

Bożena Walewska-Zielecka¹, Hanna Świdarska¹, Grażyna Plucienniczak²,
Maria Jończyk¹, Jadwiga Nitkiewicz¹, Andrzej Plucienniczak^{2, 3}, Adam Nowosławski¹

ETIOLOGIA PRZEWLEKŁYCH ZAPALEŃ WĄTROBY NA PODSTAWIE BADAŃ BIOPSJI WĄTROBY I SUROWIC NADESŁANYCH DO ZAKŁADU IMMUNOPATOLOGII PAŃSTWOWEGO ZAKŁADU HIGIENY W LATACH 1993–1995*

Zakład Immunopatologii Państwowego Zakładu Higieny w Warszawie¹,
Zakład Badawczo-Wdrożeniowy Inżynierii Genetycznej PP TERPOL w Sieradzu²,
Centrum Mikrobiologii i Wirusologii PAN w Łodzi³

Celem badań była ocena względnej częstości występowania przewlekłych zapaleń wątroby (p.z.w.) w populacji chorych z przewlekłą patologią wątroby oraz określenie spektrum etiologii tego zespołu, ze szczególnym uwzględnieniem jego zdefiniowanych form histopatologicznych. W badaniach biopsji wątroby i surowic 1156 chorych z rozpoznaniem przewlekłej patologii wątroby zastosowano metody histopatologiczne i immunohistochemiczne oraz metody serologiczne i metodę PCR. Zapalenie przewlekłe wątroby rozpoznano w 685 przypadkach (60% wszystkich badanych przypadków). Grupa ta obejmowała 308 mężczyzn w wieku 18–74 lata (średnio 32 lata) i 153 kobiety w wieku 18–71 lat (średnio 43 lata) oraz 213 dzieci w wieku od 1 roku do 17 lat (średnio 8 lat). Na zakażenia wirusowe wykryte u tych chorych składały się: HBV (50,4%), HCV (36,2%), HBV/HCV (7,2%) i HBV/HDV (0,7%). Na zapalenie autoimmunologiczne (AIH) i kryptogenne przypadło odpowiednio 2,6% i 2,9% wszystkich przypadków. W grupie przypadków zapalenia minimalnego (16,1%), zakażenie HBV wykazano w 66,4%, zakażenie HCV w 29,1%, zakażenie HBV/HCV w 3,6%; do tej grupy zaliczono 1 przypadek AIH. W grupie przypadków zapalenia łagodnego (44,2%), zakażenie HBV wykryto w 47,3% – HCV w 41,9% – HBV/HCV w 9,9%; zapalenie kryptogenne stanowiło 0,9%. W grupie przypadków zapalenia umiarkowanego (19,6%), zakażenie HBV wykryto w 50,0% – HCV w 37,3% – HBV/HCV w 4,5%; zapalenie kryptogenne i AIH stanowiły odpowiednio 3,7% i 4,5%. W grupie przypadków zapalenia ciężkiego (20,1%), zakażenie HBV wykazano w 44,9% – HCV w 28,3% – HBV/HCV w 6,5% – HBV/HDV w 3,6%; zapalenie kryptogenne i AIH stanowiły odpowiednio 6,5% i 8,0%. Autoprzeciwciała (SMA, ANA i LKM) wykryto w 75% przypadków zapalenia kryptogennego, w 51% przypadków o etiologii HBV i HBV/HCV oraz w 46,3% przypadków o etiologii HCV (miana niediagnostyczne dla AIH).

* Badania finansowane w ramach dotacji Komitetu Badań Naukowych (Umowa Nr PB 05081–54).

WSTĘP

Przewlekłe zapalenie wątroby (p.z.w.) jest trwającym dłużej niż 6 mies. zespołem zaburzeń czynności wątroby w następstwie zmian martwiczo-zapalnych (16). Zgodnie z tą definicją, rozpoznanie p.z.w. jest uwarunkowane wynikiem badania histopatologicznego biopsji wątroby, które umożliwia ponadto ocenę stopnia nasilenia procesu zapalnego oraz stadium zaawansowania zmian (6, 13). Ustalenie etiologii p.z.w. jest domeną badań serologicznych oraz badań metodami biologii molekularnej zarówno surowicy, jak i biopsji wątroby (7, 9). Zróżnicowane postaci zapalenia w przebiegu zakażeń HBV, HBV/HDV i HCV oraz zapalenie autoimmunologiczne i polekowe (toksyczne) spełniają kryteria histopatologiczne rozpoznania p.z.w. Przypadki, których nie udaje się odnieść do żadnej z tych etiologii są określane jako zapalenie kryptogenne (6). Przyjmuje się, że przewlekłe zakażenie HBV rozwija się u 5% – 12% osób po przebyciu ostrego wzw typu B (21) i u około 70% osób po przebyciu ostrego wzw typu C (30). Oszacowano, że na świecie żyje obecnie co najmniej 300 mln osób zakażonych HBV (8) i około 300 mln osób zakażonych HCV (3), a około 5% zakażonych HBV jest jednocześnie zakażonych HDV (24). W badaniach prospektywnych wykazano, że u znacznej odsetka osób zakażonych przewlekłe HBV i HCV rozwija się p.z.w. (1, 28).

Celem badań retrospektywnych podjętych w tej pracy była ocena względnej częstości występowania p.z.w. w populacji chorych z przewlekłą patologią wątroby oraz określenie spektrum etiologii tego zespołu, ze szczególnym uwzględnieniem jego zdefiniowanych form histopatologicznych.

MATERIAŁ I METODY

Materiał badany stanowiły biopsje igłowe wątroby i próbki surowic od 1156 chorych hospitalizowanych w 6 Klinikach AM w Warszawie oraz w 9 szpitalach w Warszawie i poza Warszawą w okresie od lutego 1993 do grudnia 1995 r. We wszystkich przypadkach rozpoznanie przewlekłej patologii wątroby było uzasadnione wynikami badań klinicznych i biochemicznych. W części przypadków etiologię sugerowały wyniki wstępnych badań serologicznych w kierunku zakażenia HBV i HCV.

Biopsje dzielono na dwie części, z których jedną utrwalano w formalinie i zata-piano w parafinie, a drugą zamrażano i przechowywano w temp. -40°C . Skrawki parafinowe barwiono hematoksyliną i eozyną, chromotropem 2R i srebrzono met. *Gomori*. W skrawkach parafinowych i skrawkach z zamrożonych fragmentów biopsji poszukiwano ekspresji antygenów HBV i HDV metodą pośredniej immunofluorescencji lub metodą PAP stosując przeciwciała poliklonalne anty-HBs i anty-HBc (Dako) oraz anty-HDV (20, 22, 29). Zamrożone fragmenty biopsji wykorzystano do badań metodą reakcji łańcuchowej polimerazy (PCR) w kierunku obecności HBV DNA i HCV RNA w przypadkach, w których wyniki badania próbek surowic tymi metodami były wątpliwe lub ujemne.

Próbki surowic dzielono na dwie części, z których jedną zamrażano i przechowywano do badań met. PCR w temp. -40°C , a drugą używano do badań met. immunoenzymatyczną (EIA) w kierunku obecności HBsAg, anty-HBc, HBeAg i anty-HBe (IMx, Abbott) oraz anty-HCV (HCV EIA 3,0, Abbott) i anty-HDV

(Hepanostica, Organon). W nielicznych przypadkach (histopatologiczne rozpoznanie ostrego wzv) poszukiwano w surowicach anty-HAV-IgM (Hepanostica, Organon). Wszystkie testy były wykonywane zgodnie ze wskazówkami producenta. Wyniki dodatnie w teście EIA anty-HCV były potwierdzane testem Riba HCV 3,0 (Chiron). Wszystkie próbki surowic badano met. pośredniej immunofluorescencji w kierunku obecności autoprzeciwciał przeciw jądrom komórek (ANA), mięśniom gładkim (SMA), mitochondriom (MIT) i mikrosomom (LKM). Badania przeprowadzono na skrawkach mrożonych z wątroby i nerki szczura przyjmując za diagnostyczne miana $> 1:20$ u dzieci i $> 1:80$ u dorosłych (15).

Do wykrywania HBV DNA met. PCR w surowicy i tkance zastosowano syntetyczne sondy oligonukleotydowe (primery) o sekwencji pozwalającej na zróżnicowanie podtypowe HBV (24). Do wykrywania HCV RNA w surowicy i tkance użyto met. odwrotnej transkrypcji i gniazdowej PCR (RT-PCR), stosując syntetyczne primery komplementarne do konserwatywnego fragmentu regionu 5'UTR genomu HCV, początkowo wg *Stańczaka* i wsp. (28)*, a następnie wykorzystując zestawy Amplicor HCV (Roche).

WYNIKI

Rozpoznanie histopatologiczne typu patologii wątroby ustalono zgodnie z ogólnie przyjętymi kryteriami (27). Klasyfikację poszczególnych typów p.z.w. przeprowadzono na podstawie kryteriów zaproponowanych ostatnio przez międzynarodową grupę ekspertów (6) uwzględniając wstępnie cechy histopatologiczne charakterystyczne lecz nie patognomiczne dla poszczególnych etiologii.

Przewlekłe hepatopatie

Na podstawie badań histopatologicznych, niezależnie od wyników badań serologicznych, wyłączono 54 przypadki, w których ocena zmian nie była możliwa z powodu zbyt małej ilości tkanki lub, w których rozpoznanie mogło być wyłącznie opisowe. Wyłączono ponadto grupę 124 przypadków, w których celem badania było określenie typu przewlekłej patologii wątroby i prawdopodobnej etiologii w przebiegu rozrostów układu chłonnego, leczenia immunosupresyjnego, długotrwałej dializy i po przeszczepach nerek, zakażenia HIV oraz w przebiegu układowych chorób tkanki łącznej. Spośród pozostałych 978 przypadków wydzielono grupę 293 przypadków określonych jako przewlekłe hepatopatie (przewlekłe patologie wątroby), w których obraz histopatologiczny nie spełniał kryteriów rozpoznania żadnej z postaci „klasycznego” p.z.w. Częstość występowania wskaźników zakażenia HBV i HCV w tej grupie chorych przedstawiono w tabeli I. Wskaźniki zakażenia HBV (HBsAg i anty-HBc) wykryto w 33 przypadkach (11,3%), a zakażenia HCV (anty-HCV) w 16 przypadkach (5,5%). W grupie 16 przypadków o cechach morfologicznych

* Autorzy dziękują p. Dr *Ewie Brojer*, Kierownikowi Pracowni Biologii Molekularnej Zakładu Serologii Inst. Hematologii za cenne wskazówki i pomoc we wdrażaniu tej metody.

Tabela I. Wskaźniki zakażenia HBV i HCV w przewlekłych hepatopatiach

Typ patologii wątroby	Wskaźniki serologiczne		
	HBsAg	anty-HBc	anty-HCV
<i>Cirrhosis biliaris primaria</i> , n 61	2	18	0
<i>Hepatitis aethylica*</i> , n 55	2	36	6
<i>Hepatitis toxica</i> , n 25	3	5	0
<i>Hepatitis reactiva</i> , n 16	0	5	0
<i>Cholangitis sclerosans</i> , n 4	0	1	0
<i>Steatosis hepatis</i> , n 20	2	7	0
<i>Amyloidosis</i> , n 2	0	0	0
<i>Hemosiderosis</i> , n 2	0	2	0
<i>Haemochromatosis</i> , n 1	0	1	0
<i>Tuberculosis</i> , n 1	0	0	0
<i>Cholestasis intrahepatica</i> , n 5	0	4	0
<i>Cholangitis chronica</i> , n 4	2	2	0
<i>Morbus Wilsoni</i> , n 5	0	1	0
Nowotwory łagodne i złośliwe wątroby (z wyjątkiem raka pierwotnego) oraz przerzuty nowotworów, n 6	0	1	0
<i>Hepatitis acuta**</i> , n 16	7	8	3
Wątroba prawidłowa***, n 41	15	16	7
Łącznie, 293 (100%)	33 (11,3%)		16 (5,5%)

* W 16/55 przypadków znaleziono współistnienie marskości.

** W grupie 16 przypadków o cechach morfologicznych ostrego lub ostrego zaciągającego się zapalenia stwierdzono 7 przypadków o etiologii HBV, 4 – HAV i 3 – HCV.

W 2 przypadkach etiologii nie ustalono.

*** W grupie „wątroba prawidłowa” w 15 przypadkach zakażenia HBV, obraz lokalizacji HBsAg w tkance uzasadniał rozpoznanie przewlekłego bezobjawowego stanu nosicielstwa HBsAg (tryły healthy carrier).

Uwaga: Autoprzeciwciała mitochondrialne wykryto w 48/61 przypadków (79%) pierwotnej marskości żółciowej, ANA i/lub SMA w 79/232 pozostałych przypadków (34%).

zapalenia ostrego lub ostrego zaciągającego się (przetrwałego) było 7 przypadków o etiologii HBV, 3 – HCV oraz 4 – HAV (w surowicy wykryto anty-HAV-IgM). W dwóch przypadkach etiologii nie ustalono (dane zamieszczone w odnośnikach do tabeli I). Autoprzeciwciała mitochondrialne znaleziono wyłącznie w przypadkach pierwotnej marskości żółciowej; ANA i/lub SMA (w mianach u dzieci i dorosłych odpowiednio <1:20 i <1:80) wykryto w 79 spośród 232 pozostałych przypadków (34,0%) (dane zamieszczone w odnośnikach do tabeli I).

Przewlekłe zapalenia wątroby

Właściwą grupę badaną stanowiło 685 przypadków zdefiniowanych form morfologicznych p.z.w. (tab. II). W tej grupie było 308 mężczyzn w wieku od 18 lat do 74 lat (średnio 32 lata) i 153 kobiety w wieku od 18 lat do 71 lat (średnio 43 lata) oraz 213 dzieci w wieku od 1 roku do 17 lat (średnio 8 lat). Przebycie ostrego objawowego zapalenia wątroby podawało 105 spośród tych osób (15%). Na podstawie badań histopatologicznych wyodrębniono 4 grupy odpowiadające określonym formom

Tabela II. Etiologia zróżnicowanych postaci przewlekłego zapalenia wątroby

Postać zapalenia*	Etiologia					
	HBV	HBV/HDV	HCV	HBV/HCV	AIH	Kryptogenne
<i>Hepatitis chronica minima</i> , n 110 (16,1%)	73	0	32	4	1	0
<i>Hepatitis chronica suavis</i> , n 303** (44,2%)	143	0	127	30	0	3
<i>Hepatitis chronica moderata</i> , n 134** (19,6%)	67	0	50	6	6	5
<i>Hepatitis chronica gravis</i> , n 138** (20,1%)	62	5	39	9	11	12
Łącznie, 685 (100%)	345 (50,4%)	5 (0,7%)	248 (36,2%)	49 (7,2%)	18 (2,6%)	20 (2,9%)

* Przyjęte określenia aktywności (stopnia nasilenia) procesu zapalnego obejmują następujące stosowane dotąd rozpoznania:

<i>Hepatitis chronica minima</i>	{ <i>Hepatitis reactiva nonspecifica</i> <i>Hepatitis chronica lobularis</i> <i>Hepatitis chronica persistens</i>
<i>Hepatitis chronica suavis</i>	{ <i>Hepatitis chronica lobularis gravis</i> <i>Hepatitis chronica persistent gravis</i> <i>Hepatitis chronica activa suavis</i>
<i>Hepatitis chronica moderata</i>	<i>Hepatitis chronica activa moderata</i>
<i>Hepatitis chronica gravis</i>	<i>Hepatitis chronica activa gravis</i>

wg Desmet et al. (1994)

** W 34/685 przypadków (5,0%) – stwierdzono współistnienie marskości. Częstość występowania zmian marskich w poszczególnych grupach etiologicznych wynosiła: HBV – 4/345 (1,2%), HBV/HDV – 0, HCV – 14/248 (5,6%), HBV/HCV – 2/49 (4,1%), AIH – 5/18 (27,8%), Kryptogenne – 9/20 (45%).

Uwaga: W 6/18 przypadków AIH rozpoznanie było sugerowane przez lekarza leczącego.

morfologicznym p.z.w., liczące od 110 do 303 przypadków. Uwzględniając wyniki badań serologicznych oraz immunomorfologicznych, w każdej z tych 4 grup wyłoniono 6 podgrup etiologicznych: zakażenie HBV i HCV, zakażenie mieszane HBV/HDV i HBV/HCV, zapalenie autoimmunologiczne (AIH) oraz zapalenie kryptogenne.

Rozpoznanie zakażenia HBV ustalono na podstawie obecności w surowicy HBsAg i anti-HBc oraz ekspresji HBsAg i/lub HBcAg (20) w tkance. We wszystkich przypadkach zakażenia HBV, próbki surowic badano ponadto w kierunku obecności HBeAg i anti-HBe. W przypadku braku ekspresji HBcAg w hepatocytach poszukiwano ekspresji HDVAg, a w surowicy przeciwciał anti-HDV (wyniki dodatnie uzasadniały rozpoznanie współistniejącego zakażenia HDV). Zakażenie HCV rozpoznawano na podstawie obecności w surowicy anti-HCV (wynik potwierdzony testem RIBA 3).

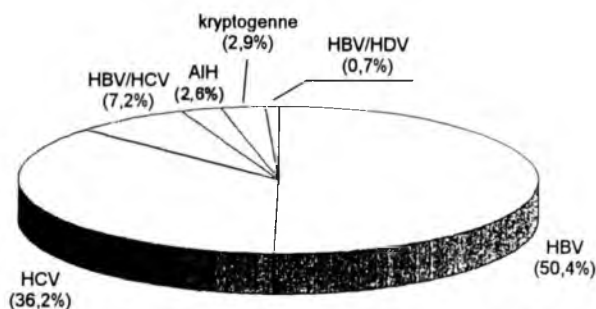
Zakażenie HBV/HCV rozpoznawano wstępnie w przypadkach współistnienia w surowicy HBsAg, anti-HBc i anti-HCV. W badaniach met. PCR surowicy i/lub tkanki wykryto w tej grupie HCV RNA w 26/49 przypadków (53,1%). HBeAg wykryto w surowicy 16/26 przypadków HCV RNA (+) (61,5%) oraz w 17/23 przypadków HCV RNA (-) (73,9%). Nie stwierdzono istotnego związku pomiędzy

obecnością HCV RNA w surowicy i/lub tkance i występowaniem HBeAg w surowicy ($\text{Chi}^2 = 0,85$; $p = 0,357$) (dane nie zamieszczone w tabeli).

Rozpoznanie autoimmunologicznego zapalenia wątroby było uzasadnione wykryciem autoprzeciwciał w mianach $> 1:20$ u dzieci i $> 1:80$ dorosłych: ANA łącznie z SMA lub tylko ANA (AIH typ 1a, 14 przypadków), tylko SMA (AIH typ 1b, 2 przypadki), i LKM (AIH typ 2, 2 przypadki) oraz ujemnymi wynikami badań w kierunku obecności wskaźników serologicznych i immunomorfologicznych zakażeń HBV, HDV i HCV.

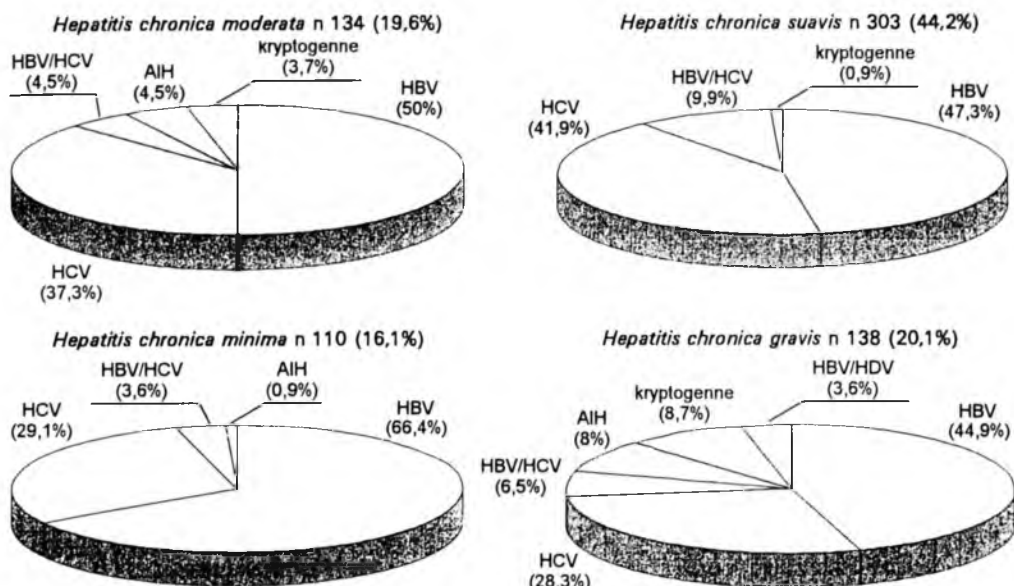
Do grupy zapaleń kryptogennych zaliczono przypadki, które w badaniach serologicznych oraz immunomorfologicznych nie spełniały warunków rozpoznania zakażenia HBV, HDV i HCV. W badaniach met. PCR próbek surowicy i/lub tkanki nie wykryto w żadnym z tych przypadków HBV DNA i HCV RNA. Autoprzeciwciała (ANA, SMA, ANA/SMA) wykryte w 15/20 (75%) tych przypadków uznano za niediagnostyczne dla AIH (miana u dzieci i dorosłych odpowiednio $< 1:20$ i $< 1:80$).

Wśród 685 przypadków morfologicznie zróżnicowanych postaci p.z.w. największy odsetek (44,2%) stanowiły przypadki zapalenia łagodnego. Odsetki przypadające na pozostałe formy były co najmniej dwukrotnie niższe i wynosiły dla zapalenia ciężkiego, zapalenia umiarkowanego i zapalenia minimalnego odpowiednio 20,1%, 19,6% i 16,1%. Etiologia przeszło połowy wszystkich przypadków (59,4%) była związana z zakażeniem HBV, przeszło trzeciej części (36,2%) – zakażeniem HCV. Na zakażenia mieszane HBV/HCV i HBV/HDV przypadały znacznie niższe odsetki (odpowiednio 7,2 i 0,7%). Przypadki zapalenia kryptogennego i autoimmunologicznego stanowiły odpowiednio 2,9% i 2,6% (ryc. 1).



Ryc. 1. Przewlekłe zapalenia wątroby (n 685) – Etiologia.

Zakażenie HBV (345 przypadków) występowało najczęściej pod postacią przewlekłego zapalenia łagodnego (143 przypadki; 41,4%) oraz minimalnego (73 przypadki; 21,2%), a następnie zapalenia umiarkowanego (67 przypadków; 19,4%) i ciężkiego (62/345 przypadków; 18,0%) (ryc. 2). Najczęstszą formą morfologiczną zakażenia HCV (248 przypadków) było zapalenie przewlekłe łagodne (127 przypadków; 51%) oraz umiarkowane (50 przypadków; 20,1%), rzadziej występowało ono pod postacią zapalenia ciężkiego (39 przypadków; 15,7%) oraz minimalnego (32 przypadki; 12,9%). Zakażenie mieszane HBV/HCV (49 przypadków) dotyczyło 30 (61,2%) przypadków zapalenia łagodnego, 9 (18,3%) przypadków zapalenia



Ryc. 2. Postaci histopatologiczne P.Z.W. (n 685) – Etiologia.

ciężkiego, 6 (12,2%) przypadków zapalenia umiarkowanego i 4 (8,2%) przypadków zapalenia minimalnego. Zakażenie HBV/HDV (5 przypadków) miało postać wyłącznie zapalenia ciężkiego (100%). Zapalenie autoimmunologiczne (18 przypadków)

Tabela III. Autoprzeciwiąca w przewlekłych zapaleniach wątroby

Etiologia	Autoprzeciwiąca					Łącznie (%)
	ANA	ANA/SMA	SMA	LKM	LKM/SMA	
HBV, n 345	40 (11,6%)	42 (12%)	93 (27%)	1 (0,2%)	0 (0%)	176 (51,0%)
HBV/HDV, n 5	0 (0%)	0 (0%)	1 (20%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (20,0%)
HCV, n 248	25 (10%)	27 (10,9%)	53 (21,4%)	8 (3,2%)	2 (0,8%)	115 (46,3%)
HBV/HCV, n 49	8 (16,3%)	4 (8,2%)	13 (26,5%)	0 (0%)	0 (0%)	25 (51,0%)
AIH, n 18	3 (16,6%)	11 (61%)	2 (11%)	2 (11%)	0 (0%)	18 (100%)
Kryptogenne, n 20	2 (10%)	5 (25%)	8 (40%)	0 (0%)	0 (0%)	15 (75,0%)
Łącznie, 685 (100%)	78 (11,4%)	89 (13,0%)	170 (24,8%)	11 (1,6%)	2 (0,3%)	350 (51,1%)

Uwaga: po wydzieleniu przypadków AIH i zapalenia kryptogennego, częstość występowania autoprzeciwiac w przypadkach p.z.w. o etiologii wirusowej wynosi 49,0%.

występowało pod postacią zapalenia przewlekłego ciężkiego (11 przypadków, 61%) oraz zapalenia umiarkowanego (6 przypadków; 33%). Zapalenie to rozpoznano również w jednym przypadku zapalenia przewlekłego minimalnego uwzględniając sugestie kliniczne, wysokie miano autoprzeciwciał i brak wskaźników zakażenia HBV i HCV. Zapalenie kryptogenne (20 przypadków) miało najczęściej postać zapalenia przewlekłego ciężkiego (12 przypadków; 60%), rzadziej zapalenia umiarkowanego (5 przypadków; 25%) i najrzadziej – zapalenia łagodnego (3 przypadki; 15%).

Autoprzeciwciała wykryto w 350/685 przypadków (51,1%) zapaleń przewlekłych wątroby (tab. III). Najczęściej wykrywano SMA (24,8%) oraz współistnienie ANA i SMA (13,0%), nieco rzadziej ANA (11,4%) i najrzadziej LKM (1,6%) oraz LKM i SMA (0,3%). Autoprzeciwciała występowały najczęściej (poza przypadkami zapalenia autoimmunologicznego) w przypadkach zapalenia kryptogennego (75%), a następnie w zapaleniach o etiologii HBV (51,0%) i HBV/HCV (51,0%) oraz HCV (46,3%), a najrzadziej w zapaleniu o etiologii HBV/HDV (20,0%).

OMÓWIENIE WYNIKÓW I WNIOSKI

W badanym materiale, chorzy z histopatologicznym rozpoznaniem p.z.w. stanowili przeszło połowę (60%) wszystkich badanych chorych, hospitalizowanych z rozpoznaniem przewlekłej patologii wątroby, u których istniały wskazania do wykonania diagnostycznej biopsji wątroby. Spośród 685 przypadków p.z.w. najliczniejszą grupę (44,2%) stanowiły przypadki przewlekłego łagodnego zapalenia wątroby (*hepatitis chronica suavis*), prawie trzykrotnie większą od każdej z pozostałych grup morfologicznych. Dominującym czynnikiem etiologicznym były zakażenia wirusowe, spośród których na zakażenia HBV i HCV przypadało odpowiednio około 1/2 i nieco powyżej 1/3 wszystkich przypadków; znacznie rzadsze były zakażenia HBV/HCV, a najrzadsze – HBV/HDV. Na zapalenia autoimmunologiczne i kryptogenne (łącznie 5,5%) przypadały zbliżone odsetki przypadków. Zakażenie HBV było również najczęstszym czynnikiem etiologicznym morfologicznie zróżnicowanych postaci p.z.w. z wyjątkiem przewlekłego zapalenia łagodnego, w którym odsetki przypadające na zakażenia HBV i HCV były zbliżone. Ujawniono ponadto zwiększanie się, w zależności od stopnia nasilenia zmian zapalnych, liczby czynników etiologicznych: od 4 w *hepatitis minimalis* i w *hepatitis suavis*, 5 w *hepatitis moderata* do 6 w *hepatitis gravis*.

W podobnych badaniach we Włoszech (26), które obejmowały 463 chorych, wykazano prawie dwukrotnie większą częstość zakażenia HBV niż zakażenia wirusem (wirusami) NANB (odpowiednio 62% i 34%) oraz współistnienie zakażenia HDV w 15% przypadków p.z.w. typu B. Zakażenie HBV ujawniono w 72% przypadków CAH* i w 65% przypadków CLH; jedynie w grupie przypadków CPH częstości etiologii HBV i HCV były zbliżone (53% i 47%). W badaniach przeprowadzonych na Węgrzech i obejmujących 97 chorych na p.z.w. etiologię HBV/HCV wykryto w 38,1%, HBV w 33%, HCV w 16,5%, HBV/HDV w 7,8% oraz HBV/HDV/HCV w 4% (12). Istotne różnice w częstości udziału zakażenia HBV i HCV w etiologii p.z.w. pomiędzy wynikami

* Skróty powszechnie dotąd stosowanych angielskich nazw histopatologicznych postaci p.z.w. (4): aktywnego (CAH), przetrwałego (CPH) i zrazikowego (CLH).

tej pracy i naszymi można zapewne odnieść zarówno do różnicy geograficznej, jak i różnic w stosowanych metodach diagnostycznych.

W badaniach prospektywnych, reprezentatywnych dla USA (1), wykazano ostatnio, że p.z.w. rozwija się u 60% osób przewlekle zakażonych HCV przyjmując w okresie 2 lat postać CPH (43%), CLH (20%) lub CAH (19%). Podobne badania wykonane w Japonii (28) ujawniły rozwój p.z.w. u 90% osób przewlekle zakażonych HCV, utrzymującego się w znacznej większości przypadków w postaci CPH nawet powyżej 10 lat, a następnie przechodzącego szybko w CAH. Marskość rozwijała się u 30%, a rak pierwotny wątroby u 15% tych chorych; samoistną remisję spostrzegano w 2,6% przypadków. Natomiast w przypadkach p.z.w. typu B już po upływie 4–5 lat marskość rozwinęła się u 18% chorych, a rak pierwotny wątroby u 4,6%; samoistna remisja wystąpiła u 33% chorych.

Określona przez nas w tej pracy częstość występowania HCV RNA w surowicy chorych zakażonych HBV/HCV (50,1%) była zbliżona do wartości opublikowanych ostatnio przez autorów japońskich (23). Stwierdzili oni ponadto statystycznie znamiennej zależność pomiędzy występowaniem HBeAg i brakiem HCV RNA w surowicy sugerującą hamujący wpływ replikacji HBV na replikację HCV. W naszych badaniach przeszło dwukrotnie większej liczby przypadków HBV/HCV nie udało się potwierdzić istnienia takiej zależności.

Przyjmowano dotąd, że charakterystyczne dla AIH autoprzeciwiactwa występują bardzo rzadko w p.z.w. typu B i tylko nieco częściej w p.z.w. typu C (6). Ujawnione w naszych badaniach duże częstości występowania tych autoprzeciwiactw (zarówno poszczególnych typów, jak i łącznie) w p.z.w. o etiologii wirusowej są jednakże zbliżone z wynikami najnowszych badań (2).

Częstość występowania przypadków zapalenia kryptogennego określona w tej pracy (około 3%) jest wielokrotnie niższa od opisywanej w piśmiennictwie w okresie poprzedzającym odkrycie HCV (10%–25%). Zakażenie HCV wykryto następnie w 18% takich przypadków (14, 4).

Ostatnio w badaniach surowic z wielu rejonów świata wykazano zakażenie HGV nie tylko w około 10% przypadków p.z.w. typu C, lecz również w około 10% AIH i kryptogennego (18). W równoległych badaniach, częstość zakażenia GBV-C w p.z.w. B określono na 16,7%, w p.z.w. C – 18,9% i w p.z.w. B/D – 39,9% (11) natomiast w przypadkach zapalenia kryptogennego częstość tego zakażenia oceniono na około 38% (10, 17). Można zatem oczekiwać, że badania zakażeń tymi nowoodkrytymi wirusami spowodują dalsze zmniejszenie liczby przypadków p.z.w. o nieznannej etiologii.

Określona w obecnej pracy względna częstość występowania poznanych dotąd etiologii p.z.w. może być, jak się wydaje, odniesiona bez większych zastrzeżeń do całej populacji tych chorych. Dotyczy to również udziału tych etiologii w kształtowaniu postaci histopatologicznych p.z.w. W tym przypadku jednakże, możliwość ekstrapolacji wyników dotyczących liczebności poszczególnych postaci jest bardziej ograniczona, głównie wskutek klinicznej praktyki doboru wskazań do biopsji. Prawie dwukrotnie większa liczba przypadków zapalenia minimalnego i łagodnego niż przypadków zapalenia umiarkowanego i ciężkiego, niewielki odsetek marskości oraz brak przypadków raka pierwotnego wątroby w badanym materiale są prawdopodobnie w znacznej mierze odzwierciedleniem tendencji do pełnej diagnostyki p.z.w. w najwcześniejszych okresach rozwoju.

Autorzy dziękują paniom *Barbarze Bartocha, Teresie Kozera, Helenie Rachubik i Wandzie Szymanek-Stós* za pomoc techniczną oraz pani *Alinie Tylińskiej* za opracowanie maszynopisu pracy.

*B. Walewska-Zielecka, H. Świdorska, G. Plucienniczak, M. Jończyk, J. Nitkiewicz,
A. Plucienniczak, A. Nowosławski*

ETIOLOGY OF CHRONIC HEPATITIS AS EVALUATED BY EXAMINATION
OF LIVER BIOPSY SPECIMENS AND SERUM SAMPLES SUBMITTED
TO THE IMMUNOPATHOLOGY DEPARTMENT
OF THE NATIONAL INSTITUTE OF HYGIENE FROM 1993 THROUGH 1995

SUMMARY

The purpose of this study was to assess the relative incidence of chronic hepatitis in a population of patients with chronic liver disease and to determine the etiological spectrum of this syndrome with special reference to its defined histopathological forms. Histopathology aided by immunohistochemistry, and serology aided by the PCR method were employed in studies of liver biopsy specimens and serum samples, respectively. Out of 1150 patients with chronic liver disease examined, chronic hepatitis was diagnosed in 685 (60% of all cases examined). In this group, there were 308 males aged 18–74 yrs (mean 32 yrs), 153 females aged 18–71 yrs (mean 43 yrs), and 213 children aged 1–17 yrs (mean 8 yrs). Viral infections documented in these patients included HBV (50,4%), HCV (36,2%), HBV/HCV (7,2%) and HBV/HDV (0,7%); cryptogenic and autoimmune hepatitis (AIH) accounted for 2,9% and 2,6% all cases, respectively. In the group of minimal hepatitis (16,1%), HBV infection was documented in 66,4% of cases, HCV – in 29,1%, HBV/HCV – in 3,6% (one case of AIH was included into this group). In the group of mild hepatitis (44,2%), HBV infection accounted for 47,3% of cases, HCV – for 41,9%, HBV/HCV – for 9,9%, and 0,9% was diagnosed as cryptogenic. In the group of moderate hepatitis (19,6%), HBV infection accounted for 50% of cases, HCV – for 37,3%, and HBV/HCV – for 4,5%; cases of cryptogenic and AIH accounted for 3,7% and 4,5%, respectively. In the group of severe hepatitis (20,1%), HBV etiology was found in 44,9% of cases, HCV – in 28,3%, HBV/HCV – in 6,5% and HBV/HDV – in 3,6%; cryptogenic and AIH accounted for 6,5% and 8,0% of cases, respectively. There was a high incidence of low-titer autoantibodies (SMA, ANA and LKM) ranging from 75% in cryptogenic hepatitis and 51% in each HBV and HBV/HCV hepatitis to 46,3% in HCV hepatitis.

PIŚMIENICTWO

1. *Alter M., Margolis H.S., Krawczyński K.*: N. Engl. J. Med., 1992, 327, 1899. – 2. *Clifford B.D., Donahue D., Smith L.* et al.: Hepatology, 1995, 21, 613. – 3. *Coppola R., Rizetto M., Bradley D.W.*: Viral hepatitis handbook. ed. *O. Crivelli*. Sorin Biomed. Dgn., Saluggia, 1996. – 4. *Czaja A.J., Carpenter A.H., Santrach P.J.* et al.: Gastroenterol., 1993, 104, 1755. – 5. *De Groote J., Desmet V.J., Gedigk P.*, et al.: Lancet, 1968, 2, 626. – 6. *Desmet V.J., Gerber M., Hoofnagle J.H.*, et al.: Hepatology, 1994, 19, 1513. – 7. *El-Bartany M.H., Savage K., Jacobs R.* et al.: J. Med. Virol., 1994, 43, 380. – 8. *Fagan E.A.*: Proc. Europ. Conf. on hepatitis B as an occupational hazard. 11–12.12.1990, Geneva. – 9. *Fagan E.A., Davison F.D., Trowbridge R.* et al.: Quart. J. Med., 1991, 78, 123. – 10. *Fiordalisi G., Bettinardi A., Zanella I.* et al.: Mat. IX. Intern. Symp. Viral Hepatitis & Liver Disease. Rzym, 21–25.04.1996.
11. *Heringlake S., Tillmann H.L., Berger S.* et al.: ibidem. – 12. *Horvath G., Gyula T., Karoly D.*: Orvosi Hetilap, 1992, 133, 2475. – 13. *Ishak K.G.*: Modern Pathology, 1994, 7, 690. – 14. *Jeffers J.*,

- Hasan F., de Medina M. et al.: *Hepatology*, 1992, 15, 187. – 15. Johnson P.J., Mc Farlane I.G.: *Hepatology*, 1993, 18, 998. – 16. Leevy C.M., Popper H., Sherlock S.: Diseases of the liver and biliary tract. Standardization of nomenclature, diagnostic criteria, and diagnostic methodology. Fogarty Intern. Center Proc. No 22.1976. – 17. Leon R., Dawson G., Jeffers L. et al.: *Mat. IX. Intern. Symp. Viral Hepatitis & Liver Disease*. Rzym. 21–25.04.1996, C.232. – 18. Linnen J., Wages J., Zhang-Keck Z.Y. et al.: *Science*, 1996, 271, 505. – 19. Mann M.P.: *Mat. IX. Intern. Symp. Viral Hepatitis & Liver Disease*. Rzym. 21–25.04.1996, 108, 31. – 20. Nazarewicz-de Mezer T., Krawczyński K., Michalak T., Nowosławski A.: *Virus and the Liver*. ed. L. Bianchi et al. MTP Press Ltd. 1980, 85.
21. Norkrans G., Hermodsson S., Lundinn P. et al.: *Infection*, 1976, 4, 17. – 22. Nowosławski A., Krawczyński K., Nazarewicz T., Ślusarczyk J.: *Am. J. Med. Sci.*, 1975, 270, 229. – 23. Ohkawa K., Hayashi N., Ynki N. et al.: *J. Hepatol.*, 1994, 21, 509. – 24. Plucienniczak G., Plucienniczak A. patent P.205065.1994. – 25. Rizetto M., Verme G., Gerin J.L. et al.: *Progress in liver disease red. H. Popper, F. Schaffner*; wyd. Grune, Stratton. New York. 1986.VIII. – 26. Scevola D., Zambelli A., Albiero D. et al.: *Boll. Ist. Sieroter.*, Milan 1989, 68, 258. – 27. Sheuer P.J.: *Liver biopsy interpretation*. Bailliere, Tindall, London; wyd. 2, 1973. – 28. Stańczak J.J., Brojer E., Radlińska M. et al.: *Zeszyty Hepatol.*, 1994, 7, 18–26. – 29. Walewska-Zielecka B., Nowosławski A.: *Pat. Pol.*, 1990, 4, 157. – 30. Yano M., Yatsuhashi H., Inone O. et al.: *Gut*, 1993 (suppl.) S13.

Adres: Zakład Immunopatologii Państwowego Zakładu Higieny
00-749 Warszawa, ul. Chocimska 24