

БАЗОВИЙ РІВЕНЬ ЕКСПРЕСІЇ МІКРО РНК-196А У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ ВІРУСНИЙ ГЕПАТИТ С З ПЕРШИМ ГЕНОТИПОМ HCV

Л.Р. Шостакович-Корецька¹, О.П. Шевченко-Макаренко¹, Т.Ю. Лапикова-Бригинська²

¹ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», м. Дніпро, Україна

²Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, м. Київ, Україна

Зв'язок з авторами: Шевченко-Макаренко Ольга Петрівна, к.мед.н., доцент кафедри інфекційних хвороб ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»; тел.: +38-050-45-13-13-5; e-mail: dsmainfect@ukr.net.

У статті представлені результати вивчення рівня експресії мікроРНК-196а у 74 хворих на хронічний вірусний гепатит С (ХВГС) з 1-м генотипом. Використовували двоетапне дослідження згідно протоколу виробника (з використанням набору мікроРНК TaqMan® (Applied Biosystems, США).

Вперше на українській когорті досліджено рівень експресії мікроРНК-196а у хворих на ХВГС, середній рівень якої склав 0,28 (IQR: 0,01; 0,98), і у здорових осіб – 0,44 (IQR: 0,16; 3,38) при $p=0,128$ (U; H). Log_{10} miR-196а у хворих в середньому становили – 0,56 (IQR: -1,94; -0,008) і у здорових осіб – -0,35 (IQR: -0,80; 0,52) при $p=0,128$ (U; H).

Регресійний аналіз за допомогою моделі кубічної регресії показав про позитивний вплив рівня експресії miR-196а на вірусне навантаження HCV у дослідних хворих з тенденцією до достовірного зв'язку ($p=0,06$). Виявлено помірний достовірний (від $p<0,05$ до $p<0,01$) зворотній кореляційний зв'язок між рівнем експресії мікроРНК-196а при ХВГС та наявністю цирозу печінки чи спленомегалії у хворих; невдалого попереднього досвіду противірусної терапії схемами, що містять інтерферон; з рівнем загального білірубіну крові. Прямий зв'язок - з основними загальними лабораторними показниками крові. Регресійний аналіз вказує на можливу супресивну участь miR-196а на вірусну реплікацію РНК ВГС, що потребує подальшого вивчення цих взаємовідношень.

Ключові слова: хронічний вірусний гепатит С, мікроРНК-196а

БАЗОВЫЙ УРОВЕНЬ ЭКСПРЕССИИ МИКРОРНК-196А У БОЛЬНЫХ С ПЕРВЫМ ГЕНОТИПОМ HCV ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ВИРУСНОМ ГЕПАТИТЕ С

Л.Р. Шостакович-Корецкая.¹, О.П. Шевченко-Макаренко¹, Т.Ю. Лапикова-Бригинская²

¹ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины», г. Днепр, Украина

²Институт физиологии им. А.А. Богомольца НАН Украины, г. Киев, Украина

В статье представлены результаты изучения уровня экспрессии микроРНК-196а (miR-196а) у 74 больных хроническим вирусным гепатитом С (ХВГС) с 1-м генотипом. Использовали двух этапное исследование согласно протокола производителя (с использованием набора микроРНК TaqMan® (Applied Biosystems, США).

Впервые на украинской когорте пациентов исследован уровень экспрессии микроРНК-196а у больных с ХВГС, средний уровень которой составил 0,28 (IQR: 0,01; 0,98), и у здоровых лиц - 0,44 (IQR: 0,16; 3,38) при $p=0,128$ (U, H). Log₁₀ miR-196а у больных в среднем составили - -0,56 (IQR: -1,94; -0,008) и у здоровых лиц - 0,35 (IQR: -0,80; 0,52) при $p=0,128$ (U, H).

Регрессионный анализ с помощью модели кубической регрессии показал о положительном влиянии уровня экспрессии miR-196а на вирусную нагрузку HCV у исследуемых больных с тенденцией к достоверной связи ($p=0,06$). Выявлена умеренная достоверная (от $p<0,05$ до $p<0,01$) обратная корреляционная связь между уровнем экспрессии микроРНК-196а при ХВГС и наличием цирроза печени или спленомегалии у пациентов; неудачного предыдущего опыта противовирусной терапии схемами, содержащими интерферон; с уровнем общего билирубина крови. Прямая связь – с основными общими лабораторными показателями крови. Регрессионный анализ указывает на возможное супрессивное влияние miR-196а на вирусную репликацию РНК HCV, что требует дальнейшего изучения этих взаимоотношений.

Ключевые слова: хронический вирусный гепатит С, микроРНК-196а, miR-196а

BASIC LEVEL OF MIR-196A EXPRESSION IN PATIENTS WITH CHRONIC VIRAL HEPATITIS C, I GENOTYPE

L.R. Shostakovych-Koretskaya¹, O.P. Shevchenko-Makarenko¹,
T.Yu. Lapikova-Bryhinska²

¹ SI “Dnipropetrovsk medical academy of the Ministry of Health of Ukraine”, Dnipro, Ukraine,

² Bohomolets Institute of Physiology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

The article presents the results of study of the expression level of miR-196a in 74 patients with chronic viral hepatitis C with 1 genotype, average age being 47.5 ± 1.4 years. Among them, men constituted 38 (51.4%), women - 36 (48.6%) persons. The average duration of the disease in patients from the time of established diagnosis of HCV-infection was 4.0 years (IQR: 2.0; 8.0) and, in some cases, it was up to 27 years. Patients were monitored and examined in the hepatologic department in accordance with clinical protocols and bioethical standards. The control group consisted of 11 healthy individuals of average age 38.5 ± 5.5 years (range 18 to 65 years), with negative markers for viral hepatitis, among them 5 men and 6 women. Both groups were statistically comparable in gender ($p = 0.715$ by criterion χ^2) and age of patients ($p = 0.142$ t).

To study the level of miR-196a expression, a two-stage study was conducted in accordance with the manufacturer's protocol. Reverse transcription was performed using TaqMan® (Applied Biosystems, USA), specific loop primers for the reverse transcription of the TaqMan® miRNA, until specific mRNA, snRNA U6 and total RNA were reached. Real-time quantitative PCR was performed using TaqMan® miRNA analysis.

The level of miR-196a expression in patients with chronic viral hepatitis C was investigated for the first time in Ukrainian cohort. The average baseline level of expression of miR-196a in patients with chronic viral hepatitis C was 0.28 (IQR: 0.01; 0.98) and in healthy individuals it was 0.44 (IQR: 0.16; 3.38) at $p = 0.128$ (U; H). Log₁₀ miR-196a in patients with HCV-infection averaged of -0.56 (IQR: -1.94; -0.008) and in healthy individuals -0.35 (IQR: -0.80; 0.52) at $p = 0.128$ (U; H). Regression analysis using the cubic regression model showed a positive effect of miR-196a expression on the viral load of HCV in experimental patients with a tendency to reliable correlation ($p=0.06$). Moderate reliable ($p < 0.05$ to $p < 0.01$) reverse correlation was detected between the level of miR-196a expression in patients with chronic viral hepatitis C and the presence of liver cirrhosis or splenomegaly; unsuccessful previous experience with antiviral therapy with interferon-containing regimens; with a level of total bilirubin of blood. Direct correlation was observed with the basic general laboratory blood parameters. Regression analysis indicates a possible suppressive role of miR-196a in viral replication of HCV RNA,

which requires further study of these interactions. The resulting distribution of miR-196a expression, depending on the degree of liver fibrosis, requires a deeper analysis in patients within the group.

Key words: chronic viral hepatitis C, miR-196a, miRNA-196a

Вступ. Хронічний вірусний гепатит С (ХВГС) є глобальною проблемою охорони здоров'я. Не дивлячись на те, що в світі докладається багато зусиль щодо елімінації вірусних гепатитів, на Україні та зокрема в Дніпропетровському регіоні рівень поширеності та захворюваності на ХВГС досить високий та продовжує зростати з року в рік [1, 2, 3]. Тому поглиблене вивчення патогенезу HCV-інфекції, можливий вплив на фактори вірусу та/або хазяїна, прогноз перебігу захворювання зостаються досі актуальними. МікроРНК, як новий клас РНК, було відкрито нещодавно та з кожним роком кількість відкритих зрілих мікроРНК людини зростає та функції кожної з них вивчаються. МікроРНК (miR, miRNA) – це молекули довжиною близько 18-22 нуклеотидів, які відіграють вирішальну роль у регуляції експресії генів багатьох видів. На сьогоднішній день родина мікро-РНК розширилася до більш ніж 1900 анотованих попередників мікроРНК та 2654 зрілих послідовностей мікроРНК людини [4].

Ряд мікро-РНК є життєво важливим компонентом вродженої противірусної імунної відповіді. HCV-інфекція викликає хронічне запалення, а регуляція запалення, пов'язана з мікроРНК, сприяє ініціації і прогресуванню ГЦК [5]. З'ясовано, що мікроРНК-122 сприяє реплікації HCV в інфікованих клітинах, а підвищений рівень експресії мі-

кроРНК-448, мікроРНК-196, Let-7b навпаки пригнічують реплікацію вірусу шляхом прямої дії на геном HCV в експерименті та шляхом прямого націлювання на кодуючі області CORE і NS5A геному HCV, що може бути перспективним напрямком в лікуванні хворих [6, 7, 8]. Підвищення експресії мікроРНК-199a інгібувало реплікацію HCV-1b чи -2a генотипів в клітинах. Аналіз експресії генів виявив порушення регуляції miR-449a у пацієнтів з ХВГС [9, 10]. Так, інтерферон- α/β (IFN- α/β) швидко індукує експресію деяких клітинних мікроРНК (miR-1, miR-30, miR-128, miR-196, miR-296, miR-351, miR-431 і miR-448), які продемонстрували майже ідеальну компліментарність у своїх послідовностях з геномами РНК HCV на експериментальній моделі та пригнічує miR-122. З'ясовано, що модуляція рівнів експресії означених клітинних мікроРНК відіграє важливу, хоча і не виняткову, роль в противірусних ефектах IFN- α/β проти HCV [11, 12].

Інші дослідники виділяють близько 100 печінко специфічних мікроРНК, деякі з них (miR-122, miR-130, miR-183, miR-196, miR-209 і miR-96) є потенційними індикаторами пошкодження печінки (головним чином через апоптоз, некроз і некроптоз) або гепатит з їх різною експресією, під час гострого/фульмінантного, хронічного, фіброзу печінки/цирозу та гепато-клітинної карциноми [13,

14]. Але функції багатьох мікроРНК при ХВГС ще недокінця вивчено. Отже, рівень експресії та функції мікроРНК-196а у хворих на ХВГС ще остаточно не з'ясовано та не вивчався на українській когорті хворих.

Метою дослідження було вивчити базовий рівень експресії мікроРНК-196а у хворих на хронічний вірусний гепатит С з 1-м генотипом HCV.

Матеріали і методи. До дослідження було залучено 74 хворих на хронічний вірусний гепатит С з 1 генотипом HCV середнього віку $47,5 \pm 1,4$ років. З них, чоловіків – 38 (51,4%), жінок – 36 (48,6%). Пацієнти знаходились під наглядом у гепатологічному відділенні Дніпропетровської міської клінічної лікарні №21 ім. проф. Є.Г. Попкової та були обстежені відповідно до клінічних протоколів (за Наказом МОЗ України від 18.07.2016 року №729 «Про затвердження та впровадження медико-технологічних документів зі стандартизації медичної допомоги при вірусному гепатиті С») та біоетичних норм. У хворих визначався генотип вірусу гепатиту С (HCV), вірусне навантаження HCV, рівень фіброзу печінки тощо. Рівень фіброзу встановлювали за допомогою неінвазивних методів що відповідають оцінці ступеню фіброзу за шкалою METAVIR (компресійної еластографії печінки та/або Фібротесту™), додатково обчислювали інші неінвазивні тести (APRI, FIB4 та ін.). Контрольну групу склали 11 здорових людей, середнього віку $38,5 \pm 5,5$ років (діапазон від 18 до 65 років), з негативними маркерами до вірусних гепатитів, з них чоловіків – 5 (45,5%), жінок – 6 (54,5%).

Обидві групи були статистично порівняними за статтю ($p=0,715$ за критерієм χ^2) та віком пацієнтів ($p=0,142$ t).

Для вивчення рівня експресії мікроРНК-196а (синоніми: miR-196a, hsa-miRNA-196a) використовувалося двоетапне дослідження, згідно протоколу виробника на базі відділу загальної та молекулярної патофізіології Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, м. Київ (завідувач відділу – професор Досенко В.Є.). Спочатку тотальну РНК виділяли з плазми крові методом – фенол-хлороформної екстракції. Потім, щоб оцінити рівень зрілих мікроРНК, виконували зворотну транскрипцію з використанням набору для зворотної транскрипції мікроРНК TaqMan® (Applied Biosystems, США), специфічних петльових праймерів до досягнення зрілої мікроРНК, snRNA U6 (як ендogenous контрольного гена) і 10 нг загальної РНК. Кількісну ПЛР в реальному часі проводили з використанням аналізу мікроРНК TaqMan® (Applied Biosystems, США): hsa-miR-196a та snRNA U6. Термічні цикли ампліфікації ПЛР були ідентичні виявлення rgi-miRNA. Рівень miRNA розраховували за формулою ($2\Delta Ct * 100$ - де Ct – пороговий цикл ампліфікації), нормалізували до U6 snRNA і представляли в умовних одиницях.

Обробка та аналіз даних проводилися за допомогою програмного продукту Statistica v.6.1®. Кількісні дані представлені у вигляді діапазону значень (мінімум – максимум), середнього арифметичного і його стандартної помилки ($M \pm m$) при нормальному розподілі, і як медіана (Me)

і інтерквартильний розмах (IQR: Q25; Q75) – в інших випадках. Для порівняння середніх величин застосовувалися критерії Стьюдента (t) і Манна-Уїтні (U), Краскела-Уоліса (H), для відносних величин – двосторонній точний критерій Фішера (FET). Взаємозв'язок між ознаками оцінювався за коефіцієнтами рангової кореляції Спірмена (r_s), за достовірне приймалось $p < 0,01$ та $p < 0,05$.

Результати та обговорення досліджень. Середня тривалість захворювання хворих з моменту вперше встановленого діагнозу ХВГС (Me) становила 4,0 років (IQR: 2,0; 8,0) та, в деяких випадках, спостерігалась до 27 років. Основна характеристика пацієнтів з ХВГС, залучених в дослідження, представлена в табл. 1.

Після виділення тотальної РНК виділяли рівень експресії контро-

Таблиця 1.

**Соціо-демографічні та клінічні показники
у пацієнтів з хронічним вірусним гепатитом С**

Характеристика	Хворі на ХВГС (n=74)
Вік, років, середній (M ± m) (діапазон)	47,47 ± 1,40 (18 - 70)
Тривалість хвороби від початку вперше встановленого діагнозу ХВГС, років (M ± m) (діапазон) Me (IQR: Q25; Q75)	5,91±0,64 (0-27) 4 (2; 8,5)
Індекс маси тіла (ІМТ), Me (IQR: Q25; Q75)	26,56 (23,30; 31,11)
Стать, кількість (%): Чоловіки / Жінки	38 (51,35) / 36 (48,65)
Мешканці, кількість (%)	
обласного центру	50 (67,57)
міст області	20 (27,03)
сільських районів	4 (5,41)
Еритроцити, ×10 ¹² /л, Me (IQR: Q25; Q75)	4,61 (4,4; 5,06)
Лейкоцити, ×10 ⁹ /л Me (IQR: Q25; Q75)	6,31 (5,0; 7,2)
Тромбоцити, ×10 ⁹ /л, Me (IQR: Q25; Q75)	200,5 (166,5; 256)
Лімфоцити, абс. /л, Me (IQR: Q25; Q75)	2,13 (1,65; 2,756)
Лімфоцити, %, Me (IQR: Q25; Q75)	35,1 (30; 43,35)
Нейтрофіли, абс. /л Me (IQR: Q25; Q75)	3,54 (2,72; 4,17)
АЛТ, ОД/мл, Me (IQR: Q25; Q75)	58,28 (36,39; 106,62)
АСТ, ОД/мл, Me (IQR: Q25; Q75)	48,72 (30,15; 78,56)
Білірубін, мкмоль / л, Me (IQR: Q25; Q75)	14,95 (11; 18,32)
Креатинін, ммоль/л, Me (IQR: Q25; Q75)	82,2 (72; 93,45)
РНК HCV, log ₁₀ коп/мл, Me (IQR: Q25; Q75)	6,58 (6,03; 6,90)
log ₁₀ МЕ/мл, Me (IQR: Q25; Q75)	6,01 (5,44; 6,32)
Стадії фіброзу за шкалою METAVIR, кількість (%):	
F1	
F2	25 (33,78)
F3	21 (28,38)
F4	11 (14,86)
	17 (22,97)

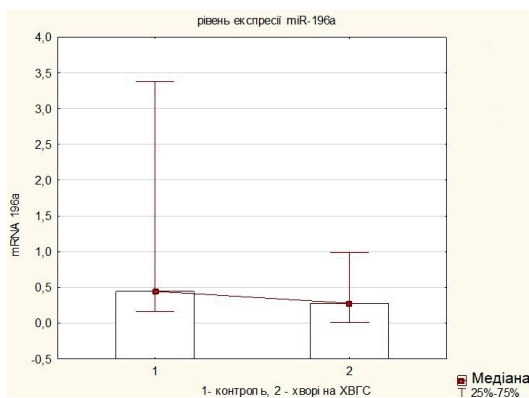
льного гена U6 в групах дослідження. У хворих на хронічний вірусний гепатит С його рівень варіював від 16,94 до 34,05 і в середньому склав $27,31 \pm 0,51$ умовних одиниць. У контрольній групі показник змінювався в діапазоні від 23,91 до 29,26, в середньому ($M \pm m$) становив $26,95 \pm 0,47$. Достовірних відмінностей в обох групах не відзначалося ($p=0,609$ за критерієм t), що підтверджує незалежність його рівня від патологічних станів.

Дослідження рівня експресії мікроРНК-196а в групах пацієнтів з ХВГС і здорових осіб показало їх значну варіабельність. Показник коливався від 0,06 до 21,05 в контрольній групі і від $4,67E-06$ до 27,06 в основній групі. Медіана рівня експресії міР-196а у всіх хворих склала 0,28 (IQR: 0,01; 0,98), і у здорових осіб – 0,44 (IQR: 0,16; 3,38) при $p=0,128$ (U; H) (рис. 1).

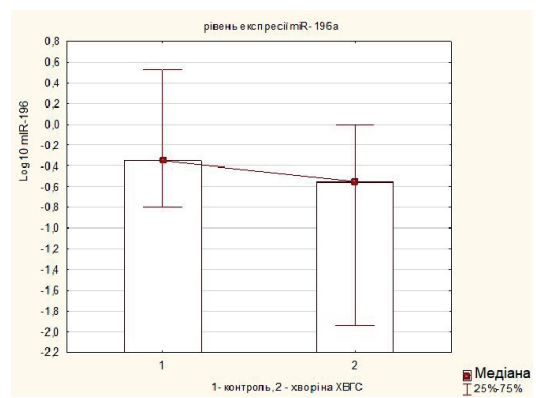
Як видно з рисунку 1, десяткові логарифми показників (Log_{10}) у

хворих в середньому становили – 0,56 (IQR: -1,94; -0,008) і у здорових осіб – -0,35 (IQR: -0,80; 0,52) при $p=0,128$ (U; H).

Проведений кореляційний аналіз між рівнем експресії мікроРНК-196а при хронічному вірусному гепатиті С та основними клініко-лабораторними даними в обстежених хворих показав наявність помірного зворотного кореляційного зв'язку між рівнем експресії мікроРНК-196а та наявністю цирозу печінки ($r_s=-0,328$; $p=0,004$) чи спленомегалії ($r_s=-0,370$; $p=0,003$) у хворих, а також є попереднім досвідом лікування хворого та невдалої терапії, а саме: чи наївний це пацієнт, чи має попередню невдачу терапії схемами, що містять інтерферон (невідповідач або рецидив ХВГС) ($r_s=-0,337$; $p=0,003$). З лабораторних показників крові виявлено прямий достовірний зв'язок з рівнем лейкоцитів ($r_s=0,384$; $p=0,001$), тромбоцитів ($r_s=0,312$; $p=0,007$), абсолютної кількості нейтрофілів ($r_s=0,330$;



а



б

Рисунок 1. Середній рівень експресії міР-196а (а) в групах дослідження в умов. од. та Log_{10} (б), Ме (IQR), де: 1 – контроль, 2 – хворі на ХВГС

$p=0,004$) та зворотний кореляційний зв'язок з рівнем загального білірубину крові ($r_s=-0,325$; $p=0,005$). Слабку щільність зв'язку визначили з рівнем абсолютної кількості лімфоцитів крові ($r_s=0,242$; $p=0,038$).

Далі було проведено регресійний аналіз та за допомогою моделі та оцінки кубічної регресії вивчався вплив вірусного навантаження HCV у хворих на ХВГС на рівень експресії miR-196a, де застосовувались десяткові логарифми показників (рис. 2).

Отримана модель регресії мала коефіцієнт детермінації $R^2=0,21$ при $p=0,06$, що може свідчити про непрямий зв'язок та позитивну тенденцію впливу рівня експресії miR-196a на вірусне навантаження HCV у досліджених хворих.

Після цього вивчали рівні експресії miR-196a залежно від ступеню фіброзу печінки в контрольній групі (при фіброзі F0) та в групі хворих на ХВГС (з рівнем фіброзу F1, F2, F3, F4 в окремих підгрупах) (Рис. 2b). Отримані дані показали значну варіабельність показників в кожній підгрупі ($p=0,05$ за Н). Рівень експресії miR-196a корелював з основними клініко-лабораторними даними у контексті діагностичних коефіцієнтів. Визначення відмінностей рівнів miR-196a по кожній підгрупі у подальшому потребує більш поглибленого аналізу в середині групи, у тому числі, залежно від вірусного навантаження HCV, попереднього досвіду терапії, тощо.

Висновки. Вперше на українській когорті досліджено рівень ек-

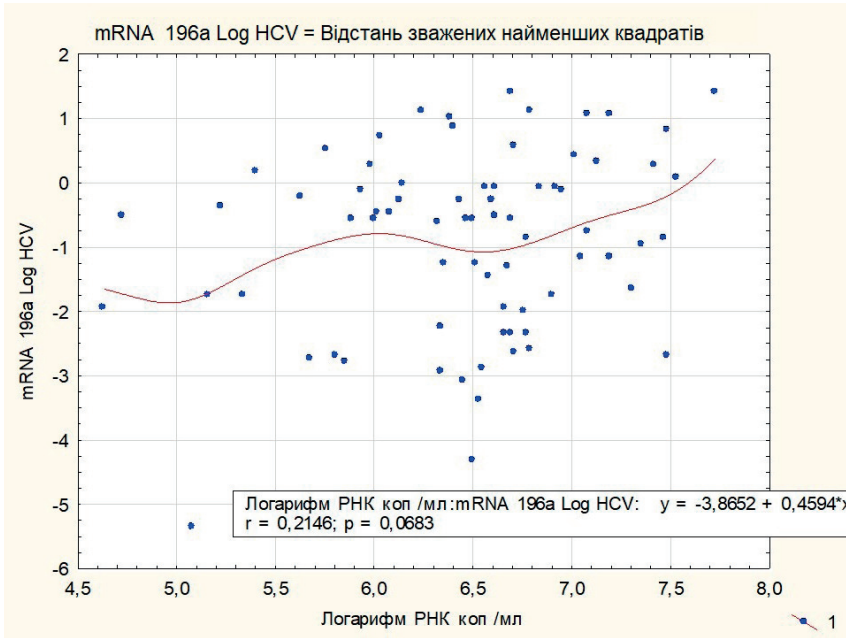
спресії мікроРНК-196a в у хворих на хронічний вірусний гепатит С. Середній рівень експресії мікроРНК-196a у хворих на ХВГС склав 0,28 (IQR: 0,01; 0,98), та у здорових осіб – 0,44 (IQR: 0,16; 3,38) при $p=0,128$ (U; H).

Log_{10} miR-196a у хворих в середньому становили – 0,56 (IQR: -1,94; -0,008) і у здорових осіб – 0,35 (IQR: -0,80; 0,52) при $p=0,128$ (U; H).

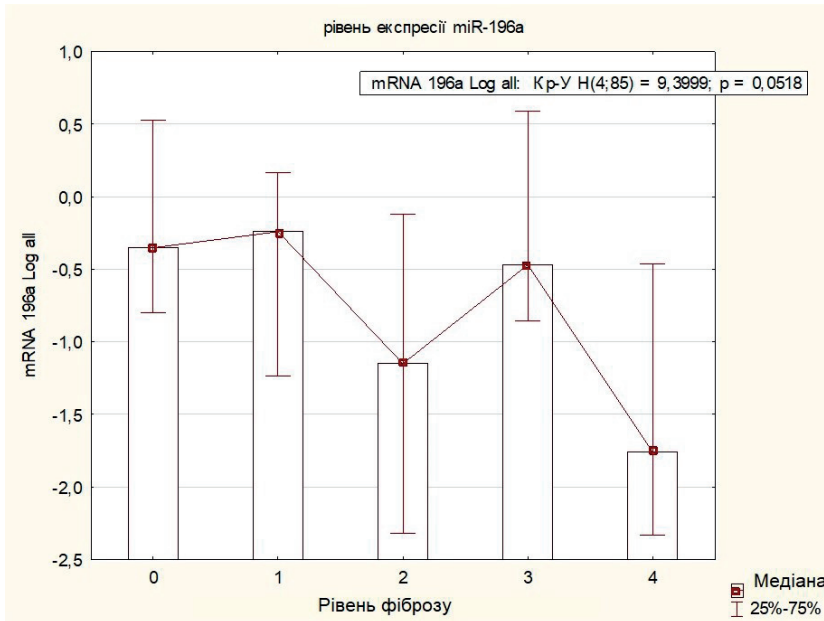
Виявлено помірний достовірний (від $p<0,05$ до $p<0,01$) зворотній кореляційний зв'язок між рівнем експресії мікроРНК-196a при хронічному вірусному гепатиті С та наявністю цирозу печінки чи спленомегалії у хворих; невдалого попереднього досвіду противірусної терапії схемами, що містять інтерферон; з рівнем загального білірубину крові. Прямий зв'язок – з основними загальними лабораторними показниками крові, що може віддзеркалювати участь miR-196a у патогенетичному процесі при вірусному гепатиті С.

Регресійний аналіз вказує на можливість супресивну участь miR-196a на вірусну реплікацію РНК ВГС, що потребує подальшого вивчення цих взаємовідношень.

Отриманий розподіл експресії miR-196a залежно від ступеня фіброзу печінки потребує більш поглибленого аналізу у хворих в середині групи та є перспективою подальших досліджень.



а



б

Рисунок 2. Де: 2а – Регресійний аналіз залежності рівня вірусного навантаження HCV у хворих на ХВГС залежно від експресії Log_{10} miR-196a; 2б – Рівень експресії miR-196a у хворих на ХВГС залежно від ступеня фіброзу печінки, Ме (IQR), де: шкала X - Рівень експресії Log_{10} miR-196a, умов. од., шкала Y –рівень фіброзу від 0 до 4, де 0 – F0 у групі контролю, 1-4 – F1-F2-F3-F4 у хворих на ХВГС відповідно.

Література

1. Guidelines for the care and treatment of persons diagnosed with chronic hepatitis C virus infection. WHO July 2018. 108 p. <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/273174/9789241550345-eng.pdf?ua=1>
2. Поширеність HCV-інфекції в Дніпропетровському регіоні / О. П. Шевченко-Макаренко, Л. Р. Шостакович-Корецька, О.П. Штепа та ін. // Гепатологія. - 2018. - № 1(39). - С.21-28.
3. Шевченко-Макаренко О.П. Прогноз розвитку епідемічного процесу гепатиту С на 2018–2020 роки в Дніпропетровському регіоні та Україні / О.П. Шевченко-Макаренко // Інфекційні хвороби. - 2018. - №2. - С.28-35. doi: 10.11603/1681-2727.2018.2.9031.
4. Kozomara A. miRBase: from microRNA sequences to function / A. Kozomara, M. Birgaoanu, S. Griffiths-Jones // *Nucleic Acids Research*. - 2019. - №47. - P.D155-D162. doi: 10.1093/nar/gky1141.
5. Serum microRNAs as non-invasive biomarkers for cancer / [JC Brase, D Wuttig, R Kuner, H. Sultmann] // *Mol Cancer*. - 2010. - №9 P.306. doi: 10.1186/1476-4598-9-306. PubMed PMID: 21110877; PubMed Central PMCID: PMC3002336.
6. Conrad, K.D. The role of microRNAs in hepatitis C virus RNA replication / Conrad, K.D. & Niepmann, M. // *Arch Virol*. - 2014. - Vol. 159, Is. 5, p. 849–862. doi: 10.1007/s00705-013-1883-4.
7. Miravirsen dosing in chronic hepatitis C patients results in decreased microRNA-122 levels without affecting other microRNAs in plasma / Ree, M. H., Meer, A. J., Nuenen, A. C. et al. // *Aliment Pharmacol Ther*. - 2016. - Vol.43. - P.102-113. doi:10.1111/apt.13432.
8. MicroRNAs in diagnosis and therapeutics / Chiraz Atri, Fatma Z. Guerfali and Dhafer Laouini // *AGO-Driven Non-Coding RNAs*. - 2019. - P.137-177 doi: 10.1016/B978-0-12-815669-8.00006-3.
9. Kwon Y. C. Hepatitis C virus infection: establishment of chronicity and liver disease progression / Kwon Y. C., Ray, R. B., & Ray, R. // *EXCLI journal*. - 2014. - №13. - P.977.
10. MicroRNA-196 represses Bach1 protein and hepatitis C virus gene expression in human hepatoma cells expressing hepatitis C viral proteins / Hou W, Tian Q, Zheng J, Bonkovsky HL. // *Hepatology*. - 2010. - №51 (5). - P.1494-504. doi: 10.1002/hep.23401. PubMed PMID: 20127796; PubMed Central PMCID: PMC2862129.
11. Interferon modulation of cellular microRNAs as an antiviral mechanism / Pedersen IM, Cheng G, Wieland S, et al. // *Nature*. - 2007. - №449 (7164). - P.919-922. doi: 10.1038/nature06205. PubMed PMID: 17943132; PubMed Central PMCID: PMC2748825.
12. Shrivastava, Sh. Hepatitis C virus infection, microRNA and liver disease progression / Sh. Shrivastava, A. Mukherjee, R. B Ray // *World J Hepatol*. - 2013. - Vol.5 (9). - P.479–486. Published online 2013 Sep 27. doi: 10.4254/wjh.v5.i9.479.
13. The Liver MicroRNA Expression Profiles Associated With Chronic Hepatitis C Virus (HCV) Genotype-4 Infection: A Preliminary Study / El-Guendy, N. M., Helwa, R., El-Halawany M. S., ... Abdel-Wahab, A. H. // *Hepatitis monthly*. - 2016. - Vol. 16 (4). - P.e33881. doi 10.5812/hepatmon.33881 PMCID: PMC4893413
14. Circulating liver-specific microRNAs as noninvasive diagnostic biomarkers of hepatic diseases in human / Musaddaq G, Shahzad N, Ashraf MA, Arshad MI. // *Biomarkers*. - 2019. - Vol.24 (2). - P.103-109. doi: 10.1080/1354750X.2018.1528631. Epub 2018 Oct 23. PMID: 30252499