904>

Наталья Сергеевна Шастина

кандидат химических наук, доцент

МИРЭА - Российский технологический университет, Москва, Россия

inosit@yandex.ru

<https://orcid.org/0000-0001-8382-7262>

Аннотация. Вирус гепатита С (ВГС) – гепатотропный вирус, хроническая инфекция которого может привести к печеночной недостаточности, циррозу печени и гепатоцеллюлярной карциноме. Два вирусных оболочечных гликопротеина E1 и E2 опосредуют проникновение вируса

в клетки хозяина и являются мишенями для вируснейтрализующих антител, играющих важную роль в ограничении инфекции. Цель исследования – проанализировать наличие антител к пептидам, воспроизводящим В-клеточные эпитопы оболочечных белков ВГС, для оценки их возможной ассоциации с элиминацией вируса. Синтез трех пептидов из оболочечных белков вируса проводился твердофазным методом. Аминокислотные последовательности пептидов соответствовали участкам 244–259 и 313–324 белка Е1 и 395–411 белка Е2. Иммунореактивность пептидов была проанализирована методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием сывороток крови 63 участников с острым и хроническим гепатитом С. По результатам ИФА установлено, что антитела выявляются у 55,6% участников (ошибка выборки 6,3%). Если титр антител к анализируемым пептидам был 1:80 или превышал его, то большинство участников завершали терапию с достижением устойчивого вирусологического ответа или наблюдался острый гепатит с элиминацией вируса. Этот факт может свидетельствовать о потенциальной значимости наличия антител к анализируемым В-клеточным эпитопам оболочечных белков ВГС в титре 1:80 или выше для позитивного исхода острой фазы инфекции и терапии препаратами прямого противовирусного действия.

Ключевые слова: синтетические пептиды, В-клеточные эпитопы, оболочечные белки вируса гепатита С, иммунореактивность

Для цитирования: Стучинская М. Д., Николаева Л. И., Шевченко Н. Г., Сапронов Г. В., Шастина Н. С. Значимость обнаружения антител к отдельным В-эпитопам оболочечных белков вируса гепатита С // Вестн. ДВО РАН. 2024. № 2. С. 70–79.
<http://dx.doi.org/10.31857/S0869769824020074>, EDN: Idifvh

Original article

Significance of antibody detection to individual B-epitopes of envelope proteins of hepatitis C virus

M.D. Stuchinskaya, L.I. Nikolaeva, N.G. Shevchenko,
G.V. Sapronov, N.S. Shastina

Maya D. Stuchinskaya

Graduate Student

MIREA - Russian Technology University, Moscow, Russia

Junior Researcher

N.F. Gamaleya National Research Center for Epidemiology and Microbiology,
Moscow, Russia

mayastaya@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0001-8544-7482>

Lyudmila I. Nikolaeva

Doctor of Sciences in Biology, Leading Researcher

N.F. Gamaleya National Research Center for Epidemiology and Microbiology,
Moscow, Russia

l.i.nikolaeva@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0002-1323-5568>

Nadezhda G. Shevchenko

Junior Researcher

N.F. Gamaleya National Research Center for Epidemiology and Microbiology,
Moscow, Russia

dr.nadya@inbox.ru

<https://orcid.org/0000-0002-2486-4554>

Georgy V. Sapronov

Candidate of Sciences in Medicine, Senior Researcher

N.F. Gamaleya National Research Center for Epidemiology and Microbiology,

Moscow, Russia

Associat Professor

Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Moscow, Russia

g-sapronov@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0002-2154-2904>

Natalya S. Shastina

Candidate of Sciences in Chemistry, Associat Professor

MIREA - Russian Technology University, Moscow, Russia

inosit@yandex.ru

<https://orcid.org/0000-0001-8382-7262>

Abstract. Hepatitis C virus (HCV) is hepatotropic viruses, causing chronic infection, which can lead to liver failure, cirrhosis, and hepatocellular carcinoma. The two viral envelope glycoproteins E1 and E2 mediate the virus entry into host cells, and they are the targets of virus-neutralizing antibodies, which play an important role in limiting infection. The aim of the study was to analyze infected human antibody response to peptides reproducing B-cell epitopes of HCV envelope proteins to assess their possible association with virus elimination. The synthesis of three peptides from envelope proteins was carried out by the solid phase method. The immunoreactivity of the peptides was studied with blood sera from 63 participants with viral hepatitis C. The amino acid sequences of the peptides corresponded to region 244–259 and 313–324 of the E1 protein and 395–411 of the E2 protein. Peptide immunoreactivity was assessed by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) using blood sera of 63 participants with acute and chronic hepatitis C. According to the results of ELISA, it was found that antibodies were detected in 55,6% (sampling error 6,3%) of participants. If the presence of an antibody titer was 1:80 or higher to the analyzed peptides, then the most participants completed therapy with a sustained virological response or acute hepatitis with the virus elimination. That may indicate the potential significance of the presence of antibodies to B-cell epitopes of HCV envelope proteins in this titer of high for a positive outcome of acute hepatitis C and therapy with direct antiviral drugs.

Keywords: synthetic peptides, B-cell epitopes, envelope proteins of hepatitis C virus, immunoreactivity

For citation: Stuchinskaya M.D., Nikolaeva L.I., Shevchenko N.G., Sapronov G.V., Shastina N.S. Significance of antibody detection to individual B-epitopes of envelope proteins of hepatitis C virus. *Vestnik of the FEB RAS*. 2024;(2):70–79. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.31857/S0869769824020074>, EDN: Idifvh

Введение

Вирусный гепатит С – парентеральная инфекция, этиологическим агентом которой является РНК-содержащий вирус гепатита С (ВГС), принадлежащий к роду *Hepacivirus* семейства *Flaviviridae*. Гепатит С является основной причиной тяжелых инвалидизирующих заболеваний печени. Эксперты ВОЗ считают, что ежегодно около 2 млн людей заражаются ВГС и около 500 тыс. умирают от последствий хронического гепатита С (ХГС) [1]. Острый гепатит С (ОГС) может протекать скрытно, в безжелтушной форме, и приблизительно в 25% случаев завершаться самопроизвольной элиминацией ВГС [2]. Соответственно, в 75% случаев развивается ХГС, который может привести к циррозу печени (ЦП) и гепатоцеллюлярной карциноме.

ВГС – сферический оболочечный вирус, геном которого представлен одноцепочечной РНК положительной полярности, состоящей примерно из 9600 нуклеотидов. Вирусный геном имеет одну уникальную открытую рамку считывания и кодирует полипротеин, содержащий около 3030 аминокислотных остатков (а.о.). Из последнего путем ферментативного протеолиза выщепляются структурные белки (нуклеокапсидный и оболочечные E1, E2) и неструктурные полипептиды (p7, NS2, NS3, NS4a, NS4b, NS5a и NS5b).

Оболочечные гликопротеины E1 и E2 взаимодействуют с рецепторами, участвуют в процессе проникновения вируса в клетки хозяина и являются основными мишенями вируснейтрализующих антител (ВНА), специфичных к ВГС [3, 4]. Ранее было показано, что появление ВНА на 48-й неделе после заражения сопровождалось последующей элиминацией вируса на 65-й неделе, что подтверждает значительную роль ВНА в контроле над ВГС-инфекцией [5]. После элиминации вируса титр ВНА быстро снижался. Напротив, у пациентов с последующим развитием ХГС наблюдалось отсутствие или низкий титр ВНА во время острой фазы инфекции и с нарастанием величины титра во время ХГС [6].

Большинство ВНА нацелены на эпитопы в гликопротеине E2 [7]. Изучение ВНА против E1 осложнено тем, что правильный процессинг и фолдинг E1 в отсутствие E2 не происходит [8]. Тем не менее несколько исследований продемонстрировали, что две основные области E1 являются мишенями для ВНА. Первая область представляет собой N-концевую часть белка (а.о. 192–207), которую распознают человеческие моноклональные антитела (H111), проявляющие слабую вируснейтрализующую активность [9]. Вторая иммуногенная область (а.о. 313–327), распознаваемая двумя моноклональными антителами (IGH505 и IGH526) с широкой нейтрализующей специфичностью, расположена на C-конце эктодомена E1 и является иммунодоминантной [10].

В-клеточные эпитопы гликопротеина E2 изучены более интенсивно, чем аналогичные эпитопы гликопротеина E1. В белке E2 выявлены иммунодоминантные антигенные участки AS412 (а.о. 412–423) и AS434 (а.о. 434–446), антигенная область AP3 и гипервариабельная область 1 (HVR1) (а.о. 384–411) [11]. Одной из главных мишеней ВНА во время острой и хронической инфекции является область HVR1 [12]. Ранее было показано, что на пептид, соответствующий N-концевому эпитопу HVR1, наиболее часто выявляются антитела у больных острым гепатитом С, а на пептид, соответствующий C-концевому эпитопу HVR1, – у больных ХГС [13].

Цель настоящего исследования – выявить антитела к пептидам, воспроизводящим консервативные В-клеточные эпитопы оболочечных белков E1 и E2 ВГС, и оценить их возможную значимость для прогноза элиминации вируса.

Материалы и методы исследований

Синтез пептидов осуществляли твердофазным методом путем наращивания пептидной цепи на полимерном носителе Ванга по Fmoc-протоколу в ручном режиме карбодиимидным способом и методом активированных эфиров, используя Fmoc-аминокислоты и их производные L-конфигурации (Merck, Германия) и стандартный протокол проведения синтетического цикла, закрытия непрореагировавших аминогрупп и отщепления пептида от полимерного носителя. Полноту реакции сочетания проверяли тестом Кайзера. Очистку пептидов осуществляли обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографией, структуру синтезированных пептидов подтверждали масс-спектрометрией MALDI-TOF (Bruker, Германия).

Пептид I имел первичную структуру AVTPTVATRDGKLPAT и воспроизводил иммуногенный В-эпитоп, соответствующий аминокислотным позициям 244–259 белка E1. Пептид II имел первичную структуру ITGHRMAWDMMM, соответствовал аминокислотным позициям 313–324 белка E1 и воспроизводил консервативный иммунодоминантный В-эпитоп. Пептид III имел консенсусную первичную структуру HTASGFASFLSPGPKQN, соответствовал аминокислотным позициям белка E2 395–411 и воспроизводил C-концевой В-эпитоп первого гипервариабельного региона [14].

Процедуру иммуноферментного анализа осуществляли в 96-луночных планшетах MediSorb (Nunc, Дания), сорбируя пептиды в лунки в концентрации 30 мкг/1 мл в 0,05 М карбонатно-бикарбонатном буфере (рН 9,5) на протяжении 16 ч при 4 °С. После закрытия участков неспецифического связывания бычьим сывороточным альбумином (1 мг/мл; Sigma, США) в 0,05 М фосфатно-солевом буфере (рН 7,4) в лунки вносили сыворотки в разведении 1:10. Дальнейшие этапы выполняли как описано ранее [13]. Результаты ИФА регистрировали, используя спектрофотометр StatFax 3200 (Awareness Technology, США), измеряя оптическую плотность (ОП) в двухволновом режиме: 450 нм (основной фильтр) и 650 нм (референс-фильтр). Результаты ИФА образцов представляли в виде коэффициента позитивности (КП), который рассчитывали, как отношение ОП образца к пороговой величине ОП. Последнюю величину определяли как сумму средней арифметической величины ОП от 10 отрицательных образцов и двухкратной стандартной ошибки среднего.

Сыворотки крови от 63 участников (30 мужчин и 33 женщины) с вирусным гепатитом С (без ВИЧ-инфекции и наличия вирусных гепатитов иной этиологии) были собраны в период с 2015 по 2019 г. Проведение данного исследования выполнено с соблюдением норм Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации и одобрено этическим комитетом Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования. Участники исследования дали информированное согласие.

Группу с острым гепатитом С составили 8 человек в возрасте 24–32 года (мужчин – 3, женщин – 5). Группа без лечения сформирована из 25 участников в возрасте 36–57 лет (мужчин – 17, женщин – 8). У 4 участников стадии фиброза составили F3 и F4, у остальных – от F0 до F2. Участники, получавшие терапию препаратами прямого противовирусного действия (ППВД), вошли в третью группу ($n = 30$), диапазон возраста 25–64 (мужчин – 19, женщин – 11). Стадии фиброза F3 и F4 у 4 участников, от F0 до F2 – у остальных.

Стадии фиброза печени выявляли методом транзиентной фиброэластометрии на приборе Fibroscan FS502 (Echosens, Франция). Для оценки степени выраженности фиброза использовали шкалу METAVIR.

С целью подтверждения диагноза и фазы инфекции выявляли геном вируса методом ОТ-ПЦР («РеалБест РНК HCV», качественный или количественный вариант, Вектор-Бест, РФ) и специфические антитела методом ИФА («РекомбиБест анти-ВГС IgM» и «Бест анти-ВГС – спектр», Вектор-Бест, РФ).

Статистическую обработку полученных данных выполняли, используя пакет программ Statistica v. 10.0 (StatSoft Inc., Tulsa, США). Количественные показатели представляли как среднее арифметическое \pm стандартная ошибка среднего. При наличии нормального распределения для оценки достоверности различий использовали t критерий Стьюдента, при ином распределении применяли χ^2 критерий, в случае необходимости использовали тест с поправкой Йетса и точный метод Фишера. Различия между сравниваемыми величинами считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты исследований

Среди проанализированных 63 образцов (от 63 пациентов) антитела к пептидам были обнаружены в 35 пробах, что соответствует частоте обнаружения $55,6 \pm 6,3\%$. На рис. 1 представлена частота выявления антител к трем пептидам.

Частота обнаружения антител к отдельным трем пептидам была без значимых различий, т. е. ярко выраженного доминирования какого-либо пептида не отмечено.

Следующей задачей исследования был анализ частоты обнаружения антител в трех группах участников. Результаты представлены в табл. 1.

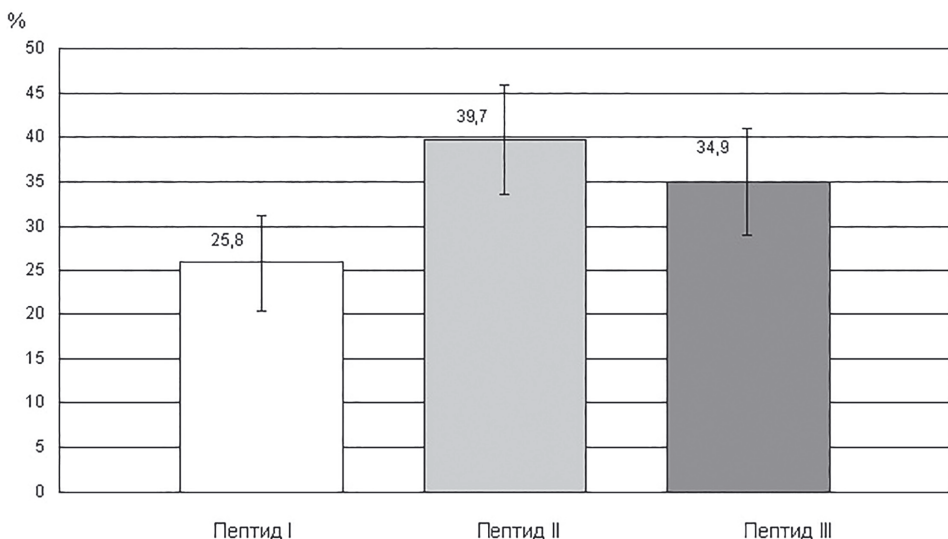


Рис. 1. Частота обнаружения (в %) антител к трем пептидам с учетом ошибки выборки

Таблица 1

Частота обнаружения и титры антител в группах участников

| Параметры | ОГС (<i>n</i> = 8) | ХГС | | Достоверность различий |
|-----------------------------------|---|-----------------------------------|--|--------------------------------|
| | | без терапии (<i>n</i> = 25) | с терапией (<i>n</i> = 30) | |
| Частота обнаружения, <i>n</i> (%) | 6 (75,0 ± 16,4) | 11 (44,0 ± 10,1) | 18 (60,0 ± 9,1) | <i>P</i> > 0,05 для всех групп |
| Титр доминирующий минорные | 1:10 у 66,7% 1:20 и 1:80 в 2 образцах | 1:10 у 72,7% 1:20 в 3 образцах | 1:10 у 77,8% 1:20–1:80 в 4 образцах | <i>P</i> > 0,05 для всех групп |

Надо отметить, что во всех группах преобладающим титром был 1:10. Участники с ОГС чаще всего имели антитела к анализируемым пептидам. Однако, учитывая, что эта группа была самой малочисленной, данное заключение нуждается в подтверждении. Участники с ОГС были взяты на мониторинговое наблюдение, у двух из них доказана элиминация вируса длительным отсутствием РНК (3–4 года). У одного из этих двух участников титры антител к трем пептидам были 1:80 (I) и 1:160 (II и III). У второго участника были обнаружены антитела только к II и III пептиду в титре 1:10, а также к нуклеокапсидному антигену в этом же титре (в последнем случае использовали сертифицированную тест-систему «Бест анти-ВГС – спектр»). На протяжении всего периода наблюдения у данного участника не обнаруживались антитела к антигенам NS3, NS4a, NS4b, NS5a, NS5b, что нетипично для ОГС. Вероятно, сказались иммунологические особенности данного участника.

В трех образцах участников без терапии были выявлены антитела к пептидам в титре 1:20, причем в каждом образце только к одному из пептидов. У участников, получавших ПППД, в шести образцах антитела были обнаружены в титрах от 1:20 до 1:80.

Следующей задачей был анализ взаимосвязи титра антител с результатом терапии. На рис. 2 представлены данные по частоте выявления антител у участников, достигших устойчивого вирусологического ответа (УВО), и участников, завершивших терапию без него.

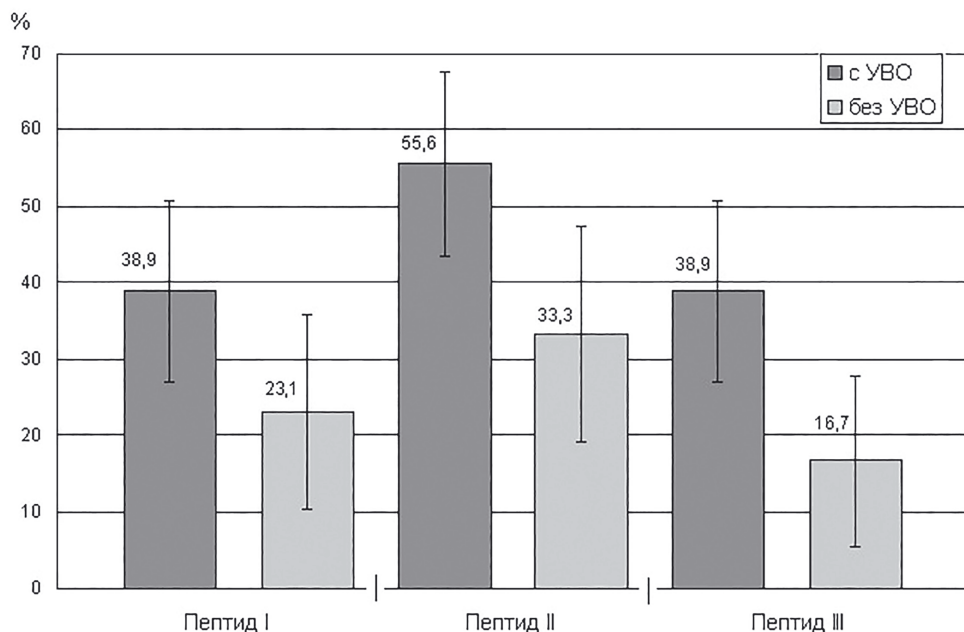


Рис. 2. Частота обнаружения (в %) антител к трем пептидам у участников с разным результатом лечения

Достоверных различий в частоте выявления антител к какому-либо одному из трех пептидов у участников, достигших УВО или завершивших терапию без него, нет.

Следующей задачей был анализ ассоциации между достижением УВО и наличием антител к одному или нескольким пептидам одновременно. Результаты этого анализа представлены в табл. 2.

Таблица 2

Анализ взаимосвязи между достижением УВО и наличием антител к пептидам

| Наличие антител | Участники с УВО (n = 18) | Участники без УВО (n = 12) | Достоверность различий |
|-------------------------|-----------------------------|-------------------------------|------------------------|
| К одному пептиду, % (n) | 5,6 ± 5,5 (1) | 66,7 ± 15,1 (8) | P = 0,0086 |
| К двум пептидам, % (n) | 38,9 ± 11,8 (7) | 0 (0) | P = 0,0242 |
| К трем пептидам, % (n) | 16,7 ± 9,0 (3) | 8,3 ± 8,3 (1) | P = 0,6315 |

Как следует из данных табл. 2, наличие антител только к одному пептиду характерно для участников, не достигших УВО (достоверная ассоциация); к двум пептидам – для участников, достигших УВО (достоверная ассоциация). Логично было бы ожидать, что наличие антител к трем пептидам тоже должно быть ассоциировано с достижением УВО, но малочисленность группы и тот факт, что участник, имеющий антитела к трем пептидам, не достиг УВО из-за того, что прервал курс терапии, нарушило взаимосвязь.

Относительно титров антител к пептидам обнаружены интересные закономерности. В исследовании участвовали 10 человек с ХГС в цирротической стадии, 3 из них достигли УВО, 7 – нет. У 6 из 7 участников без УВО титр антител составил 1:10, а у 1 участника титр к пептиду I был 1:80. Этот участник почти достиг УВО (РНК ВГС отсутствовала на 5-м месяце после окончания терапии, но на 6-м месяце она была обнаружена). У 1 участника с УВО титр антител к пептиду II был 1:80, и у него уже 5 лет

не выявляется РНК. Можно предположить, что титр 1:80 ассоциирован с достижением УВО или элиминацией вируса при ОГС. Вероятно, правомерно и противоположное заключение: наличие антител в титре меньше 1:80 ассоциировано с недостижением УВО и хронизацией ВГС в острой фазе инфекции.

Обсуждение результатов

Синтезированный пептид I воспроизводит область белка E1 с а.о. 244–259, которую ранее A. Zibert с соавт. оценили как иммунологически значимую с частотой обнаружения антител от 11 до 46% в зависимости от групп инфицированных участников [15]. Ранее было показано, что область 242–261 а.о. белка E1 участвует в связывании ВГС с клетками HepG2 [16]. В аминокислотной последовательности 244–260 а.о. белка E1 ВГС есть сходство с участком 344–362 а.о. оболочечного белка E вируса клещевого энцефалита, еще одного представителя семейства Flaviviridae [17]. В нашем исследовании антитела к пептиду I выявлялись в $25,8 \pm 5,4\%$ образцов, и это самый низкий результат относительно двух других пептидов, что свидетельствует о невысокой иммуногенности этой области белка E1.

Пептид II моделирует область В-клеточного эпитопа, имеющего высококонсервативную аминокислотную последовательность, антитела к которой вызывают межгенотипную перекрестную нейтрализацию [18]. Анализируя область 311–330 а.о. (близкую к нашему пептиду II), A. Zibert с соавт. показали, что антитела к ней выявляются в зависимости от групп инфицированных участников с частотой 39–58% [14]. В нашем исследовании антитела к пептиду II были выявлены наиболее часто среди всех трех пептидов – в $39,7 \pm 6,2\%$ образцов.

Пептид III представлял собой вариант консенсусной последовательности С-концевой области HVR1. Близкую область (384–395 а.о.) анализировали A. Zibert с соавт., которые показали, что 39% сывороток инфицированных имеют антитела к этой области [15]. Наши данные близки результату A. Zibert с соавт. Известно, что участок 396–407 а.о. входит в область контакта с рецептором CD81 и на него образуются ВНА [19].

Таким образом, два из трех проанализированных пептидов воспроизводили участки, на которые образуются ВНА, один – участок связывания с гепатомной клеточной линией HepG2. Поэтому данные пептиды могут рассматриваться как кандидаты на включение в разработку вакцины от гепатита С. Наличие антител к пептидам может быть прогностическим признаком. Наличие антител только к одному пептиду было характерно для пациентов, не достигших УВО ($P = 0,0086$). Если выявлялись антитела к двум пептидам, то этот факт был ассоциирован с достижением УВО ($P = 0,0242$). Еще одно потенциальное значение наличия антител к этим пептидам заключается в том, что, если антитела к ним имеют титр 1:80 и выше, то это позитивный прогностический маркер для терапииПППД и элиминации ВГС в острой фазе инфекции.

Заключение

В представленном исследовании показано, что три химически синтезированных пептида из оболочечных белков E1 и E2 ВГС выявляли антитела у участников как с острым, так и с хроническим гепатитом С. Около половины образцов сывороток ($55,6 \pm 6,3\%$) имели антитела к этим пептидам, но в большинстве проб титры были низкими – 1:10. Наиболее высокий титр составил 1:160 и был обнаружен у участника с ОГС, у которого гепатит завершился элиминацией вируса. Все участники с титром 1:80 (кроме одного) завершили терапиюПППД с достижением УВО. Чаще всего антитела регистрировались к пептиду II, воспроизводящему консервативный иммунодоминант-

ный В-эпитоп белка Е1. Данные три пептида могут рассматриваться как кандидаты на включение в разработку вакцины от гепатита С. Вероятно, наличие антител к этим пептидам в титре 1:80 и выше имеет позитивное прогностическое значение для оценки исхода ОГС и терапииПППД. Наличие антител только к одному пептиду (любому) было характерно для участников, завершивших терапию без УВО. Если были выявлены антитела к двум пептидам, то участники достоверно чаще достигали УВО.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. World Health Organization. Global Hepatitis Report, 2017 / World Health Organization. Geneva, Switzerland, 2017. 83 p. URL: <https://www.who.int/hepatitis/publications/global-hepatitis-report2017/en/> (accessed on 20.03.2023).
2. Wang R., Suzuki S. et al. Induction of broadly neutralizing antibodies using a secreted form of the hepatitis C virus E1, E2 heterodimer as a vaccine candidate // PNAS. 2022. Vol. 119, N11.
3. Colpitts C.C., Tsai P.L., Zeisel M.B. Hepatitis C virus entry: An intriguingly complex and highly regulated process // Int. J. Mol. Sci. 2020. Vol. 21. P. 2091.
4. Sepulveda-Crespo D., Resino S., Martinez I. Hepatitis C virus vaccine design: focus on the humoral immune response // J. Biomed. Sci. 2020. Vol. 27. P. 78.
5. Raghuraman S., Park H., Osburn W.O., Winkelstein E., Edlin B.R., Rehermann B. Spontaneous clearance of chronic hepatitis C virus infection is associated with appearance of neutralizing antibodies and reversal of T-cell exhaustion // J. Infect. Dis. 2012. Vol. 205, N5. P. 763–771.
6. Pestka J.M., Zeisel M.B., Bläser E. et al. Rapid induction of virus-neutralizing antibodies and viral clearance in a single-source outbreak of hepatitis C // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 2007. Vol. 104, N14. P. 6025–6030.
7. Quadeer A.A., Louie R.H.Y., McKay M.R. Identifying immunologically-vulnerable regions of the HCV E2 glycoprotein and broadly neutralizing antibodies that target them // Nat. Com. 2019. Vol. 10. P. 2073.
8. Cocquerel L., Meunier J.C., Op de Beeck A., Bonte D., Wychowski C., Dubuisson J. Coexpression of hepatitis C virus envelope proteins E1 and E2 in cis improves the stability of membrane insertion of E2 // J. Gen. Virol. 2001. Vol. 82, № 7. P. 1629–1635.
9. Keck Z.Y., Sung V.M.H., Perkins S. et al. Human monoclonal antibody to hepatitis C virus E1 glycoprotein that blocks virus attachment and viral infectivity // J. Virol. 2004. Vol. 78, N13. P. 7257–7263.
10. Mesalam A.A., Desombere I., Farhoudi A. et al. Development and characterization of a human monoclonal antibody targeting the N-terminal region of hepatitis C virus envelope glycoprotein E1 // Virology. 2018. Vol. 514. P. 30–41.
11. Tzarum N., Wilson I.A., Law M. The neutralizing face of hepatitis C virus E2 envelope glycoprotein // Front. Immunol. 2018. Vol. 9. P. 1315.
12. Farci P., Shimoda A., Wong D. et al. Prevention of hepatitis C virus infection in chimpanzees by hyperimmune serum against the hypervariable region 1 of the envelope 2 protein // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 1996. Vol. 93, N26. P. 15394–15399.
13. Николаева Л.И., Петрова Е.В., Финогенова М.П. Антитела к оболочечным белкам Е1 и Е2 у людей, инфицированных вирусом гепатита С // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2006. Т. 1, № 26. С. 37–41.
14. Sobolev B.N., Poroikov V.V., Olenina L.V., Kolesanova E.F., Archakov A.I. Comparative analysis of amino acid sequences from envelope proteins isolated from different hepatitis C virus variants: possible role of conservative and variable regions // J. Viral. Hepat. 2000. Vol. 7, N5. P. 368–374.
15. Zibert A., Kraas W., Ross R.S., Meisel H., Lechner S., Jung G., Roggendorf M. Immunodominant B-cell domains of hepatitis C virus envelope proteins E1 and E2 identified during early and late time points of infection // J. Hepatol. 1999. Vol. 30, N2. P. 177–184.
16. Garcia J.E., Puentes A., Suárez J., López R., Vera R., Rodríguez L.E., Ocampo M., Curtidor H., Guzman F., Urquiza M., Patarroyo M.E. Hepatitis C virus (HCV) E1 and E2 protein regions that specifically bind to HepG2 cells // J. Hepatol. 2002. Vol. 36, N2. P. 254–262.
17. Garry R.F., Dash S. Proteomics computational analyses suggest that hepatitis C virus E1 and pestivirus E2 envelope glycoproteins are truncated class II fusion proteins // Virology. 2003 Vol. 307, N2. P. 255–265.
18. Giang E., Dorner M., Prentoe J.C., Dreux M., Evans M.J., Bukh J., Rice C.M., Ploss A., Burton D.R., Law M. Human broadly neutralizing antibodies to the envelope glycoprotein complex of hepatitis C virus // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 2012. Vol. 109, N16. P. 6205–6210.
19. Owsianka A., Clayton R.F., Loomis-Price L.D., McKeating J.A., Patel A.H. Functional analysis of hepatitis C virus E2 glycoproteins and virus-like particles reveals structural dissimilarities between different forms of E2 // J. Gen. Virol. 2001. Vol. 82, pt. 8. P. 1877–1883.

REFERENCES

1. World Health Organization. Global Hepatitis Report, 2017 / World Health Organization. Geneva, Switzerland; 2017. 83 p. URL: <https://www.who.int/hepatitis/publications/global-hepatitis-report2017/en/> (accessed on 20.03.2023).
2. Wang R., Suzuki S., et al. Induction of broadly neutralizing antibodies using a secreted form of the hepatitis C virus E1, E2 heterodimer as a vaccine candidate. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2022;119(11).
3. Colpitts C.C., Tsai P.L., Zeisel M.B. Hepatitis C virus entry: An intriguingly complex and highly regulated process. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020; 21(6):2091.
4. Sepulveda-Crespo D., Resino S., Martinez I. Hepatitis C virus vaccine design: focus on the humoral immune response. *Journal of Biomedical Science*. 2020;27:78.
5. Raghuraman S., Park H., Osburn W.O., Winkelstein E., Edlin B.R., Rehermann B. Spontaneous clearance of chronic hepatitis C virus infection is associated with appearance of neutralizing antibodies and reversal of T-cell exhaustion. *The Journal of Infectious Diseases*. 2012;205(5):763–771.
6. Pestka J.M., Zeisel M.B., Bläser E. et al. Rapid induction of virus-neutralizing antibodies and viral clearance in a single-source outbreak of hepatitis C. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2007;104(14):6025–6030.
7. Quadeer A.A., Louie R.H.Y., McKay M.R. Identifying immunologically-vulnerable regions of the HCV E2 glycoprotein and broadly neutralizing antibodies that target them. *Nature Communications*. 2019;10(1):2073.
8. Cocquerel L., Meunier J.C., Op de Beeck A., Bonte D., Wychofski C., Dubuisson J. Coexpression of hepatitis C virus envelope proteins E1 and E2 in cis improves the stability of membrane insertion of E2. *The Journal of General Virology*. 2001;82(7):1629–1635.
9. Keck Z.Y., Sung V.M., Perkins S. et al. Human monoclonal antibody to hepatitis C virus E1 glycoprotein that blocks virus attachment and viral infectivity. *Journal of Virology*. 2004;78(13):7257–7263.
10. Mesalam A.A., Desombere I., Farhoudi A. et al. Development and characterization of a human monoclonal antibody targeting the N-terminal region of hepatitis C virus envelope glycoprotein E1. *Virology*. 2018;514:30–41.
11. Tzarum N., Wilson I.A., Law M. The neutralizing face of hepatitis C virus E2 envelope glycoprotein. *Frontiers in Immunology*. 2018;9:1315.
12. Farci P., Shimoda A., Wong D. et al. Prevention of hepatitis C virus infection in chimpanzees by hyperimmune serum against the hypervariable region 1 of the envelope 2 protein. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1996;93(26):15394–15399.
13. Nikolaeva L.I., Petrova E.V., Finogenova M.P. Antibodies to envelope proteins E1 and E2 in people infected with hepatitis C virus. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2006;1(26):37–41. (In Russ.).
14. Sobolev B.N., Poroikov V.V., Olenina L.V., Kolesanova E.F., Archakov A.I. Comparative analysis of amino acid sequences from envelope proteins isolated from different hepatitis C virus variants: possible role of conservative and variable regions. *Journal of Viral Hepatitis*. 2000;7(5):368–374.
15. Zibert A., Kraas W., Ross R.S. et al. Immunodominant B-cell domains of hepatitis C virus envelope proteins E1 and E2 identified during early and late time points of infection. *Journal of Hepatology*. 1999;30(2):177–184.
16. Garcia J.E., Puentes A., Suárez J. et al. Hepatitis C virus (HCV) E1 and E2 protein regions that specifically bind to HepG2 cells. *Journal of Hepatology*. 2002;36(2):254–262.
17. Garry R.F., Dash S. Proteomics computational analyses suggest that hepatitis C virus E1 and pestivirus E2 envelope glycoproteins are truncated class II fusion proteins. *Virology*. 2003;307(2):255–265.
18. Giang E., Dorner M., Prentoe J.C. et al. Human broadly neutralizing antibodies to the envelope glycoprotein complex of hepatitis C virus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2012;109(16):6205–6210.
19. Owsianka A., Clayton R.F., Loomis-Price L.D., McKeating J.A., Patel A.H. Functional analysis of hepatitis C virus E2 glycoproteins and virus-like particles reveals structural dissimilarities between different forms of E2. *Journal of General Virology*. 2001;82(pt. 8):1877–1883.