

Natalia Barbara Kubisa^{1,2*}, Marek Radkowski¹

¹Zakład Immunopatologii Chorób Zakaźnych i Pasożytniczych, Warszawski Uniwersytet Medyczny

²Studium Medycyny Molekularnej

Wpłynęło w styczniu 2015 r.

1. Epidemiologia zakażeń HGV/GBV-C i HIV. 2. Współzakażenie HGV/GBV-C i HIV jako wynik wspólnych dróg zakażeń. 3. Analiza porównawcza budowy wirusów. 4. Kliniczne aspekty zakażenia. 5. Patogeneza współzakażenia HGV/GBV-C i HIV. 5.1. Tropizm. 5.2. Rola E2 i NS5A HGV/GBV-C w przebiegu zakażenia HIV. 5.3. Wpływ HGV/GBV-C na poziom ekspresji receptorów CCR5 i CXCR4 oraz wydzielanie cytokin. 6. Wpływ leczenia interferonem na zakażenie HGV/GBV-C. 7. HAART u pacjentów współzakażonych HGV/GBV-C i HIV. 8. Podsumowanie

HGV/GBV-C and HIV coinfection: epidemiology, pathogenesis and clinical consequences of infection

Abstract: Recent studies showed that HGV/GBV-C infection may exert a beneficial effect on the course of HIV (human immunodeficiency virus) infection in coinfecting patients. It was found that CD4+ cell number is higher and progression to AIDS (acquired immune deficiency syndrome) is slower in coinfecting patients as compared to HIV infected subjects. HGV/GBV-C infection is not associated with hepatitis, but can be responsible for development of some lymphoproliferative disease. HGV/GBV-C and HIV share common features, in particular: they are tropic for cells of the immune system, their genetic material consist of RNA and both circulate as *quasispecies*. HGV/GBV-C and HIV are transmitted through infected blood, sexually and vertically. The proposed mechanisms of HGV/GBV-C influence on HIV infection are based on the same tropism to immune cells and direct competition on the cellular level. It was observed that HGV/GBV-C can affect cytokine level, reduce expression of CCR5 and CXCR4, E2 and NS5A HGV/GBV-C proteins have inhibitory effect on HIV replication.

Currently, there is no specific treatment directed against HGV/GBV-C infection, however, it is possible to analyze results of antiviral treatment in case of patients coinfecting with HGV/GBV-C, HCV or HIV. HAART (high-activity antiretroviral therapy) and interferon α therapy are commonly used in these patients, but the effect of antiviral therapy on HGV/GBV-C remains unclear.

1. Epidemiology of HGV/GBV-C and HIV infection. 2. HGV/GBV-C and HIV coinfection as a result of common routes of transmission. 3. Comparative analysis of the structure of viruses. 4. Clinical aspects of infection. 5. Pathogenesis of HGV/GBV-C and HIV coinfection. 5.1. Tropism. 5.2. Role of E2 and NS5A HGV/GBV-C in the course of HIV infection. 5.3. Influence of HGV/GBV-C on CCR5 and CXCR4 expression and cytokines level. 6. Influence of interferon therapy on HGV/GBV-C infection. 7. HAART in patients with HGV/GBV-C and HIV coinfection. 8. Summary

Słowa kluczowe: HAART, HCV, HGV/GBV-C, HIV

Key words: HAART, HCV, HGV/GBV-C, HIV

1. Epidemiologia zakażeń HGV/GBV-C i HIV

W połowie lat dziewięćdziesiątych badania prowadzone przez niezależne grupy doprowadziły do odkrycia dwóch nieznanych patogenów. Początkowo nowo odkryte izolaty, nazwane HGV oraz GBV-C, nie były uznawane za tożsame [34, 63], jednak późniejsze badania wykazały wysoką homologię ich sekwencji i uznano, że jest to ten sam wirus [73]. Badania epidemiologiczne wskazują na różną, zależną od regionu geograficznego, częstość zakażenia HGV/GBV-C wynoszącą od 0,9%, w Japonii [35] do nawet 9%, w Brazylii [32]. W Polsce odsetek osób zakażonych wynosi ok. 3,2% [18].

Wirus nabytego niedoboru odporności (*human immunodeficiency virus* – HIV) został odkryty kilkanaście lat przed HGV/GBV-C. Szacuje się, że na świecie zakażonych HIV jest 30 milionów ludzi [86]. Ostatnio udostępnione dane wskazują, że w Polsce w latach 1985–2011 zakażenie HIV zdiagnozowano u 15 196 osób [41]. Konsekwencją zakażenia HIV jest

rozwoj zespołu nabytego niedoboru odporności (*acquired immunodeficiency syndrome* – AIDS) [44, 71].

HGV/GBV-C nie jest wirusem pierwotnie hepatotropowym, a u osób zakażonych z reguły nie obserwuje się uszkodzenia wątroby. Stwierdzono natomiast tropizm wirusa do komórek układu immunologicznego [77] i możliwość występowania związku pomiędzy zakażeniem HGV/GBV-C a rozwojem chorób limfoproliferacyjnych: chłoniaka nieziarniczego (*non-Hodgkin's lymphoma*), ziarnicy złośliwej (*Hodgkin's disease*) oraz szpiczaka mnogiego (*multiple myeloma*); [45, 76]. Wspólną cechą HGV/GBV-C i HIV jest zatem tropizm względem komórek układu immunologicznego [21, 22].

Z powodu braku jednoznacznie potwierdzonej chorobotwórczości HGV/GBV-C nie wykonuje się obecnie rutynowych badań, w tym dawców krwi, pod kątem obecności tego wirusa. Na rynku nie są dostępne testy przesiewowe w kierunku obecności przeciwciał anty-E2 HGV/GBV-C [70]. W przeciwieństwie do testów wykrywających obecność HGV/GBV-C, testy

* Autor korespondencyjny: Zakład Immunopatologii Chorób Zakaźnych i Pasożytniczych, Warszawski Uniwersytet Medyczny, ul. Pawińskiego 3c, 02-106 Warszawa; tel. 22 57 20 709; e-mail: nkubisa@wum.edu.pl

w kierunku wykrycia zakażenia HIV są szeroko stosowane zarówno w stacjach krwiodawstwa, jak też są dostępne w placówkach medycznych [41].

2. Współzakażenie HGV/GBV-C i HIV jako wynik wspólnych dróg zakażeń

Główną drogę transmisji HGV/GBV-C stanowi krew, a ryzyko zakażenia jest najwyższe u pacjentów dializowanych, osób przyjmujących dożylnie środki odurzające, oraz u których przetaczano krew [5]. W przypadku zakażeń będących konsekwencją transfuzji, prawdopodobieństwo rozwoju HGV/GBV-C wzrasta wraz z ilością przetoczonych jednostek krwi [74]. Do zakażenia wirusem może dojść również drogą wertykalną [67] oraz drogą seksualną co potwierdzają badania przeprowadzone wśród partnerów osób zakażonych [50, 58, 85]. W przypadku HIV, drogi zakażenia są w zasadzie identyczne, jednak największe znaczenie w przenoszeniu tego patogenu ma droga seksualna [44]. Ze względu na wspólne drogi przenoszenia obserwuje się częste współzakażenia HGV/GBV-C i HIV [11, 77], jak również zakażenia wirusem zapalenia wątroby typu B (HBV) [47] i wirusem zapalenia wątroby typu C (HCV) [4].

Od 15 do 40% osób zakażonych HIV-1 jest również zakażona HGV/GBV-C [13, 61]. Koinfekcja HIV może sprzyjać rozwojowi przewlekłego zakażenia HGV/GBV-C oraz poprzez upośledzenie odpowiedzi immunologicznej zwiększać prawdopodobieństwo nadkażenia tym wirusem [12]. Poziom wirerii HIV i leczenie przeciw-wirusowe HAART (*highly active antiretroviral therapy*) nie ma jednak znaczenia w rozwoju zakażenia [74].

Wyniki badań wskazują, że ryzyko transmisji HGV/GBV-C drogą wertykalną jest uzależnione od poziomu wirerii tego wirusa [33, 43] i jest najwyższe w przypadku wysokich wartości. Co ciekawe, sugeruje się, że ryzyko zakażenia HIV drogą wertykalną jest mniejsze u dzieci, które uległy zakażeniu HGV/GBV-C [67]. Jednak według Supapol i współautorów [67] wysoka wirerii HGV/GBV-C u matki jest związana nie tylko z większym ryzykiem transmisji tego wirusa, ale także może korelować z niższym poziomem RNA HIV. Dlatego też, dzieci matek współzakażonych HGV/GBV-C i HIV są w mniejszym stopniu narażone na zakażenie HIV niż w przypadku kobiet bez zakażenia HGV/GBV-C [67]. Nie można jednak wykluczyć istnienia innych, niż zakażenie HGV/GBV-C, czynników wpływających na obniżenie transmisji HIV [67].

3. Analiza porównawcza budowy HGV/GBV-C i HIV

Punktem wyjścia do badań nad współzakażeniem HGV/GBV-C i HIV były badania prowadzone wśród pacjentów z koinfekcją pokrewnym do HGV/GBV-C

wirusem – HCV. HGV/GBV-C należy tak jak HCV do rodziny *Flaviviridae*, a obydwie wirusy cechuje duże podobieństwo struktury i sekwencji genomów [70]. Ze względu na zbieżność w budowie i cyklu replikacyjnym tych wirusów sugerowano podobny efekt współzakażenia HGV/GBV-C z HIV, jak u pacjentów zakażonych HCV i HIV. W przypadku pacjentów zakażonych HIV, u których stwierdza się także obecność HCV, wykazano znacząco szybszą progresję do AIDS [25].

Genom HGV/GBV-C, tak jak HCV składa się z pojedynczej, dodatnio spolaryzowanej nici RNA. Jednak w przeciwieństwie do HCV, nie zawiera sekwencji kodującej rdzeniowe białko C [62]. Wykazano, że białko C może pełnić funkcje immunomodulacyjne, sygnalizacji komórkowej i prawdopodobnie ma potencjał onkogeny [62]. Jego brak w genomie HGV/GBV-C może więc być jedną z przyczyn braku patogenności takiej jak w przypadku HCV [62].

Geny strukturalne (E1 oraz E2) znajdują się na 5' końcu genomu HGV/GBV-C, a niestrukturalne odpowiedzialne za proces replikacji (NS2, NS3, NS4b, NS5a i NS5b) na 3' [30]. Wielkość genomu w zależności od izolatu waha się od 9103 do 9392 nukleotydów [34]. Analizy genomu tego wirusa sugerują występowanie regionów hiperzmiennych, tak jak w przypadku HCV [51]. HGV/GBV-C łączy z HCV nie tylko schemat replikacji przebiegający z fazą nici negatywnej, ale również brak integracji z genomem zakażonej komórki [87].

W przypadku HIV wykazano, że należy do rodziny *Retroviridae* (innej niż HGV/GBV-C i HCV) i jego genom składa się z dwóch identycznych nici RNA o dodatniej polarności. Genom HIV jest zbliżony wielkością do HGV/GBV-C i wynosi ok. 9200 nukleotydów oraz stwierdzono w nim obecność powtarzalnych sekwencji – LTR (*long terminal repeat*) na obu jego końcach [57]. Wyróżniono 9 genów, które są odpowiedzialne za produkcję kluczowych dla procesu replikacji enzymów takich jak odwrotna transkryptaza, proteazy i endonukleazy. Replikacja HIV zachodzi z etapem syntezy komplementarnej do RNA cząsteczki DNA, a następnie wytworzenie drugiej nici DNA. Następnie, w przeciwieństwie do HGV/GBV-C, może dojść do integracji materiału genetycznego HIV z genomem zakażonej komórki [57].

Wykazano do tej pory obecność sześciu genotypów HGV/GBV-C, których występowanie jest związane z regionem geograficznym [39]. W przypadku HIV obserwuje się obecność dwóch typów: HIV-1 i HIV-2 oraz trzech grup HIV-1: O, N i najbardziej liczną M [44]. Większość prowadzonych badań dotyczy HIV-1 ze względu na jego częstsze występowanie oraz obserwowaną szybszą progresję zakażenia w porównaniu do HIV-2 [31, 46].

Podobnie jak w przypadku HCV i HIV, również HGV/GBV-C cechuje się występowaniem tzw. pseudo-

typów (*quasispecies*) w izolatach wirusa pobranych od jednego pacjenta. Stwierdzono, że to zjawisko jest związane z niską dokładnością replikacji, która sprzyja powstawaniu nowych, licznych wariantów wirusa. Występowanie w przypadku zakażenia HCV lub HIV wielu wariantów genetycznych może sprzyjać unikaniu odpowiedzi immunologicznej przez te patogeny [21, 26, 53, 78]. Potwierdzenie występowania zjawiska *quasispecies* w przebiegu zakażenia HGV/GBV-C umożliwiło lepsze poznanie jego miejsc replikacji [21].

4. Kliniczne aspekty koinfekcji HGV/GBV-C i HIV

Większość dostępnych badań dotyczy wpływu HGV/GBV-C na przebieg zakażenia HIV-1, ale pojawiają się też doniesienia dotyczące HIV-2 [19]. Wykazano, że u pacjentów współzakażonych HGV/GBV-C i HIV obserwuje się wolniejszy przebieg i późniejszy rozwój pełnoobjawowego AIDS oraz dłuższą przeżywalność niż u osób z monoinfekcją HIV. Dłuższy okres przeżycia pacjentów współzakażonych HGV/GBV-C i HIV jest niezależny od czynników takich jak wiek oraz płeć [71, 75]. W części badań potwierdzono również, że mają oni wyższą liczbę komórek CD4+ niż pacjenci bez zakażenia HGV/GBV-C [71, 75]. Wyeliminowanie HGV/GBV-C u tych pacjentów może prowadzić do pogorszenia przebiegu zakażenia HIV, czyli do szybszego spadku liczby komórek CD4+ i rozwoju pełnoobjawowego AIDS [71, 75]. Jednak niektóre badania sugerują, że przyczyną eliminacji zakażenia HGV/GBV-C jest zmniejszenie się rezerwuaru komórek docelowych dla tego wirusa w następstwie zakażenia HIV [75].

Nie wszystkie badania jednoznacznie potwierdzają „korzystny” wpływ HGV/GBV-C na przebieg zakażenia HIV lub wykluczają jakikolwiek związek pomiędzy HGV/GBV-C a liczbą komórek CD4+ [71]. I tak, w badaniach Quiros-Roldan i współautorów nie wykazano związku między zakażeniem HGV/GBV-C, liczbą komórek CD4+ i rozwojem AIDS u pacjentów zakażonych obydwojema wirusami [48]. Nie wykazano także związku między poziomem wirēmii HGV/GBV-C a liczbą komórek CD4+ [71].

Sugeruje się, że do utrzymania się zakażenia HGV/GBV-C może być konieczna odpowiednia minimalna liczba komórek CD4+, w których może replikować HGV/GBV-C [75]. Ponieważ wysokiej wirēmii HIV towarzyszy mniejsza liczba tych komórek, w konsekwencji można obserwować niższy poziom replikacji HGV/GBV-C [75]. U pacjentów zakażonych HIV-2 nie obserwuje się wpływu HGV/GBV-C na przebieg zakażenia. Można to wytłumaczyć łagodniejszym przebiegiem zakażenia HIV-2, z niską wirēmią oraz mniejszym uszkodzeniem komórek CD4+ [19].

5. Patogeneza współzakażenia HGV/GBV-C i HIV

Wyjaśnienie mechanizmu „korzystnego” wpływu HGV/GBV-C na przebieg zakażenia HIV było przedmiotem licznych badań [42, 54, 65, 71, 79, 83]. Zaproponowano w nich szereg hipotez, przy czym większość z nich zakładała wpływ wirusa na funkcję układu immunologicznego. Analizowano tropizm obu wirusów [16, 22], oddziaływanie między białkami wirusa [20, 82] oraz rolę zakażenia w ekspresji niektórych cytokin [80, 84]. Wskazywano też na wpływ HGV/GBV-C na spadek ekspresji receptorów Fas [37] oraz aktywację szlaku interferonowego [23].

Już wczesne badania sugerowały związek między obydwojema wirusami, a komórkami, w których dochodzi do ich replikacji. Przypuszczano, że wirusy mogą na siebie oddziaływać w sposób pośredni oraz bezpośredni, ze względu na to samo miejsce replikacji [16, 21, 22]. Udowodniono bezpośredni, hamujący działanie białek E2 oraz NS5A HGV/GBV-C na replikację HIV [54, 83], prawdopodobnie głównie poprzez wpływ na proces wnikania HIV do komórek. Wskazuje się na modulujący wpływ HGV/GBV-C na zmianę profilu niektórych cytokin: RANTES (*regulated on activation, normal T-cell expressed and secreted*), MIP-1 α (*macrophage inflammatory protein-1 α*), MIP-1 β (*macrophage inflammatory protein-1 β*), SDF-1 (*stromal cell-derived factor 1*) oraz ekspresję receptorów CCR5 i CXCR4 [79], które uczestniczą w procesie zakażenia komórek CD4+ przez HIV. Zaobserwowano obniżoną ekspresję CCR5 u pacjentów z koinfekcją HGV/GBV-C i HIV w porównaniu do zakażonych tylko HIV [40, 84].

Badania kliniczne wskazują na związek pomiędzy HGV/GBV-C a aktywacją i proliferacją limfocytów T. W przebiegu zakażenia HIV obserwuje się przewlekłą aktywację komórek T, która sprzyja zwiększonej replikacji HIV i szybszemu rozwojowi AIDS [7, 65]. Stwierdzono jednak, że współzakażenie HGV/GBV-C może ograniczać nadmierną aktywację limfocytów T i zwiększać odsetek komórek naiwnych CD4+ i CD8+ [65]. Potwierdzono, że wirēmii HGV/GBV-C jest związana z niższą ekspresją markerów aktywacji limfocytów T oraz wzrostem liczby limfocytów podwójnie ujemnych (CD3+ CD4- CD8-) u pacjentów zakażonych HIV [3, 6, 7].

5.1. Tropizm HGV/GBV-C i HIV

Tropizm HIV jest szczegółowo poznany i wieloletnie badania wskazują przede wszystkim na limfocyty CD4+ i monocyty/makrofagi jako podstawowe miejsca replikacji [22]. Jednak stwierdzono obecność białek HIV także w komórkach endotelialnych, komórkach Kupffera, hepatocytach i innych [22]. W przypadku HIV możliwość wniknięcia wirusa do komórki docelowej jest związana z interakcją między wirusowym gp120,

a komórkowym receptorem CD4 oraz odpowiednimi koreceptorami dla poszczególnych szczepów. W zależności od rodzaju koreceptora wyróżniono wiążące się z CCR5 szczepy R5 wykazujące tropizm do monocytów/makrofagów i pierwotnych komórek CD4+, oraz szczepy X4 łączące się z CXCR4 do komórek CD4+ [82].

Jak wspomniano, nie potwierdzono hepatotropizmu HGV/GBV-C [24, 27], natomiast wskazuje się na jego limfotropizm [21]. Potwierdzają to badania wykazujące występowanie nici negatywnej RNA w komórkach układu immunologicznego, w szczególności w jednonądrzastych komórkach krwi obwodowej (PBMC); [15, 74]. Wykazano replikację wirusa w populacji komórek CD4+ i CD8+, w komórkach B [16] oraz w komórkach szpiku kostnego [21]. Badania ilościowe wykazały wyższy poziom RNA HGV/GBV-C w surowicy w porównaniu do tkanki wątrobowej, co również wskazuje na istnienie innych źródeł replikacji i uwalniania tego wirusa (w tym przypadku również sugeruje się PBMC); [56]. Możliwym miejscem pierwotnej i niezależnej replikacji od PBMC są komórki szpiku kostnego, co potwierdzono wykryciem negatywnej nici RNA HGV/GBV-C w tych komórkach [28, 49] oraz odmiennych wariantów molekularnych wirusa niewystępujących w PBMC (tzw. kompartmentalizacja); [21]. Jednak nie wszystkie badania potwierdzają, że wirus replikuje w PBMC [36].

5.2. Rola E2 i NS5A HGV/GBV-C w przebiegu zakażenia HIV

Główną funkcją białka E2 HGV/GBV-C jest wiązanie wirusa z wrażliwymi na zakażenie komórkami [59]. Badania *in vitro* wykazały, że dodanie tego białka do linii komórkowej Jurkat (ludzkie komórki T), powoduje spadek replikacji HIV w hodowlach wcześniej nadkażonych tym wirusem [83]. Dalsza analiza wykazała, że regionem E2 HGV/GBV-C odpowiedzialnym za ten efekt może być siedemnastoaminokwasowy fragment, a dokładnie sekwencja 276–292 [83].

Udowodniono wpływ białka E2 HGV/GBV-C na proces wnikania HIV do komórki. Wydaje się, że dwa krótkie peptydy pochodzące z N-terminalnego końca E2 pełnią istotną rolę podczas późnego etapu wnikania HIV, poprzez oddziaływanie z białkiem wirusa gp41 [20]. Możliwe też, że E2 wpływa na wzajemne oddziaływanie N-terminalnej i C-terminalnej części białka gp120 z gp41 HIV w trakcie wiązania z CD4 i prowadzi do zahamowania tego procesu [13].

Na poziom replikacji HIV może wpływać również NS5A HGV/GBV-C powodując obniżenie ekspresji białka CD4 i w konsekwencji ograniczając rozprzestrzenianie się HIV w układzie immunologicznym [82, 84]. Uważa się, że NS5A HGV/GBV-C może również modyfikować transkrypcję genów dla cytokin i chemokin i tym samym zwiększać uwalnianie SDF-1. Doświadczenia wykonane na linii komórkowej ludz-

kich limfocytów T wykazały, że dodawanie neutralizujących przeciwciał anti-SDF-1 do hodowli z ekspresją NS5A HGV/GBV-C tylko częściowo zniosło hamujący wpływ na replikację HIV. Wskazuje to na istnienie jeszcze innych mechanizmów działania NS5A HGV/GBV-C na replikację HIV [54, 81, 82]. Mechanizm działania białka HGV/GBV-C na przebieg zakażenia HIV może być w przyszłości wykorzystany do opracowania nowych terapii antyretrowirusowych [82].

5.3. Wpływ HGV/GBV-C na poziom receptorów CCR5 i CXCR4 oraz profil cytokin

Dużą wagę przypisuje się do możliwości wpływu HGV/GBV-C na przebieg zakażenia HIV poprzez modulację ekspresji receptorów powierzchniowych CCR5 oraz CXCR5. Naturalnymi ligandami dla CCR5 są RANTES, MIP-1 α i MIP-1 β , natomiast dla CXCR4 – SDF-1; [2]. W komórkach zakażonych HGV/GBV-C wykazano wzrost poziomu niektórych cytokin: RANTES, MIP-1 α , MIP-1 β , i SDF-1 co z kolei może prowadzić do ograniczenia dostępności receptorów dla HIV i w konsekwencji utrudnionego rozprzestrzeniania się HIV w układzie immunologicznym [79]. Wyniki prowadzonych do tej pory badań wykazują wpływ HGV/GBV-C na spadek ekspresji tych receptorów na powierzchni PBMC, w szczególności w komórkach CD4+ [84].

Mechanizm prowadzący do spadku ekspresji CCR5 i CXCR4 nie został do końca poznany. Wykazano, że E2 HGV/GBV-C oddziałuje z receptorem CD81 i prowadzi w konsekwencji do spadku ekspresji CCR5 na powierzchni komórki [40]. Wpływ replikacji HGV/GBV-C na dwa główne koreceptory wejścia HIV do komórki jest też przypuszczalnie związany z bezpośrednim działaniem reszty serynowej w pozycji 158 aa NS5A HGV/GBV-C [81].

Zaobserwowano, że pacjenci z współzakażeniem HGV/GBV-C i HIV prezentują często stosunkowo stabilny poziom cytokin limfocytów Th1 (*T helper cells*); (IL-2, IL-12), podczas gdy u pacjentów bez zakażenia HGV/GBV-C poziom tych cytokin znacząco maleje [42, 52]. Cytokiny produkowane przez limfocyty Th2 (IL-4 i IL-10) pozostają u pacjentów z koinfekcją na względnie stałym poziomie, natomiast u osób bez zakażenia HGV/GBV-C ekspresja IL-4 i IL-10 wzrasta. Te wyniki mają szczególne znaczenie w rozwoju AIDS, które cechuje się m.in. wzmożoną produkcją IL-4 i IL-10 [42,52].

Przypuszczalnie zakażenie HGV/GBV-C wpływa stabilizująco na profil cytokin Th1/Th2 spowalniając progresję zakażenia HIV [52, 55]. Potwierdziły to również badania *in vitro* w liniach komórkowych Jurkat, w których zakażenie HGV/GBV-C prowadziło do redukcji ekspresji mRNA dla kilku cytokin Th2: IL-4, IL-5, IL-10 i IL-13 [52, 83].

6. Wpływ leczenia interferonem na zakażenie HGV/GBV-C

Wpływ terapii przeciwwirusowej na zakażenie HGV/GBV-C lub jego eliminację można obserwować u pacjentów leczonych z powodu współzakażeń z HCV (leczonych interferonem, pegylowanym interferonem oraz rybawiryną). Brak jest natomiast danych dotyczących leczenia, które miałyby na celu eliminację samego zakażenia HGV/GBV-C.

Wysoka homologia sekwencji HGV/GBV-C z HCV mogłaby sugerować podobny efekt działania interferonu na oba wirusy. Jednak otrzymane do tej pory wyniki nie wskazują jednoznacznie, że stosowany w terapii przeciwwirusowej interferon- α wpływa na eradykację HGV/GBV-C. Przypuszczalnie może jedynie powodować spadek poziomu replikacji tego wirusa [29, 69]. Zaobserwowano też inny przebieg odpowiedzi pacjentów na leczenie interferonem. W przypadku HCV następuje nagły spadek wiremii, natomiast wiremii HGV/GBV-C obniża się stopniowo [72]. Interferon α podany w dużych dawkach ma wpływ na obniżenie replikacji HGV/GBV-C, ale stwierdzono iż nie jest to efekt długotrwały. Po pół roku od zakończenia terapii następuje zazwyczaj powrót do obserwowanego przed leczeniem poziomu replikacji [29].

Natomiast badania prowadzone przez Schwarze-Zander i współautorów [60] u pacjentów współzakażonych trzema wirusami: HGV/GBV-C, HCV i HIV, wykazały eliminację zakażenia HGV/GBV-C u 50% leczonych interferonem lub pegylowanym interferonem z rybawiryną. Zanik HGV/GBV-C RNA był częściej obserwowany u pacjentów z wyższą wyjściową liczbą komórek CD4+ [60]. Prawdopodobnie na eradykację HGV/GBV-C wpływa w tym przypadku nie tylko sama terapia, ale także pobudzenie mechanizmów nabytej odpowiedzi immunologicznej [60]. Sugeruje się, że odpowiedź na leczenie prawdopodobnie ma związek z białkiem NS5A HGV/GBV-C, które może zawierać region zbliżony do występującego w NS5A HCV – ISDR (*interferon sensitivity determinig region*). Występowanie tego regionu może wpływać na przetrwanie wirusa oraz umożliwia unikanie odpowiedzi immunologicznej [80].

7. HAART u pacjentów współzakażonych HGV/GBV-C i HIV

Celem terapii przeciwretrowirusowej jest zahamowanie replikacji HIV i umożliwienie odbudowy funkcji układu immunologicznego [65]. Jednak terapia antyretrowirusowa nie w pełni redukuje aktywację układu immunologicznego charakterystyczną dla zakażenia HIV [7]. Teoretycznie pozytywny wpływ HGV/GBV-C na przebieg zakażenia HIV-1 pozwalałby oczekiwać lepszych wyników HAART u osób z koinfekcją. Ta zależność nie zawsze znajduje potwierdzenie w obser-

wacjach [9]. W części publikacji wskazuje się na lepszy efekt HAART u osób współzakażonych HGV/GBV-C w postaci wyższej liczby komórek CD4+ i CD8+ i niższego poziomu RNA HIV niż u pacjentów zakażonych tylko HIV [52]. Stwierdzono, że wyższa liczba komórek CD8+ jest związana z występowaniem zarówno RNA HGV/GBV-C jak i przeciwciał skierowanych przeciwko temu wirusowi [52].

U pacjentów współzakażonych HGV/GBV-C, którzy otrzymują HAART oraz dodatkowo IL-2 zaobserwowano niższą liczbę komórek CD4+ w porównaniu do pacjentów tak samo leczonych, zakażonych tylko HIV. Wiadomo, że stosowanie IL-2 w terapii HIV z jednej strony sprzyja odbudowie układu immunologicznego, z drugiej może zwiększać replikację HIV w komórkach CD4+ [66]. W przypadku zakażenia HGV/GBV-C niektóre badania wskazują na hamujący wpływ IL-2 na replikację HGV/GBV-C, co może być istotne w przypadku pacjentów współzakażonych [17, 66].

Nie wszystkie badania wskazały wzrost skuteczności HAART u pacjentów z koinfekcją HGV/GBV-C. Obecnie stosowane, bardzo efektywne programy leczenia mogą maskować jakkolwiek wpływ HGV/GBV-C na przebieg zakażenia HIV [14]. Sprzeczne obserwacje dotyczące wpływu zakażenia HGV/GBV-C na HIV w tych grupach pacjentów tłumaczy się także wzrostem wiremii HGV/GBV-C w trakcie HAART i jej spadkiem w przypadku przerwania leczenia. Takie wyniki mogą sugerować bezpośredni wpływ HIV na replikację HGV/GBV-C, ale też mogą być wynikiem ograniczonego dostępu do komórek CD4+, w których dochodzi do replikacji obu wirusów [8]. A zatem brak różnic w odpowiedzi na HAART u pacjentów z i bez współzakażenia HGV/GBV-C można wytłumaczyć wpływem tej terapii na przebieg zakażenia HGV/GBV-C, w szczególności na poziom komórek CD4+ oraz replikację HIV [8, 9, 64, 68].

Niektóre badania wskazują również na inne czynniki wpływające na związek między zakażeniem HGV/GBV-C a HIV. Wiadomo, że komórki CD4+ i CD8+ zakażone HIV charakteryzują się zwiększoną ekspresją Fas, co w konsekwencji prowadzi do apoptozy i eliminacji tych komórek [37]. Można przypuszczać, że pozytywny wpływ HGV/GBV-C na przebieg zakażenia HIV ma związek ze spadkiem ekspresji Fas na powierzchni komórek układu immunologicznego. U pacjentów nieleczonych, współzakażonych HGV/GBV-C i HIV-1, obserwuje się znacząco mniejszą ekspresję Fas na limfocytach w porównaniu z pacjentami zakażonymi tylko HIV. Ta różnica nie występuje u pacjentów otrzymujących HAART. Spadek ekspresji Fas na limfocytach współzakażonych HGV/GBV-C i HIV-1 może mieć związek z bezpośrednim działaniem białka NS5A HGV/GBV-C albo ze zmianą poziomu ekspresji niektórych chemokin i cytokin: TNF α (*tumor necrosis factor α*), interferonu γ lub interferonu α [37].

U pacjentów z koinfekcją dodatkowo zaobserwowano silniejszą aktywację szlaku interferonowego w porównaniu do pacjentów bez zakażenia HGV/GBV-C [10]. Pobudzenie wydzielania endogennego interferonu może powodować silniejszą odpowiedź przeciwwirusową, a w konsekwencji osiągać lepsze wyniki terapii [10, 23, 38]. Według Lalle i współautorów koinfekcja z HGV/GBV-C pobudza wrodzoną odpowiedź przeciwwirusową na zakażenie HIV, aktywację interferonu γ , jak i genów odpowiedzi na interferon [23].

Ostatnio wykazano rolę genotypu HGV/GBV-C w odpowiedzi na leczenie antyretrowirusowe. Zaobserwowano obniżenie wiremii HIV oraz podwyższenie liczby komórek CD4+ u pacjentów współzakażonych genotypem 2b HGV/GBV-C i przyjmujących terapię antyretrowirusową [1]. Nie można jednak traktować genotypu HGV/GBV-C jako czynnika prognostycznego, a samo zakażenie tym wirusem nie musi mieć wpływu na odpowiedź na terapię antyretrowirusową [9].

8. Podsumowanie

Liczne badania wykazały, że HGV/GBV-C podobnie jak HIV może zakażać komórki układu immunologicznego. Podobne drogi przenoszenia zakażenia HGV/GBV-C i HIV powodują częste występowanie współzakażenia obydwojoma wirusami. Obserwacje kliniczne pacjentów z koinfekcją wykazały, że progresja uszkodzenia układu immunologicznego postępuje u nich wolniej niż u osób zakażonych tylko HIV. Ten pozytywny wpływ HGV/GBV-C na przebieg zakażenia HIV może mieć związek z tropizmem obu wirusów do tych samych komórek oraz spadkiem ekspresji receptorów CCR5 i CXCR4 przez białka HGV/GBV-C, a w konsekwencji obniżeniem replikacji HIV. Przeprowadzone badania nie wykazały natomiast jednoznacznie czy występowanie współzakażenia HGV/GBV-C wpływa pozytywnie na skuteczność terapii antyretrowirusowej

Podsumowując, zakażenie HGV/GBV-C nie jest uważane za czynnik prognostyczny przebiegu choroby u osób zakażonych HIV. Stanowi jednak frapujący model do badań klinicznych i podstawowych oddziaływań między tymi wirusami. Możliwa rola HGV/GBV-C w rozwoju chorób limfoproliferacyjnych może skłaniać do dalszych badań nad patogennością tego wirusa, zwłaszcza u osób z zaburzeniami odporności, i działaniem leków przeciwwirusowych.

Piśmiennictwo

- Alcade R., Nishiya A., Casseb J., Fonseca L. A., Duarte A.J.: Prevalence and distribution of the GBV-C/HGV among HIV-1 infected patients under anti-retroviral therapy. *Virus Res.* **151**, 148–152 (2010)
- Amara A., Gall S.L., Schwartz O., Salamero J., Montes M., Loetscher P., Arenzana-Seisdedos F.: HIV coreceptor downregulation as antiviral principle: SDF-1alpha-dependent internalization of the chemokine receptor CXCR4 contributes to inhibition of HIV replication. *J. Exp. Med.* **186**, 139–146 (1997)
- Baggio-Zappia G.L., Barbosa Ade J., Brunialti M.K., Salomao R., Granato C.F.: Influence of GB virus C on IFN-gamma and IL-2 production and CD38 expression in T lymphocytes from chronically HIV-infected and HIV-HCV-co-infected patients. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* **106**, 662–669 (2011)
- Barusruk S., Urwijitaroon Y.: High prevalence of HGV coinfection with HBV or HCV among northeastern Thai blood donors. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health*, **37**, 289–293 (2006)
- Basaras M., Arrese E., Cabrera F., Ezpeleta C., Cisterna R.: Detection of HGV in serum and peripheral blood mononuclear cells of maintenance haemodialysis patients. *J. Hosp. Infect.* **42**, 155–159 (1999)
- Bhattarai N., McLinden J.H., Xiang J., Kaufman T.M., Stapleton J.T.: GB virus C envelope protein E2 inhibits TCR-induced IL-2 production and alters IL-2-signaling pathways. *J. Immunol.* **189**, 2211–2216 (2012)
- Bhattarai N., Rydze R.T., Chivero E.T., Stapleton J.T.: GB virus C viremia is associated with higher levels of double-negative T cells and lower T-cell activation in HIV-infected individuals receiving antiretroviral therapy. *J. Infect. Dis.* **206**, 1469–1472 (2012)
- Bjorkman P., Flamholz L., Molnegren V., Marshall A., Guner N., Widell A.: Enhanced and resumed GB virus C replication in HIV-1-infected individuals receiving HAART. *AIDS*, **21**, 1641–1643 (2007)
- Brumme Z.L., Chan K.J., Dong W.W., Mo T., Wynhoven B., Hogg R.S., Harrigan P.R.: No association between GB virus-C viremia and virological or immunological failure after starting initial antiretroviral therapy. *AIDS*, **16**, 1229–1933 (2002)
- Capobianchi M.R., Lalle E., Martini F., Poccia F., D'Offizi G., Antonucci G., Dianzani F.: Influence of GBV-C infection on the endogenous activation of the IFN system in HIV-1 co-infected patients. *Cell. Mol. Biol. (Noisy-le-grand)*, **52**, 3–8 (2006)
- Clevenberg P., Durant J., Halfon P., Tran A., Manos T., Rahelinirina V., Dellamonica P.: High prevalence of GB virus C/hepatitis G virus infection in different risk groups of HIV-infected patients. *Clin. Microbiol. Infect.* **4**, 644–647 (1998)
- Devereux H., Sabin C.A., Kinson Z., Brown D., Griffioen A., Dusheiko G.M., Lee C.A.: Influence of HIV-1 infection on GBV-C infection in multiply infected haemophilic patients. *J. Med. Virol.* **56**, 316–320 (1998)
- Eissmann K., Mueller S., Sticht H., Jung S., Zou P., Jiang S., Reil H.: HIV-1 fusion is blocked through binding of GB Virus C E2D peptides to the HIV-1 gp41 disulfide loop. *PLoS ONE*, **8**, e54452 (2013)
- Ernst D., Greer M., Akmatova R., Pischke S., Wedemeyer H., Heiken H., Stoll M.: Impact of GB virus C viraemia on clinical outcome in HIV-1-infected patients: a 20-year follow-up study. *HIV Med.* **15**, 245–250 (2013)
- Fogeda M., Lopez-Alcorocho J.M., Bartolome J., Arocena C., Martin M.A., Carreno V.: Existence of distinct GB virus C/hepatitis G virus variants with different tropism. *J. Virol.* **74**, 7936–7942 (2000)
- George S.L., Varnaz D., Stapleton J.T.: GB virus C replicates in primary T and B lymphocytes. *J. Infect. Dis.* **193**, 451–454 (2006)
- George S.L., Xiang J., Stapleton J.T.: Clinical isolates of GB virus type C vary in their ability to persist and replicate in peripheral blood mononuclear cell cultures. *Virology*, **316**, 191–201 (2003)
- Grabarczyk P., Brojer E., Windyga J., Łopaciuk S., Klukowska A., Mikulska M.: GBV-C/HGV and TTV infection markers in Polish blood donors and haemophilia patients. *Przegl. Epidemiol.* **60**, 581–588 (2006)
- Kaye S., Howard M., Alabi A., Hansmann A., Whittle H., Schim van der Loeff M.: No observed effect of GB virus C coinfection on disease progression in a cohort of African woman infected with HIV-1 or HIV-2. *Clin. Infect. Dis.* **40**, 876–878 (2005)

20. Kim S., Pang H.B., Kay M.S.: Peptide mimic of the HIV envelope gp120-gp41 interface. *J. Mol. Biol.* **376**, 786–797 (2008)
21. Kisiel E., Cortez K.C., Pawelczyk A., Ośko I.B., Kubisa N., Laskus T., Radkowski M.: Hepatitis G virus/GBV-C in serum, peripheral blood mononuclear cells and bone marrow in patients with hematological malignancies. *Infect. Genet. Evol.* **19**, 195–199 (2013)
22. Kong L., Welge J.A., Powell E.A., Blackard J.T.: HIV infection of hepatocytes results in a modest increase in hepatitis C virus expression *in vitro*. *PLoS ONE*, **9**, e83728. (2014)
23. Lalle E., Sacchi A., Abbate I., Vitale A., Martini F., D'Offizi G., Capobianchi M.R.: Activation of interferon response genes and of plasmacytoid dendritic cells in HIV-1 positive subjects with GB virus C co-infection. *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.* **21**, 161–171 (2008)
24. Laras A., Zacharakis G., Hadziyannis S.J.: Absence of the negative strand of GBV-C/HGV RNA from the liver. *J. Hepatol.* **30**, 383–388 (1999)
25. Laskus T., Kibler K.V., Chmielewski M., Wilkinson J., Adair D., Horban A., Radkowski M.: Effect of hepatitis C infection on HIV-induced apoptosis. *PLoS ONE*, **8**, e75921. (2013)
26. Laskus T., Radkowski M., Wang L.F., Nowicki M., Rakela J.: Uneven distribution of hepatitis C virus quasispecies in tissues from subjects with end-stage liver disease: confounding effect of viral adsorption and mounting evidence for the presence of low-level extrahepatic replication. *J. Virol.* **74**, 1014–1017 (2000)
27. Laskus T., Radkowski M., Wang L.F., Vargas H., Rakela J.: Lack of evidence for hepatitis G virus replication in the livers of patients coinfecting with hepatitis C and G viruses. *J. Virol.* **71**, 7804–7806 (1997)
28. Laskus T., Radkowski M., Wang L.F., Vargas H., Rakela J.: Detection of hepatitis G virus replication sites by using highly strand-specific Tth-based reverse transcriptase PCR. *J. Virol.* **72**, 3072–3075 (1998)
29. Lau D.T., Miller K.D., Detmer J., Kolber J., Herpin B., Metcalf J.A., Hoofnagle J.H.: Hepatitis G virus and human immunodeficiency virus coinfection: response to interferon-alpha therapy. *J. Infect. Dis.* **180**, 1334–1337 (1999)
30. Leary T.P., Muerhoff A.S., Simons J.N., Pilot-Matias T.J., Erker J.C., Chalmers M.L., Mushahwar I.K.: Sequence and genomic organization of GBV-C: a novel member of the *Flaviviridae* associated with human non-A-E hepatitis. *J. Med. Virol.* **48**, 60–67 (1996)
31. Lemey P., Pybus O.G., Wang B., Saksena N.K., Salemi M., Vandamme A.M.: Tracing the origin and history of the HIV-2 epidemic. *Proc. Natl. Acad. USA*, **100**, 6588–6592 (2003)
32. Levi J.E., Contri D.G., Lima L.P., Takaoka D.T., Garrini R.H., Santos W., Wendel S.: High prevalence of GB virus C/hepatitis G virus RNA among Brazilian blood donors. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo*, **45**, 75–78 (2003)
33. Lin H.H., Kao J.H., Yeh K.Y., Liu D.P., Chang M.H., Chen P.J., Chen D.S.: Mother-to-infant transmission of GB virus C/hepatitis G virus: the role of high-titered maternal viremia and mode of delivery. *J. Infect. Dis.* **177**, 1202–1206 (1998)
34. Linnen J., Wages J.Jr., Zhages-Keck Z.Y., Fry K.E., Krawczynski K.Z., Alter H., Kim J.P.: Molecular cloning and disease association of hepatitis G virus: a transfusion-transmissible agent. *Science*, **271**, 505–508 (1996)
35. Masuko K., Mitsui T., Iwano K., Yamazaki C., Okuda K., Meguro T., Mayumi M.: Infection with hepatitis GB virus C in patients on maintenance hemodialysis. *N. Engl. J. Med.* **334**, 1485–1490 (1996)
36. Mellor J., Haydon G., Blair C., Livingstone W., Simmonds P.: Low level or absent *in vivo* replication of hepatitis C virus and hepatitis G virus/GB virus C in peripheral blood mononuclear cells. *J. Gen. Virol.* **79**, 705–714 (1998)
37. Moenkemeyer M., Schmidt R.E., Wedemeyer H., Tillmann H.L., Heiken H.: GBV-C coinfection is negatively correlated to Fas expression and Fas-mediated apoptosis in HIV-1 infected patients. *J. Med. Virol.* **80**, 1933–1940 (2008)
38. Mohamed A.A., Nada O.H., El Desouky M.A.: Implication of protein kinase R gene quantification in hepatitis C virus genotype 4 induced hepatocarcinogenesis. *Diagn. Pathol.* DOI: 10.1186/1746-1596-7-103 (2012)
39. Muerhoff A.S., Dawson G.J., Desai S.M.: A previously unrecognized sixth genotype of GB virus C revealed by analysis of 5'-untranslated region sequences. *J. Med. Virol.* **78**, 105–111 (2006)
40. Nattermann J., Nischalke H.D., Kupfer B., Rockstroh J., Hess L., Sauerbruch T., Spengler U.: Regulation of CC chemokine receptor 5 in hepatitis G virus infection. *AIDS*, **17**, 1457–1462 (2003)
41. Niedzwiedzka-Stadnik M., Pielacha M., Rosinska M.: HIV and AIDS in Poland in 2012. *Przegl. Epidemiol.* **68**, 283–289 (2014)
42. Nunnari G., Nigro L., Palermo F., Attanasio M., Berger A., Doerr H.W., Cacopardo B.: Slower progression of HIV-1 infection in persons with GB virus C co-infection correlates with an intact T-helper 1 cytokine profile. *Ann. Intern. Med.* **139**, 26–30 (2003)
43. Ohto H., Ujiie N., Sato A., Okamoto H., Mayumi M.: Mother-to-infant transmission of GB virus type C/HGV. *Transfusion*, **40**, 725–730 (2000)
44. Parczewski M., Leszczyszyn-Pynka M., Bander D., Urbańska A., Stańczak G., Boroń-Kaczmarek A.: Characteristics of HIV-1 non-B subtype infections in Northwest Poland. *J. Med. Virol.* **82**, 1306–1313 (2010)
45. Pavlova B.G., Heinz R., Selim U., Tuchler H., Pittermann E., Eder G.: Association of GB virus C (GBV-C)/hepatitis G virus (HGV) with haematological diseases of different malignant potential. *J. Med. Virol.* **57**, 361–366 (1999)
46. Popper S.J., Sarr A.D., Travers K.U., Gueye-Ndiaye A., Mboup S., Essex M.E., Kanki P.J.: Lower human immunodeficiency virus (HIV) type 2 viral load reflects the difference in pathogenicity of HIV-1 and HIV-2. *J. Infect. Dis.* **180**, 1116–1121 (1999)
47. Price H., Bansi L., Sabin C.A., Bhagani S., Burroughs A., Chadwick D., Gilson R.: Hepatitis B virus infection in HIV-positive individuals in the UK collaborative HIV cohort (UK CHIC) study. *PLoS ONE*, **7**, e49314. (2012)
48. Quiros-Roldan E., Maroto M.C., Torti C., Moretti F., Casari S., Pan A., Carosi G.: No evidence of beneficial effect of GB virus type C infection on the course of HIV infection. *AIDS*, **16**, 1430–1431 (2002)
49. Radkowski M., Kubicka J., Kisiel E., Cianciara J., Nowicki M., Rakela J., Laskus T.: Detection of active hepatitis C virus and hepatitis G virus/GB virus C replication in bone marrow in human subjects. *Blood*, **95**, 3986–3989 (2000)
50. Ramia S., Mokhbat J., Sibai A., Klaysme S., Naman R.: Exposure rates to hepatitis C and G virus infections among HIV-infected patients: evidence of efficient transmission of HGV by the sexual route. *Int. J. STD AIDS*, **15**, 463–466 (2004)
51. Ranjbar M.M., Ghorban K., Alavian S.M., Keyvani H., Dadmanesh M., Roayaei Ardakany A., Sazmand A.: GB Virus C/ Hepatitis G Virus Envelope Glycoprotein E2: Computational Molecular Features and Immunoinformatics Study. *Hepat. Mon.* **13**, e15342 (2013)
52. Rodriguez B., Woolley I., Ledermann M.M., Zdunek D., Hess G., Valdez H.: Effect of GB virus C coinfection on response to anti-retroviral treatment in human immunodeficiency virus-infected patients. *J. Infect. Dis.* **187**, 504–507 (2003)
53. Ruiz V., Giordano M., Rivero C.W., Minassian M.L., Cuestas M.L., Trinks J., Oubina J.R.: GB virus C quasispecies detected in plasma and lymphocyte subsets in a natural human infection. *J. Gen. Virol.* **91**, 1687–1692 (2010)
54. Rydzek R.T., Bhattarai N., Stapleton J.T.: GB virus C infection is associated with a reduced rate of reactivation of latent HIV and

- protection against activation-induced T-cell death. *Antivir. Ther.* **17**, 1271–1279 (2012)
55. Rydze R., Xiang J., McLinden J.H., Stapleton J.T.: GB virus type C infection polarizes T-cell cytokine gene expression toward a Th1 cytokine profile via NS5A protein expression. *J. Infect. Dis.* **206**, 69–72 (2012)
 56. Saito S., Tanaka K., Kondo M., Morita K., Kitamura T., Kiba T., Sekihara H.: Plus- and minus-stranded hepatitis G virus RNA in liver tissue and in peripheral blood mononuclear cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **237**, 288–291 (1997)
 57. Sarkar I., Hauber I., Hauber J., Buchholz F.: HIV-1 proviral DNA excision using an evolved recombinase. *Science*, **316**, 1912–1915 (2007)
 58. Sawayama Y., Hayashi J., Etoh Y., Urabe H., Minami K., Kashiwagi S.: Heterosexual transmission of GB virus C/hepatitis G virus infection to non-intravenous drug-using female prostitutes in Fukuoka, Japan. *Dig. Dis. Sci.* **44**, 1937–1943 (1999)
 59. Schmolke S., Tacke M., Schmitt U., Engel A.M., Ofenloch-Haehnle B.: Identification of hepatitis G virus particles in human serum by E2-specific monoclonal antibodies generated by DNA immunization. *J. Virol.* **72**, 4541–4545 (1998)
 60. Schwarze-Zander C., Blackard J.T., Zheng H., Addo M.M., Lin W., Robbins G.K., Chung R.T.: GB virus C (GBV-C) infection in hepatitis C virus (HCV)/HIV-coinfected patients receiving HCV treatment: importance of the GBV-C genotype. *J. Infect. Dis.* **194**, 410–419 (2006)
 61. Silva S.A., Rodrigues C.L., Campos A.F., Levi J.E.: Evaluation of GBV-C/HVG viremia in HIV-infected women. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo*, **54**, 31–35 (2012)
 62. Simons J.N., Desai S.M., Schultz D.E., Lemon S.M., Mushahwar I.K.: Translation initiation in GB viruses A and C: evidence for internal ribosome entry and implications for genome organization. *J. Virol.* **70**, 6126–6135 (1996)
 63. Simons J.N., Leary T.P., Dawson G.J., Pilot-Matias T.J., Muerhoff A.S., Schlauder G.G., Mushahwar I.K.: Isolation of novel virus-like sequences associated with human hepatitis. *Nat. Med.* **1**, 564–569 (1995)
 64. Soriano-Sarabia N., Abad M.A., Vallejo A., Gutierrez S., Leal M.: Influence of hepatitis C and hepatitis G virus co-infection on viral and cellular dynamics in patients infected with human immunodeficiency virus following interruption of highly active anti-retroviral therapy. *Clin. Microbiol. Infect.* **12**, 290–293 (2006)
 65. Stapleton J.T., Chaloner K., Martenson J.A., Zhang J., Klinzman D., Xiang J., Landay A.: GB virus C infection is associated with altered lymphocyte subset distribution and reduced T cell activation and proliferation in HIV-infected individuals. *PLoS ONE*, **7**, e50563. (2012)
 66. Stapleton J.T., Chaloner K., Zhang J., Klinzman D., Souza I.E., Xiang J., Mitsuyasu R.: GBV-C viremia is associated with reduced CD4 expansion in HIV-infected people receiving HAART and interleukin-2 therapy. *AIDS*, **23**, 605–610 (2009)
 67. Supapol W.B., Remis R.S., Rabound J., Millson M., Tappero J., Kaul R., Butera S.: Reduced mother-to-child transmission of HIV associated with infant but not maternal GB virus C infection. *J. Infect. Dis.* **197**, 1369–1377 (2008)
 68. Takamatsu J., Toyoda H., Fukuda Y., Nakano I., Yokozaki S., Hayashi K., Saito H.: Effects of HAART on hepatitis C, hepatitis G, and TT virus in multiply coinfected HIV-positive patients with haemophilia. *Haemophilia*, **7**, 740–743 (2001)
 69. Tanaka E., Alter H.J., Nakatsuji Y., Shih J.W., Kim J.P., Matsumoto A., Kiyosawa K.: Effect of hepatitis G virus infection on chronic hepatitis C. *Ann. Intern. Med.* **125**, 740–743 (1996)
 70. Tassopoulos N.C., Papatheodoridis G.V., Delladetsima I., Hatzakis A.: Clinicopathological features and natural history of acute sporadic non-(A-E) hepatitis. *J. Gastroenterol. Hepatol.* **23**, 1208–1215 (2008)
 71. Tillmann H.L., Heiken H., Knapik-Botor A., Heringlake S., Ockenga J., Wilber J.C., Manns M.P.: Infection with GB virus C and reduced mortality among HIV-infected patients. *N. Engl. J. Med.* **345**, 715–724 (2001)
 72. Toyoda H., Fukuda Y., Yokozaki S., Nakano I., Hayakawa T., Takamatsu J.: Interferon treatment of two patients with quadruple infection with hepatitis C virus (HCV), human immunodeficiency virus (HIV), hepatitis G virus (HGV), and TT virus (TTV). *Liver*, **19**, 438–443 (1999)
 73. Tucker T.J., Smuts H.E.: GBV-C/HGV genotypes: proposed nomenclature for genotypes 1–5. *J. Med. Virol.* **62**, 82–83 (2000)
 74. Vahidnia F., Petersen M., Rutherford G., Busch M., Assmann S., Stapleton J.T., Custer B.: Transmission of GB virus type C via transfusion in a cohort of HIV-infected patients. *J. Infect. Dis.* **205**, 1436–1442 (2012)
 75. Van der Bij A.K., Kloosterboer N., Prins M., Boeser-Nunnink B., Geskus R.B., Lange J.M., Schuitemaker H.: GB virus C coinfection and HIV-1 disease progression: The Amsterdam Cohort Study. *J. Infect. Dis.* **191**, 678–685 (2005)
 76. Wiwanitkit V.: Individuals with HGV-RNA are at high risk of B cell non-Hodgkin's lymphoma development. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* **6**, 215–216 (2005)
 77. Woolley I., Valdez H., Walker C., Landay A., Zdunek D., Hess G., Lenderman M.M.: Hepatitis G virus RNA is common in AIDS patients' plasma but is not associated with abnormal liver function tests or other clinical syndromes. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr. Hum. Retrovirol.* **19**, 408–412 (1998)
 78. Wu N., De La Cruz J., Al-Mawsawi L.Q., Olson C.A., Qi H., Luan H.H., Sun R.: HIV-1 quasiespecies delineation by tag linkage deep sequencing. *PLoS ONE*, **9**, e97505. (2014)
 79. Xiang J., George S.L., Wunschmann S., Chang Q., Klinzman D., Stapleton J.T.: Inhibition of HIV-1 replication by GB virus C infection through increases in RANTES, MIP-1alpha, MIP-1beta, and SDF-1. *Lancet*, **363**, 2040–2046 (2004)
 80. Xiang J., Martinez-Smith C., Gale M.Jr., Chang Q., Labrecque D.R., Schmidt W.N., Stapleton J.T.: GB virus type C NS5A sequence polymorphisms: association with interferon susceptibility and inhibition of PKR-mediated eIF2alpha phosphorylation. *J. Interferon Cytokine Res.* **25**, 261–270 (2005)
 81. Xiang J., McLinden J.H., Chang Q., Jordan E.L., Stapleton J.T.: Characterization of a peptide domain within the GB virus C NS5A phosphoprotein that inhibits HIV replication. *PLoS ONE*, **3**, e2580. (2008)
 82. Xiang J., McLinden J.H., Chang Q., Kaufman T.M., Stapleton J.T.: An 85-aa segment of the GB virus type C NS5A phosphoprotein inhibits HIV-1 replication in CD4+ Jurkat T cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, 15570–15575 (2006)
 83. Xiang J., McLinden J.H., Kaufman T.M., Mohr E.L., Bhattarai N., Chang Q., Stapleton J.T.: Characterization of a peptide domain within the GB virus C envelope glycoprotein (E2) that inhibits HIV replication. *Virology*, **430**, 53–62 (2012)
 84. Xiang J., McLinden J.H., Rydze R.A., Chang Q., Kaufman T.M., Klinzman D., Stapleton J.T.: Viruses within the *Flaviviridae* decrease CD4 expression and inhibit HIV replication in human CD4+ cells. *J. Immunol.* **183**, 7860–7869 (2009)
 85. Yeo A.E., Matsumoto A., Hisada M., Shih J.W., Alter H.J., Goedert J.J.: Effect of hepatitis G virus infection on progression of HIV infection in patients with hemophilia. Multicenter Hemophilia Cohort Study. *Ann. Intern. Med.* **132**, 959–963 (2000)
 86. Yu X., Weber I.T., Harrison R.W.: Prediction of HIV drug resistance from genotype with encoded three-dimensional protein structure. *BMC Genomics*, DOI: 10.1186/1471-2164-15-s5-s1 (2014)
 87. Zampino R., Pickering J., Iqbal M., Gaud U., Thomas H.C., Karayiannis P.: Hepatitis G virus/GBV-C persistence: absence of hypervariable E2 region and genetic analysis of viral quasiespecies in serum and lymphocytes. *J. Viral Hepat.* **6**, 209–218 (1999)