PRZEGL EPIDEMIOL 2005; 59:373–384

*Jacek Juszczyk*

# PIĘTNAŚCIE LAT BADAŃ NAD WIRUSEM C ZAPALENIA WĄTROBY W POLSCE

Katedra i Klinika Chorób Zakaźnych AM w Poznaniu
Kierownik: prof. dr Jacek Juszczyk

*Artykuł jest przeglądem opublikowanych wyników badań nad wirusem zapalenia wątroby typu C na wielu polach: epidemiologii, wirusologii, patogenezy, koinfekcji i leczenia przeciwwirusowego. Wzięto pod uwagę prace badaczy polskich oraz powstałe w wyniku ich współpracy z grupami międzynarodowymi.*

*Słowa kluczowe: wirus C zapalenia wątroby, przewlekłe wirusowe zapalenie wątroby, leczenie zakażeń HCV*
*Key words: hepatitis C virus, chronic hepatitis C, therapy in chronic hepatitis C*

Historia badań prowadzonych w naszym kraju nad wirusem C zapalenia wątroby (HCV) oraz skutków zakażenia przezeń wywoływanego – w prezentowanym tu ujęciu wymaga komentarza. Jej autor nie może, zważywszy na ograniczenie miejsca w druku, uwzględniać wszystkich prac powstałych na ten temat. Z pojedynczymi wyjątkami, uzasadnionymi potrzebami typowo kronikarskimi, zrezygnowałem z bardzo licznych doniesień zjazdowych, krajowych i zagranicznych (jak również bardzo licznych prac poglądowych). Podstawą takiej decyzji było przekonanie, że autorzy doniesień zjazdowych publikowali najbardziej wartościowe z nich w formie pełnych artykułów w czasopismach. (Dużą rolę odegrały tu Zjazdy Naukowe Polskiego Towarzystwa Epidemiologów i Lekarzy Chorób Zakaźnych oraz Warsztaty Hepatologiczne – jako forum wymiany opinii oraz ustalania zasad postępowania).

Zwróciłem się do kierowników renomowanych ośrodków krajowych z prośbą o nadesłanie wyselekcjonowanych przez nich prac, powstałych w ich zespołach badawczych, które w ramach „wewnętrznej recenzji" uważają za najbardziej wartościowe. Jako następne kryterium przyjąłem nowatorstwo, twórcze pogłębienie wątków występujących w piśmiennictwie, jak również wyniki badań odnoszące się do populacji rodzimej, co ma szczególne znaczenie w informacjach dotyczących epidemiologii, kliniki i terapii. Zważywszy na specyfikę pediatryczną, tylko w niewielkim stopniu uwzględniono badania (epidemiologia, patogeneza) prowadzone przez specjalistów z tej dziedziny w przekonaniu, że być może będzie to tematem odrębnego opracowania. W artykule tym zrezygnowałem także z cytowania prac z piśmiennictwa obcego, jako odnośnika do badań rodzimych (n.b. jest to rozgraniczenie sztuczne, ponieważ znakomite dzieła naukowe są dorobkiem uniwersalnym).

Byłoby to niemożliwe w publikacji o ograniczonej objętości. Poza tym, jest ona przeznaczona dla grona specjalistów znających tę tematykę. Nakreślony sposób postępowania zapewnie nie jest wolny od wad, lecz może być kanwą dla innych, szerszych analiz.

## HEPATITIS NON-A, NON B

W drugiej połowie lat 70. badacze amerykańscy na podstawie spostrzeżeń klinicznych, potwierdzonych w eksperymentach na szympansach, wysunęli koncepcję o istnieniu niezidentyfikowanego wirusa hepatotropowego o cechach zakażenia parenteralnego, określonego jako wirus *non-A,non-B* (1). W roku 1982 ukazała się praca *Cianciary* i wsp. (2) będąca analizą 27 takich przypadków. Opisano w niej odrębności kliniczno-biochemiczne choroby w porównaniu z *hepatitis B,* w tym fazowość wzrostu aktywności AlAT, rzadsze występowanie żółtaczki oraz tendencję do przewlekłości procesu. Metodą immunodyfuzji wykazano obecność antygenu związanego prawdopodobnie z wirusem non-A,non-B.

Po wprowadzeniu testów wczesnej generacji w kierunku anty-HCV, w ośrodku bydgoskim zweryfikowano 65 osób z rozpoznaniem *hepatitis non-A,non-B*, ustalając zakażenie HCV u 38,5 % z nich (3).

## HCV: EPIDEMIOLOGIA

W roku 1989, również badacze amerykańscy skonstruowali test diagnostyczny I generacji umożliwiający wykrywanie przeciwciał anty-HCV (1). W rok później przedstawiono (podsumowanie: 4) wyniki oznaczeń tego rodzaju testem, przeprowadzonych w dziewięciu ośrodkach polskich u zróżnicowanej epidemiologicznie populacji polskiej w liczbie 1223 osób. Seropozytywność była najwyższa u narkomanów i narkomanów HIV+ (72,2% i 74,6%), pacjentów dializowanych (44,6%), chorych na ostre *hepatitis non-A,non-B* (42,1%) i *hepatitis chronica non-A,non-B* (31%). Wskaźnik ten u dawców krwi wynosił, w zależności od regionu kraju, od 1,7% do 4,3% (średnio 2,7%).

W Polsce do tej pory nie przeprowadzono badań nad częstością zakażeń HCV w oparciu o systematyczne, właściwie zaplanowane badania epidemiologiczne. Opublikowane dane, pochodzące z bardzo różnych źródeł i dotyczące zróżnicowanych grup, pozwalają przyjąć, iż wskaźnik ten wynosi ok. 1,5% z wysoce prawdopodobnymi odchyleniami od tej wartości w różnych regionach kraju. Pierwsze badania prowadzone przy zastosowaniu technik biologii molekularnej pochodzące z r. 1995 (5) pozwoliły na zidentyfikowanie genotypów 44 izolatów HCV z przewagą genotypu 1. Metodą serotypowania potwierdzono (6) odsetkową przewagę tego genotypu (55-65%) należącego do serotypu 1. W materiale (7) obejmującym przeszło 800 osób genotypem 1b było zakażonych 72,5%, lecz tylko 53% dzieci, drugim w kolejności był genotyp 3a (odpowiednio: 14,6% i 5,6%), a trzecim – zakażenia genotypowo mieszane (8,7% i 8,3%). U dzieci, drugim w kolejności był genotyp 1a (30%; u dorosłych tylko 2,3%). Badania porównawcze, przeprowadzone przez *Stańczaka* i wsp. (8) obejmujące łącznie 2034 osób, wykazały zmniejszanie się pomiędzy latami 1993-2002 odsetków zakażonych genotypem 1b, z 88,5% do 73,5% ze wzrostem infekcji genotypem 3a, z 4,2% do 18,6%. W innym opracowaniu, dotyczącym dzieci (koniec lat 90. ub. wieku) proporcje występowania genotypów były także różne w porównaniu z populacją osób dorosłych: 1a – 51,7%, 1b – 45% i 3a – 3,3% (9).

Po wprowadzeniu w Polsce w 2000 r. oznaczania HCV-RNA u wszystkich dawców krwi stwierdzono (10), na podstawie badań 2,37 mln próbek krwi, obecność RNA-HCV u 50 osób (1:54 200; 18,5/1 milion) bez anty-HCV. Częstość genotypu 1b u osób z anty-HCV wynosiła 76% u dawców i 85% u chorych na *hepatitis chronica C*, podczas gdy w grupie anty-HCV ujemnych zakażonych genotypem 1b było 36%, 3a – 40% i 4c/d – 14%. Referowane tu badania mają duże znaczenie nie tylko w śledzeniu zmian w epidemiologii zakażeń, lecz również w planowaniu potrzeb terapeutycznych, ponieważ odpowiedź na leczenie jest genotypowo zróżnicowana.

## BADANIA SEROLOGICZNE

Wprowadzenie do diagnostyki zakażeń HCV metody immunoblottingu umożliwiło bardzo szczegółową analizę reaktywności humoralnej w zakażeniu tym wirusem (1), jak również możliwość rozpoznawania zakażeń u osób ujemnych w testach przesiewowych (11). W piśmiennictwie na ogół traktowano tę metodę jako potwierdzającą lub wykluczającą zakażenie (wg 1). Stwierdzano, porównując wyniki z oznaczeniami RNA-HCV (11) reaktywność ograniczoną do jednego antygenu wirusa, jak również szeroką, obejmującą kilka antygenów z możliwością samoistnego zaniku wiremii u 34% badanych. W omawianym teście (wariant 4-RIBA) przy zgodności z testem przesiewowym na anty-HCV na poziomie 73% (12) dodatnia reakcja występowała najczęściej ze strukturalnym rdzeniowym peptydem HCV (95,7% surowic). Analiza wyników uzyskanych w technice Western-blot wykazała narastanie reaktywności w okresie ostrego *hepatitis C* bez związku z przechodzeniem infekcji w stan przewlekły; zaproponowano blot-indeks umożliwiający śledzenie dynamiki zmian serologicznych (13). Rozpowszechnienie się metody RT-PCR spowodowało brak dalszego zainteresowania tego rodzaju badaniami.

Przeprowadzono także badania użyteczności testu wykrywającego antygen HCV (HCVcAg) w krwiodawstwie (14). Na podstawie zbadania 133 279 próbek krwi, jego swoistość oceniono na 99,94%. Spośród 102 dawców, u których nie wykryto anty-HCV, natomiast powtarzalnie dodatni był test w kieruku HCVcAg, u wszystkich wykryto RNA-HCV. Serokonwersja w anty-HCV w ciągu 5-7 tygodni wystąpiła u 2,9% z nich.

## WŁAŚCIWOŚCI HCV I PATOGENEZA ZAKAŻENIA

Począwszy od początku lat 90. w światowym piśmiennictwie pojawiły się, traktowane kontrowersyjnie z powodów metodologicznych, informacje o pozawątrobowych rezerwuarach HCV (wg 1). Dla HCV formą replikatywną jest RNA o ujemnej polarności, stąd dla wykazania możliwości namnażania się tego wirusa pozawątrobowo konieczne jest udowodnienie występowania tej postaci RNA-HCV w innych komórkach, aniżeli hepatocyty. Począwszy od końca lat 90. prace w tym kierunku są prowadzone w warszawskim Instytucie Chorób Zakaźnych i Pasożytniczych we współpracy z ośrodkami amerykańskimi. U zmarłych na AIDS ze współzakażeniem HCV ww. formę RNA-HCV stwierdzono (15) poza wątrobą także w węzłach chłonnych i trzustce, natomiast rzadziej w nadnerczach, tarczycy, szpiku kostnym i w śledzionie. Także u zakażonych HIV-1 i HCV najczęściej replikacyjną postać RNA-HCV wykryto (16), w kolejności występowania, w monocytach/makrofagach, limfocytach CD4+ i CD8+ oraz w limfocytach B. Wskazuje to na możliwość

replikacji HCV w tych samych komórkach, co HIV, a więc także na interaktywne oddziaływanie obu wirusów. W eksperymencie przeprowadzonym *in vitro* zakażano monocyty/makrofagi osób zdrowych HIV-1 (wirus M-tropowy), a następnie poddawano ekspozycji na surowice HCV-dodatnie, wykazując (17) własności HIV-1 do nasilania replikacji HCV lub czyniąc komórki zakażone HIV-1 bardziej wrażliwymi na koinfekcję. HCV należy do rodziny *Flaviviridae,* do której należą także wirusy neurotropowe; u zakażonych HCV występują często kliniczne objawy świadczące o możliwości zajęcia obwodowego i ośrodkowego układu nerwowego, zwłaszcza u współzakażonych HIV-1. Podobnie jak to było w wynikach badań zespołu warszawsko-amerykańskiego, dzięki bardzo swoistej metodzie RT-PCR (z zastosowaniem termostabilnego enzymu Tth), replikatywną postać RNA-HCV wykryto (18) w mózgach (materiał autopsyjny) pochodzących od zakażonych HCV; wykazano możliwość różnic genotypowych pomiędzy RNA-HCV z tkanki mózgowej i z surowicy. W warunkach *in vitro* po inkubacji makrofagów osób zdrowych z surowicami RNA-HCV+ potwierdzono (19) obecność replikacyjnej postaci RNA wirusa w tych komórkach zauważając, że sekwencje RNA-HCV w makrofagach po 2-3 tygodniowej hodowli mogą różnić się od sekwencji występujących w surowicach użytych do eksperymentu. W supernatancie stwierdzono wysokie stężenia TNF-$\alpha$ i IL-8 wytwarzanych przez zakażone komórki, lecz nie IL-1$\beta$, IL-6 i IL-p70. Jest to ważne odkrycie dotyczące indukcji wytwarzania określonych cytokin przez zakażone makrofagi.

W badaniach nad ekspresją cytokin w tkance wątrobowej, przeprowadzonych w ośrodku poznańskim, stwierdzono (20) metodami immunocytochemicznymi, hybrydyzacją *in situ* oraz techniką ImmunoMax ekspresję TNF-$\alpha$ przede wszystkim w komórkach zatok wątrobowych (makrofagach i śródbłonkowych), jak również w hepatocytach, obok IL-1$\alpha$ i IL-2, co potwierdza patogenetyczne znaczenie tych cytokin oddziałujących lokalnie w tym zakażeniu. Techniką ImmunoMax wykazano (21) cytoplazmatyczną lokalizację białka NS3 HCV, dominującą nad umiejscowieniem jądrowym w hepatocytach; natomiast tylko u dorosłych przeważała lokalizacja cytoplazmatyczna nad jądrową białka C HCV. Nie wykazano korelacji pomiędzy ekspresją obu ww. białek (miało ją od 5% do 25% hepatocytów) a stopniem zaawansowania zmian zapalnych i włóknienia.

## ZMIANY MORFOLOGICZNE W WĄTROBIE

Wprowadzenie półilościowych skal służących do oceny stopnia zaawansowania zapalenia i włóknienia stało się podstawą analizy materiału rodzimego, obejmującego także *hepatitis C* (22). Prace na ten temat były także tematem innych doniesień.

Szczegółowe badania morfologiczne przeprowadzone w ośrodku poznańskim wykazały w biopunktatach od chorych z *hepatitis chronica C* (23,24) przede wszystkim zmiany w strukturze jąder hepatocytów, opisane po raz pierwszy, (zmiany kształtu, obrzęk, hyperchromazję, zaburzenia struktury chromatynowej, zwiększenie liczby jąderek oraz uszkodzenia błony jądrowej). Na poziomie badań elektronowo-mikroskopowych najważniejszymi znaleziskami były kompleksy tubul lub rozgałęzionych włókien o średnicy 20-30 nm, którym towarzyszyły podobne struktury w siatce śródplazmatycznej szorstkiej; ponadto wykazano uszkodzenie mitochondriów, zwiększenie liczby lizosomów, osmofilne wolne tabule w cytoplazmie oraz liczne wakuole lipidowe.

## BADANIA BIOCHEMICZNE

W końcu lat 90., w ramach badań nad zaburzeniami układu antyoksydacyjnego w *hepatitis chronica C* stwierdzono (25) u większości pacjentów zmniejszenie stężenia zredukowanej postaci glutationu w erytrocytach krwi obwodowej, co uprzednio zostało opisane także odnośnie wartości tego antyoksydantu w plazmie.

Zwrócono uwagę (26) na wartość oznaczania katepsyny B, E-glukoronidazy i białkowych grup tiolowych w *hepatitis chronica C* z ewolucją do marskości wątroby; o ile ww. dwa enzymy wykazywały wzrost aktywności, o tyle stężenie tioli było obniżone.

Temat ten wiąże się z pracami prowadzonymi w ośrodku białostockim, a dotyczącymi poszukiwań nieinwazyjnych markerów włóknienia wątrobowego w przebiegu *hepatitis chronica B* i *C*, co jest obecnie jednym z bardzo często poruszanych tematów w piśmiennictwie hepatologicznym. Stopień nasilenia włóknienia wątrobowego, lecz nie zapalenia, w badaniach tych (27) korelował z podwyższonym plazmatycznym stężeniem TGF-β1 oraz TIMP-1. TGF-β1 ma własności prowłóknieniowe poprzez indukcję przekształcania wątrobowych komórek gwiaździstych w miofibroblasty, jak również hamowania degradacji macierzy). TIMP-1 z kolei, jest inhibitorem aktywności metaloproteinazy-1, przez co zmniejsza degradację zewnątrzkomórkowych białek macierzy wytwarzanych przez komórki gwiaździste.

Z tego samego ośrodka pochodzi doniesienie (28) o korelacji pomiędzy zwiększoną liczbą aktywowanych komórek T (HLADR+) i NK a aktywnością histologiczną zmian wątrobowych oraz stopniem włóknienia; natomiast brak jest związku pomiędzy tymi dwoma podstawowymi parametrami oceny histopatologicznej a limfocytami CD4+, CD8+ i B (CD19+). Bardzo ważny wątek udziału płytek krwi w przewlekłym zapaleniu wątroby (sekrecja substancji bioaktywnych do otoczenia, m.in. o własnościach chemotaktycznych i adhezyjnych i wynikające z tego własności modulujące interakcje międzykomórkowe zróżnicowanych składników tkankowych) podjęto w kontekście ich znaczenia w procesach włóknienia wątrobowego (29). Stwierdzono ich zaburzenia morfologiczne (wzrost liczby megatrombocytów) i czynnościowe oraz zwiększoną aktywność sekrecyjną np. w zakresie P-selektyn, co może mieć związek z procesami profibrotycznymi.

W *hepatitis chronica* B i C nie stwierdzono zwiększonych stężeń progastryny i gastryny; ulegają one natomiast wzrostowi w marskości wątroby prawdopodobnie w związku z upośledzonym ich metabolizmem (30).

## ZAGADNIENIA KLINICZNE

Większość zakażeń HCV ma początkowo przebieg bezobjawowy, a rozpoznanie ostrej fazy infekcji stwarza trudności rozpoznawcze (wg 1). Stosunkowo niewiele jest opracowań dotyczących tej fazy choroby. Przy zastosowaniu restrykcyjnych kryteriów diagnostycznych w materiale obejmującym 64 pacjentów z ośrodka kieleckiego stwierdzono (31) przejście w zapalenie przewlekłe w 64%, co dotyczyło (model wielowymiarowej regresji logistycznej) osób powyżej 40 roku życia, przebiegu bezżółtaczkowego i zakażenia jatrogennego. Odległe obserwacje prowadzone przez 8 lat u osób po klinicznie rozpoznanym ostrym *hepatitis C* wykazano samoistny klirens HCV-RNA w 30% przypadków, jednakże z obecnością HCV-RNA w mononuklearach krwi obwodowej w pojedynczych przypadkach (32). Również odległe obserwacje prowadzone do 60 miesiąca wskazują na możli-

wość trzech kierunków ewolucji z fazy zakażenia ostrego: wyzdrowienie, zapalenie przewlekłe oraz postać przewlekła ulegająca samowyleczeniu (33).

W analizie porównawczej zakażeń HCV u dawców krwi oraz u osób nie należących do tej kategorii stwierdzono w badaniach przeprowadzonych po 2000 r. (34), iż w pierwszym badaniu klinicznym dominującym objawem jest hepatomegalia, zwiększona aktywność AlAT częściej dotyczy osób z grupy drugiej, a źródła zakażenia w 80% do przeszło 90% są nadal jatrogenne. Podobne dane pochodzą z innej pracy, z innego ośrodka (35). Czynnikami ryzyka zakażenia, występującymi u 97% pacjentów spośród 300 zbadanych było: leczenie stomatologiczne, hospitalizacja i zabieg chirurgiczny, a 3-krotnie rzadziej przetoczenie krwi (35). Dowodzi to nieodpowiedniego przestrzegania zasad ochrony przed tą infekcją w naszych zakładach medycznych.

W ośrodku warszawskim przeprowadzono badania nad występowaniem u przewlekle zakażonych HCV krioglobulinemii, którą stwierdzono u 36,5% przewlekle zakażonych HCV. Zgodnie z doniesieniami z piśmiennictwa, jest to typ III. Przeszło 90% pacjentów ma krążące kompleksy immunologiczne, a prawie 70% autoprzeciwciała (36). Zakażeni z krioglobulinemią nie różnili się od grupy bez krioglobulinemii pod względem płci, wieku, drogi zakażenia, okresu trwania choroby i częstości występowania jawnej klinicznie marskości wątroby. Natomiast w obrazie histopatologicznym wątroby u pacjentów z krioglobulinemią było większe nasilenie zmian zapalnych i włóknienia oraz częstsze były podwyższone aktywności AlAT. Kliniczne objawy *vasculitis* występowały w 13% chorych z krioglobulinemią (37).

Nie stwierdzono częstszego występowania objawów *lichen planus* w jamie ustnej u osób zakażonych HCV (38).

Genetyczne uwarunkowania *hepatitis chronica C* były tematem dwóch doniesień z dwóch różnych ośrodków. W badaniach nad genotypami HLA klasy II stwierdzono ujemne skojarzenie przewlekłego zakażenia HCV z *DQB1*0301*, natomiast dodatnie z *DRB1*0701 – DQA1*0201 – DQB1*02* (39). W drugim studium (40), statystycznie znamienna korelacja pomiędzy aktywnością martwiczo-zapalną występowała dla osób z allelami *DRB1*13* oraz *DRB1*07,* a postęp choroby – z allelem *DRB1*13*.

## LECZENIE PRZECIWWIRUSOWE

Wprowadzenie do leczenia *hepatitis chronica C* interferonu-α (IFN-α), IFN-α z rybawiryną, a następnie postaci pegylowanej IFN- α (Peg IFN-α) z rybawiryną owocowało bardzo licznymi doniesieniami w piśmiennictwie rodzimym. Zostaną one przedstawione tylko w znacznie ograniczonym wyborze.

W dwóch badaniach wieloośrodkowych, opublikowanych w 2004 r. uzyskano następujące wyniki. Po zastosowaniu kombinowanego leczenia PegIFN-alfa2a z rybawiryną (41) przez 48 tygodni spośród 170 leczonych z możliwością oceny SVR, uzyskało tę wartość 58,2% chorych (genotyp nie-1 – 85,7%, genotyp 1 – 52,8%). Z powodu objawów niepożądanych leczenie przerwano u 6 osób. Natomiast SVR po leczeniu PegIFN-alfa2b z rybawiryną (42) przez 52 tygodnie wynosił 59% spośród 139 osób, u których możliwa była ocena tego parametru (nie oznaczano genotypów). Objawy niepożądane były przyczyną zaprzestania leczenia u 7 pacjentów. Są to więc wartości mieszczące się w przedziałach podawanych przez inne ośrodki zagraniczne.

W trakcie leczenia IFN-α z rybawiryną, jako efekt toksycznego oddziaływania rybawiryny, stwierdzono (43) zmniejszenie stężenia hemoglobiny o ≥ 2 mmol/L w ciągu pierwszego miesiąca leczenia kombinowanego u 30,5%, a po pół roku terapii u 45,3% pacjentów, rzadko poniżej wartości uznawanej za typową dla niedokrwistości, tj. <7,5 mmol/L. Wzrost stężenia bilirubiny całkowitej ≥ 8,5 μmol/L po miesiącu wystąpił u 17% osób i w podobnym odsetku dotyczyło to zwiększenia stężenia żelaza ≥ 50 μg/dl. U nieco ponad 30% leczonych zmniejszyło się stężenie haptoglobiny o co najmniej 50 mg/Dl.

W trakcie leczenia IFN-α lub IFN- α z rybawiryną objawy dysfunkcji tarczycy wystąpiły u 33,3% chorych; w 6% była to niedoczynność, a w 27,5% nadczynność (44).

Jednym z podstawowych pytań dotyczących skuteczności leczenia przeciwwirusowego jest problem eradykacji wirusa z ustroju. Wykazano możliwość przetrwania RNA-HCV w mononuklearach krwi obwodowej przy nieobecności w surowicy u części pacjentów po upływie 3,5 lat po zakończeniu leczenia IFN-α (45). RNA-HCV wykryto, w innym badaniu, przy zastosowaniu bardzo czułych metod molekularnych, w kilka lat po leczeniu IFN-α, w makrofagach u 65% pacjentów, w limfocytach u 41%, jak również w pojedynczych przypadkach w wątrobie i w surowicy, przy czym u części z nich w limfocytach i makrofagach były to formy replikatywne (46), co dowodzi możliwości reaktywacji zakażenia.

Jako ujemny czynnik odpowiedzi na kombinowane leczenie IFN-α z rybawiryną opisano (47) występowanie RNA-HCV w hepatocytach, co potwierdziło inne, również dość kontrowersyjne, doniesienia z piśmiennictwa.

Podczas leczenia IFN-α wykazano (48) bardziej efektywną eliminację z krwi RNA-HCV o ujemnej polaryzacji w porównaniu RNA-HCV dodatnio spolaryzowanym, która to forma przeważała przed wszczęciem leczenia. Zasugerowano możliwość wykorzystania zaobserwowanej dynamiki zmian w proporcjach obu postaci RNA-HCV do wczesnego przewidywania efektywności leczenia.

Stwierdzono, że IFN-α2b z rybawiryną obniża antygenemię HCV o wartości dziesięciokrotnie większe u odpowiadających w porównaniu z nie odpowiadającymi na leczenie przeciwwirusowe, co może być wykorzystane w praktyce (49).

Liczne prace dotyczą wpływu leczenia przeciwwirusowego na układ odpornościowy. Od drugiego miesiąca terapii IFN-α wzrastało stężenie β-2 mikroglobuliny oraz IL-6, a u otrzymujących IFN-α i rybawirynę także IL-12, czemu towarzyszył zanik RNA-HCV i zmniejszenie aktywności AlAT (50); różnice te zinterpretowano jako zwiększanie odczynu zapalnego przez rybawirynę, co przyczynia się do efektywniejszej eliminacji HCV. Podwyższone wartości IL-6 i IL-4 (a także IL-1β, IL-2 i IL-4) zmniejszały się w trakcie leczenia, będąc, wg autorów, dobrym prognostykiem zaniku RNA-HCV, natomiast złym jest stała wysoka obecność w surowicy IL-2 (51). Podobne obserwacje, poza IL-6, obejmujące także TNF-α poczyniono u dzieci (52). Natomiast zespół śląski (53) opisał zwiększone wartości IL-12 w ciągu pierwszych 12 godzin po podaniu IFN-α u chorych uzyskujących ostatecznie zanik RNA-HCV w wyniku półrocznego leczenia, w porównaniu z nieodpowiadającymi; natomiast stężenie IL-6 w tych samych warunkach wzrastało w obu ww. grupach, lecz w większym stopniu dotyczyło u odpowiadających na leczenie przeciwwirusowe.

W badaniach subpopulacji limfocytów krwi obwodowej podczas kombinowanego leczenia przeciwwirusowego wykazano nieznaczny wzrost odsetka NK u nieodpowiadających na terapię oraz obniżenie odsetków komórek B, NK, CD3+HLADR+ i CD4+ u odpo-

wiadających w porównaniu z poprzednią grupą, co sugeruje znaczenie ww. komórek w eliminacji HCV, lecz nie są to wartości dające podstawę do wysnuwania wniosków prognostycznych (54). Natomiast u dzieci (55), zwłaszcza odpowiadających na leczenie IFN-α, obserwowano wzrost odsetka komórek NK w krwi obwodowej i w nacieku wątrobowym.

W przewlekłych zapaleniach wątroby, w tym typu C, występuje wzrost ekspresji wątrobowej (aktywacja komórek gwiaździstych) oraz w monocytach – chemotaktycznego białka 1 (MCP-1). U nie odpowiadających na leczenie IFN-α i rybawiryną wartości MCP-1 (korelowały dodatnio z okołowrotną aktywnością zapalną, lecz nie z nasileniem włóknienia) były wyższe w porównaniu z odpowiadającymi, co autorzy uznali za czynnik, który można wykorzystać jako prognostyk skuteczności terapii (56). Podawanie IFN-α wpływa także stabilizująco na aktywowane płytki krwi, zmniejszając ich udział w procesach zapalnych oraz włóknienia wątrobowego (57).

Jednoczesne zastosowanie IFN-α oraz preparatu *Thymus Factor X* w leczeniu skojarzonym prowadzonym przez 24 i 48 tygodni (58) powodowało u odpowiadających na leczenie (ujemny RNA-HCV 6 miesięcy po zakończeniu terapii) statystycznie znamienne zwiększenie odsetka oraz wartości bezwzględnych komórek immunokompetentnych w porównaniu z chorymi bez trwałej odpowiedzi wirusologicznej.

Ponieważ u osób leczonych IFN-α występują bóle w nadbrzuszu, w poszukiwaniu przyczyny badano (59) aktywność mioelektreyczną żołądka, nie stwierdzając wpływu na nią podawanego leku.

## WSPÓŁZAKAŻENIE HCV I HGV

Wirus G został zidentyfikowany w 1995 r. W trzy lata potem zespół warszawski (60) wykazał, że jednoczesne zakażenie HCV i HGV dotyczy 26% pacjentów z *hepatitis chronica C*. Najczęstszą drogą zakażenia była prawdopodobnie ekspozycja parenteralna. Koinfekcja HGV nie miała istotnego wpływu na obraz kliniczny zakażenia HCV.

## WPŁYW LECZENIA ANTYRETROWIRUSOWEGO (HAART) NA REPLIKACJĘ HCV

Dwie prace na podobny temat przyniosły kontrowersyjne wyniki. Obie obejmują grupę 20 pacjentów. W jednej (61) stwierdzono statystycznie istotny wzrost wartości wiremii HCV w ciągu leczenia trwającego 12 tygodni, a w drugiej (62), po upływie 8 miesięcy wartości RNA-HCV były podobne do uzyskanych sprzed wszczęcia leczenia antyretrowirusowego. Oba zespoły słusznie konkludują, że ocena wpływu HAART na replikację HCV i jej skutki wymaga dalszych badań na jednorodnych grupach.

## ZAMIAST PODSUMOWANIA

Przedstawiony przegląd dowodzi, iż polskie ośrodki naukowe w okresie (z wielu przyczyn) trudnych piętnastu lat mają wszechstronny i interesujący dorobek na polu badań nad HCV. Obiektywnie świadczy o tym także i to, że spośród zacytowanych 62 artykułów dokładnie połowa została opublikowana w czasopismach anglojęzycznych o zasięgu międzynarodowym.

*J Juszczyk*

## FIFTEEN YEARS OF INVESTIGATIONS ON HEPATITIS C VIRUS IN POLAND

SUMMARY

The paper reviews published results of investigations on hepatitis C virus on several fields: epidemiology, virology, pathogenesis, immunology, coinfections, and antiviral-treatment. Articles of Polish investigators, as well as Polish – international research groups were taken into consideration.

PIŚMIENNICTWO

1. Juszczyk J: Hepatitis C. AK ZO Organon-Teknika, wyd. I, Warszawa 1993; wyd. II poszerzone 1994.
2. Cianciara J, Peterson DA, Szubiakiewicz Z, i in. Kliniczno-epidemiologiczna analiza oraz próba swoistej immunodiagnostyki ostrego wirusowego zapalenia wątroby typu nie-A nie-B. Pol Arch Med Wewn 1982; 68: 1-2.
3. Halota W, Łapniewska E, Trzciński J, i in. Wirusowe zapalenie wątroby typu C (obserwacje własne). Przegl Epidemiol 1991;45:297-9.
4. Juszczyk J. Postscpiptum. Zeszyty Hepatologiczne 1990;2:101-2.
5. Stańczak JJ, Brojer E, Radlińska M, i in. Partial nucleotide sequences and genotypes of hepatitis C virus (HCV) isolated in Polish blood donors and patients with hepatitis. Hepatol Pol 1995;2: 87-92.
6. Halota W, Pawłowska M, Bulik F, i in. Serotypy HCV w populacji polskiej. Hepatol Pol 1998; 5:3-7.
7. Brojer E, Grabarczyk P, Medyńska J, i in. Analiza częstości występowania genotypów wirusa HCV u chorych na zapalenie wątroby oraz u bezobjawowych nosicieli wirusa w różnych regionach kraju – badania wieloośrodkowe. Hepatol Pol 2000;7:53-5.
8. Stańczak JJ, Tobolewska E, Przybylska-Stengiel K, i in. Changes in the pattern of hepatitis C virus genotypes in Poland. 11th International Symposium on Hepatitis and Liver Disease, 6-10 April 2003 (Oral presentation), Sydney.
9. Woźniakowska-Gęsicka T, Wiśniewska-Ligier M, Zeman K, i in. Źródła zakażenia a genotypy wirusa C zapalenia wątroby u dzieci. Pol Merk Lek 1999;32:65-7.
10. Brojer E, Gronowska A, Medyńska J, i in. The hepatitis C virus genotype and subtype frequency in hepatitis C virus RNA-positive, hepatitis C virus antibody-negative blood donors identified in the nucleic acid test screening program in Poland. Transfusion 2004;44:1706-10.
11. Brojer E, Kryczka W, Medyńska J, i in. Anti-HCV RIBA/LiaTek reactivity and HCV genotype in EIA-negative patients with viremia. J Med. Virol, 1999;59:451-5.
12. Głoskowska-Moraczewska Z, Kacperska E, Seyfried H: Ocena testów przeglądowych i uzupełniających, służących do wykrywania przeciwciał anty-HCV. Acta Haematol Pol 1993;44:273-80.
13. Migdalski P, Juszczyk J, Flieger J, i in. Odpowiedź humoralna w zakażeniach wirusem C zapalenia wątroby: rodzaje anty-HCV i typy reaktywności oceniane wskaźnikiem blot-indeks. Przegl Epidemiol 1996;50:15-22.
14. Łętowska M, Brojer E, Mikulska M i in. Hepatitis C core antigen in Polish blood donors. Transfusion 2004;44:1067-71
15. Laskus T, Radkowski M, Wang LF, i in. Search for hepatitis C virus extrahepatic replication sites in patients with acquired immunodeficiency syndrome: specific detection of negative-strand viral RNA in various tissues. Hepatology 1998;28:1398-401.

16. Laskus T, Radkowski M, Piasek A, i in. Hepatitis C virus in lymphoid cells of patients coinfected with human immunodeficiency virus type 1: evidence of active replication in monocytes/macrophages and lymphocytes. J Infect Dis 2000;181:442-8.
17. Laskus T, Radkowski M, Jabłońska J, i in. Human immunodeficiency virus facilitates infection/replication of hepatitis C virus in native human macrophages. Blood 2004;103:3854-9.
18. Radkowski M, Wilkinson J, Nowicki M, i in. Search for hepatitis C virus negative-strand RNA sequences and analysis of viral sequences in the central nervous system: evidence of replication. J Virol 2002;76:600-8.
19. Radkowski M, Bednarska A, Horban A, i in. Infection of primary human macrophages with hepatitis C *in vitro*: induction of tumour necrosis factor-a and interleukin 8. J Gen Virol 2004; 85:47-59.
20. Kasprzak A, Zabel M, Biczysko W, i in. Expression of cytokines (TNF-α , IL-1α, and IL-2) in chronic hepatitis C: comparative hybridocytochemical and immunocytochemical study in children and adult patients. J Histochem Cytochem 2004;52:29-38.
21. Kasprzak A, Biczysko W, Adamek A, i in. Studies on tissue expression of HCV proteins (NS3 and C) in chronic hepatitis C using the immunomax technique. Scand J Gastroenterol 2004;39: 387-8.
22. Gabriel A, Biskupska-Karasińska M, Dziambor AP, i in. Różnice w kryteriach morfologicznych stosowanych w ocenie aktywności zapalnej w przewlekłych zakażeniach wirusowych wątroby typu B i C. Hepatol. Pol. 1998;5 (supl. 3):46-52.
23. Biczysko W, Adamek A, Błotna-Filipiak M, i in. Obraz mikroskopowo-elektronowy zakażeń wirusowych w przebiegu przewlekłych zapaleń wątroby. Pol J Pathol, 1999;50 (supl. 1):13-7.
24. Kasprzak A, Biczysko W, Adamek A, i in. Morphological lesions detected by light and electron microscopies in chronic type B hepatitis. Pol J Pathol 2003;54:129-42.
25. Świętek K, Juszczyk J. Reduced glutathione concentration in erythrocytes of patients with acute and chronic viral hepatitis. J Viral Hep 1997;4:139-41.
26. Zuwała-Jagiełło J, Simon K, Rotter K, i in. Katepsyna B i białkowe grupy tiolowe w surowicy krwi u chorych na przewlekłe wirusowe zapalenie oraz marskość wątroby. Diagn. Lab. 2002; 38:391-8.
27. Flisiak R, Maxwell P, Prokopowicz D, i in. Plasma tissue inhibitor of metalloproteinases-1 and transforming growth factor β1 – possible non-invasive biomarkers of hepatic fibrosis in patients with chronic B and C hepatitis. Hepato-Gastroenterology 2002; 49: 1369-72.
28. Panasiuk A, Prokopowicz D, Zak J, i in. Peripheral blood T, B, and NK cells in relation to histological hepatitis activity and fibrosis stage in chronic hepatitis C. Hepato-Gastroenterology 2003; 50: 178-82.
29. Panasiuk A, Prokopowicz D, Zak J, i in. Activation of blood platelets in chronic hepatitis and liver cirrhosis P-selectin expression on blood platelets and secretory activity of β-thromboglobulin and platelet factor-4. Hepato-Gastroenterology 2001;48:818-22.
30. Konturek SJ, Gonciarz M, Gonciarz Z, i in. Progastrin and its products from patients with chronic viral hepatitis and liver cirrhosis. Scand J Gastroenterol 2003;38:643-7.
31. Kryczka W. Ostre zapalenie wątroby typu C. Przegl Epidemiol 2002;56 (supl.5):58-61.
32. Wawrzynowicz-Syczewska M, Kubicka J, Lewandowski Z, i in. Natural history of acute symptomatic hepatitis type C. Infection 2004;32:138-43.
33. Migdalski P, Flieger J, Juszczyk J, i in. Objawowe wirusowe zapalenie wątroby typu C – obserwacje odległe. Hepatol. Pol. 1997;4:119-125.
34. Łabędzka H, Simon K, Gładysz A. Clinical and epidemiological assessment of hepatitis C virus infection among voluntary blood donors. Med Sci Monit 2002;8:CR591-6.
35. Wojtacha A, Juszczyk J. Retrospektywna ocena czynników ryzyka zakażenia wirusem zapalenia wątroby typu C u pacjentów z przewlekłym zapaleniem wątroby typu C, na podstawie anonimowej ankiety. Przewodnik Lekarza 2003;9:90-5.

36. Jabłońska J, Ząbek J, Łoch T i in. Krioglobulinemia u chorych zakażonych wirusem zapalenia wątroby typu C. Część I – wybrane aspekty kliniczne. Hepatol Pol 1999;6:165-70.
37. Jabłońska J, Ząbek J, Kozłowska J, i in. Krioglobulinemia u chorych zakażonych wirusem zapalenia wątroby typu C. Część II – wybrane aspekty immunologiczne. Hepatol Pol 1999;6: 171-7.
38. Sulka A, Simon K, Piszko P. Oral lichen planus in patients with chronic hepatitis C – one year of observation. Dent Med Probl 2003;40:233-7.
39. Wawrzynowicz-Syczewska M, Underhill JA, Clare MA, i in. HLA class II genotypes associated with chronic hepatitis C virus infection and response to α-interferon treatment in Poland. Liver 2000;20:234-9.
40. Kryczka W, Brojer E, Kalińska A, i in. DRB1 alleles in relation to severity of liver disease in patients with chronic hepatitis C. Med Sci Monit 2001;7 (supl. 1):217-20.
41. Juszczyk J, Beniowski M, Berak H, i in. Effectiveness of combined treatment with pegylated interferon a-2a and ribavirin in chronic hepatitis C – study phase summary. Med Sci Monit 2004;10 (supl. 1):5-11.
42. Juszczyk J, Białkowska J, Bolewska B: Pegylowany interferon α-2b i rybawiryna w leczeniu przewlekłego wirusowego zapalenia wątroby typu C. Pol Merk Lek 2004;XVI:353-357
43. Adamek A, Adamek J, Juszczyk J: Częstość występowania niedokrwistości hemolitycznej w trakcie kombinowanego leczenia przewlekłych zapaleń wątroby typu C interferonem α-2b i rybawiryną. Pol Merkur Lek 2004;101:443-5.
44. Kryczka W, Brojer E, Kowalska A, i in. Thyroid gland dysfunctions during antiviral therapy of chronic hepatitis C. Med Sci Monit 2001;7 (supl. 1):221-5.
45. Piekarska A, Sidorkiewicz M, Lewandowska W, i in. Ocena trwałości odpowiedzi na leczenie IFN-α chorych na przewlekłe zapalenie wątroby typu C na podstawie obecności HCV-RNA w komórkach jednojądrowych krwi obwodowej. Pol Arch Med Wewn 2001;4:939-43.
46. Radkowski M, Gallegos-Ozorco JF, Jabłońska J, i in. Persistence of hepatitis C virus in patients successfully treated for chronic hepatitis C. Hepatology 2005;41:106-14.
47. Lakomy EA, Bielawski KP, Sikorska K, i in. Presence of HCV-RNA in hepatic tissue and effectiveness of treatment with interferon and ribavirin. Med Sci Monit 2003;9 (supl. 3): 36-8.
48. Mazurek U, Jurzak M, Gola J, i in. Dynamics of HCV replication in patients with chronic hepatitis C during IFN plus ribavirin combined therapy. Med Sci Monit 2001;7:236-40.
49. Migdalski P, Świętek K, Juszczyk J: Antygen rdzeniowy wirusa C zapalenia wątroby (HCVcAg) – wskaźnik prognostyczny w leczeniu interferonem i rybawiryną? Nowiny Lek 2005;73:349-54.
50. Pawłowska M. Zachowanie się wybranych wykładników immunologicznych w przebiegu leczenia interferonem oraz interferonem i rybawiryną chorych na przewlekłe zapalenie wątroby typu C. Postępy Nauk Medycznych 2000;1:7-12.
51. Łapiński TW. The levels of IL-1 β, IL-2, IL-4, IL-6 and IFN-γ among patients with chronic hepatitis type C treated with IFN-α. Roczniki Akademii Medycznej w Białymstoku, 2000;45: 211-27.
52. Woźniakowska-Gęsicka T, Wiśniewska-Ligier M, Zeman K. Effects of IFN-a therapy on IL-β, IL-6, TNF-α and STNFRP55. Int Rev Allergol Clin Immunol 2001;7:42-6.
53. Mazur W, Mazurek U, Jurzak M, i in. Short-term changes of serum IL-2 and IL-6 induced by interferon alpha-2b in patients with chronic hepatitis C. Med Sci Monit 2001;7:151-6.
54. Panasiuk A, Prokopowicz D, Zak J. Immunological response in chronic hepatitis C virus infection during interferon alpha therapy. Hepato-Gastroenterology 2004;51:1088-92.
55. Woźniakowska-Gęsicka T, Wiśniewska-Ligier M, Kałużyński A, i in. Analiza współzależności pomiędzy komórkami NK wątroby i krwi obwodowej u dzieci z przewlekłym zapaleniem wątroby typu C. Medycyna Wieku Rozwojowego 2002;3:201-9.

56. Panasiuk A, Prokopowicz D, Panasiuk B. Monocyte chemotactic protein-1 and soluble adhesion molecules as possible prognostic markers of the efficacy of antiviral treatment in chronic hepatitis C. World J Gastroenterol 2004;10:3639-42.
57. Panasiuk A, Prokopowicz D, Zak J, i in. Inhibition of activated blood platelets by interferon alpha 2b in chronic hepatitis C. Hepato-Gastroenterology 2004;51:1417-21.
58. Jabłonowska E. Wpływ leczenia interferonem alfa 2a i preparatem TFX (Thymus Factor X) na wybrane subpopulacje limfocytów krwi obwodowej u chorych na przewlekłe zapalenie wątroby typu C. Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych. Akademia Medyczna w Łodzi, 2002).
59. Jonderko K, Kruszec-Świdergoł B, Kaciska-Jonderko A, i in. Effect of single-dose administration of recombinant interferon-alpha 2b on gastric myocardial activity in patients with chronic hepatitis C. J Gastroenterol 2004;39:1035-44.
60. Cianciara J, Stańczak W, Kozłowska J, i in. Częstość występowania i obraz kliniczny koinfekcji wirusem zapalenia wątroby typu G (HGV) u chorych z przewlekłym zapaleniem wątroby typu C. Hepatol Pol 1998;5:111-15.
61. Inglot M, Gąsiorowski J, Knysz B, i in. Wpływ terapii antyretrowirusowej na wiremię HCV u pacjentów zakażonych HIV/HCV w początkowym okresie leczenia. Problemy HIV i AIDS 2002;8:104.
62. Olczak A, Pawłowska M, Grąbczewska E, i in. Attempt to assess the effect of antiretroviral therapy on HCV replication. HIV AIDS Rev 2003;2:29-31.

**Adres autora:**

Prof. dr hab. med. Jacek Juszczyk
Katedra i Klinika Chorób Zakaźnych AM w Poznaniu
ul. Św. Wincentego 2, 61-003 Poznań
tel. (61) 877 36 71
e-mail: juszczyk@post.pl