

Tadeusz Wojciech Łapiński, Przemysław Pawluczuk, Robert Flisiak

CHARAKTERYSTYKA EPIDEMIOLOGICZNO – KLINICZNA ZAKAŻEŃ GENOTYPEM 4 HCV W REGIONIE PÓŁNOCNO – WSCHODNIEJ POLSKI

EPIDEMIOLOGICAL AND CLINICAL CHARACTERISTICS OF GENOTYPE 4 HCV INFECTION IN THE NORTH – EAST POLAND

Klinika Chorób Zakaźnych i Hepatologii
Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku

STRESZCZENIE

Ponad 130 milionów osób na świecie jest zakażonych HCV – są to najczęściej ludzie młodzi. Zakażenie genotypem 4 HCV występuje bardzo często w Północnej Afryce i na Bliskim Wschodzie ale w Stanach Zjednoczonych dotyczy tylko około 1% osób.

Celem pracy była ocena częstości zakażenia genotypem 4 HCV w regionie północno - wschodniej Polski, oraz analiza epidemiologiczna i kliniczna zachorowań.

Materiał i Metody. Badaniem objęto 673 chorych zakażonych HCV. Genotyp oraz liczbę kopii wirusa HCV określano przy użyciu testów RT-PCR (Syngen Biotech, USA). Zmiany histologiczne w wątrobie określano zgodnie z klasyfikacją Scheuer'a.

Wyniki. Zakażenie genotypem 1 HCV stwierdzono u 452 (67%) pacjentów, genotypem 3 u 178 (26%), a u 43 (7%) genotypem 4. Zakażenie mężczyzn genotypem 4 było trzykrotnie częstsze niż kobiet, a 40% tych zakażeń wykrywano wśród osób w wieku od 18 do 30 roku życia. Ponadto 21% osób zakażonych genotypem 4 HCV było również zakażonych HIV. Tatuaze posiadało 30% zakażonych genotypem 4. Utrwaloną odpowiedź wirusologiczną stwierdzono u 9 z 21 zakażonych genotypem 4 (43%), przy czym w grupie osób leczonych ponownie dotyczyło to tylko 1 z 8 chorych.

Wnioski. W regionie północno – wschodniej Polski, zakażenie genotypem 4 HCV występuje u 7% chorych i dotyczy głównie osób młodych. Zakażenia tym genotypem są często związane z przyjmowaniem dożylnych środków odurzających.

Słowa kluczowe: zakażenie HCV, genotyp 4 HCV, epidemiologia i klinika

ABSTRACT

More than 130 million, mostly young people worldwide are infected with HCV. Infection with HCV genotype 4 is very common in North Africa and Middle East, but in United States only about 1% of HCV infections are related to this genotype.

The aim was assessment of the incidence of genotype 4 HCV infection in north - eastern Poland, that included also epidemiological and clinical analysis.

Material and Methods. 673 patients infected with HCV were included into the study. Genotype and HCV viral load was determined using RT-PCR tests (Syngen Biotech, USA). Histologic picture of the liver was evaluated according to Scheuer classification.

Results. Infection with genotype 1 was observed in 452 (67%) patients, genotype 3 in 178 (26%), and 43 (7%) patients were infected with genotype 4. This infection was three times more frequently observed in males than in females, and 40% of cases were demonstrated in persons aged between 18 and 30 years. Moreover 21% infected with HCV genotype 4 were simultaneously infected with HIV. In 30% of infected with genotype 4 tattoos were observed. Sustained virologic response was obtained in 9 among 21 patients infected with genotype 4 (43%), but only in 1 among 8 of re-treated.

Conclusions. In the north - east Poland, infection with HCV genotype 4 occurs in 7% of patients, mostly young people. Infections with this genotype are often associated with intravenous drugs use.

Key words: HCV infection, genotype 4 HCV, epidemiology and clinic

WSTĘP

Liczbę osób zakażonych HCV na świecie Światowa Organizacja Zdrowia szacuje na ponad 130 milionów (2,2% całej populacji). W Unii Europejskiej obserwuje się stałą tendencję wzrostową zakażenia tym wirusem. Zakażenie HCV rozpoznawane jest dwukrotnie częściej wśród mężczyzn niż u kobiet, najczęściej w grupie wiekowej pomiędzy 15 a 44 rokiem życia (3). W Polsce liczbę zakażonych HCV szacuje się na od 500 do 700 tysięcy, według niektórych źródeł może obejmować około 2% populacji (5). Niepokojący jest fakt, że w dużej części przypadków, do 54%, źródło i drogi zakażenia tym wirusem pozostają nieznane (5).

Różnice sekwencji nukleotydów kodujących region białek niestrukturalnych HCV stanowią podstawę wyróżnienia 6 genotypów wirusa. HCV wykazuje dużą zmienność immunologiczną, co wpływa na nieskuteczną humoralną i komórkową odpowiedź zakażonych, a to jest główną przyczyną rozwoju przewlekłych procesów chorobowych. Różne genotypy HCV posiadają zmienne cechy biologiczne, czego najlepszym przykładem jest odmienna ich wrażliwość na leki przeciwwirusowe (7).

Zakażenia poszczególnymi genotypami HCV wykazują zróżnicowanie geograficzne. W Europie i Ameryce Północnej dominuje genotyp 1, ponadto stosunkowo często występują również zakażenia genotypami 2 i 3. Z kolei genotyp 4 występuje głównie w Afryce Północnej i na Bliskim Wschodzie. Badania związane z epidemiologią i kliniką zakażeń genotypem 4 zostały najdokładniej przeprowadzone w Egipcie, gdzie stanowi on około 90% wszystkich zakażeń HCV. Problem ten jest tym istotniejszy, ponieważ zakażenia HCV dotyczą 19% całej populacji Egiptu. O ile w Arabii Saudyjskiej genotyp 4 HCV jest przyczyną 60% przewlekłych zakażeń tym wirusem (6), to w Stanach Zjednoczonych tylko około 1% (10). W Polsce uważa się, że genotyp 4 występuje sporadycznie. Jednak w związku z tym, że terapia zakażeń genotypem 4 jest równie trudna jak genotypem 1, monitorowanie tej grupy chorych może mieć znaczenie nie tylko epidemiologiczne, ale także farmakoekonomiczne.

Celem pracy była ocena częstości zakażenia genotypem 4 HCV osób pochodzących z północno-wschodniej Polski, a także określenie skuteczności terapii przeciwwirusowej.

MATERIAŁ I METODY

Badaniem objęto 673 chorych kwalifikowanych do terapii przeciwwirusowej z powodu zakażenia HCV, w latach od 2002 do 2008, w Klinice Chorób

Zakaźnych i Hepatologii Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku.

Genotyp oraz liczbę kopii wirusa HCV określano przy użyciu testów RT-PCR (Syngen Biotech, USA). Produkty amplifikacji oznaczano na drodze elektroforezy w 2,0% żelu agarozowym, który wybarwiano bromkiem etydyny. Elektroforegramy wizualizowano w systemie dokumentacji i komputerowej analizy obrazu UVI-KS400i/Image PC firmy Syngen Biotech i określano stężenie ilościowe. Wykonywany test pozwalał na wykrycie w 1 ml krwi 50 kopii wirusów HCV. (Badania wykonano w Zakładzie Biologii Molekularnej, UM w Białymstoku, Kierownik: Prof. dr hab. Lech Chyczewski).

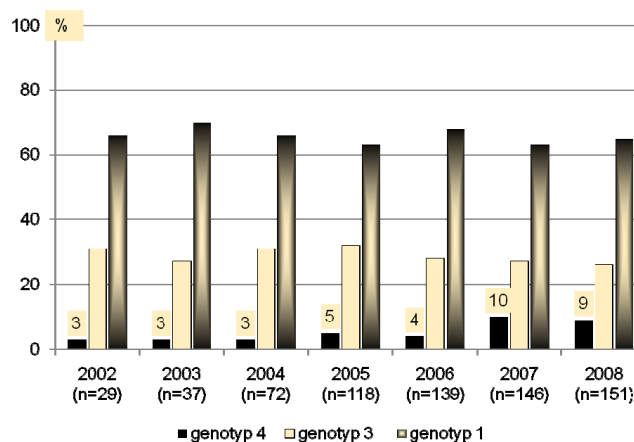
Chorym w okresie kwalifikacji do leczenia przeciwwirusowego wykonywano biopsję wątroby. Stan morfologiczny wątroby określano zgodnie z klasyfikacją Scheuer'a (stan morfologiczny bioptatów wątroby ocenił Prof. dr hab. Anatol Panasiuk w Klinice Chorób Zakaźnych i Hepatologii UM w Białymstoku, Kierownik: Prof. dr hab. Robert Flisiak), (13).

Analizę statystyczną przeprowadzono używając testów U Manna – Whitneya i Chi-kwadrat (χ^2). Za poziom istotności statystycznej uznawano wartości $p < 0,05$.

WYNIKI

Zakażenie genotypem 1 HCV stwierdzono u 452/673 (67%) pacjentów, genotypem 3 u 178/673 (26%), a u 43/673 (7%) chorych zakażenie genotypem 4.

Zakażenie genotypem 4 występowało trzykrotnie częściej wśród mężczyzn - 32 (74%) niż u kobiet - 11 (26%). Najwięcej rozpoznań zakażenia tym genotypem odnotowano w latach 2007 i 2008. Częstość występowa-



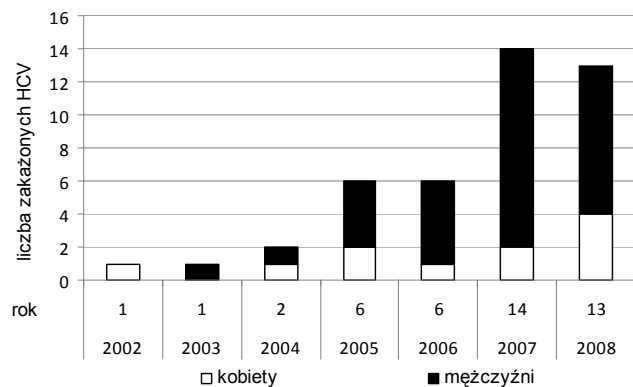
Ryc. 1. Częstość zakażeń poszczególnymi genotypami HCV pacjentów badanych w latach 2002 - 2008 w regionie północno - wschodniej Polski

Fig. 1. The frequency of different genotypes of HCV infection of patients surveyed in the years 2002 - 2008 in the North - east Polish

Tabela I Liczba i odsetek badanych chorych zakażonych genotypem 4 HCV wg płci i wieku

Table I The number and proportion of subject with genotype 4 HCV-infected patients by age and gender

Ogółem	kobiety, n(%)	mężczyźni, n(%)	wiek chorych w latach, n(%)			
			18-30	31-45	46-59	>60
43 (100%)	11 (26)	32 (74)	17 (40)	16 (37)	8 (19)	2 (4)



Ryc. 2. Liczba chorych zakażonych genotypem 4 HCV wykrytych w latach 2002-2008 w Klinice Chorób Zakaźnych i Hepatologii UM. Zakażenie HCV genotypem 4 w poszczególnych latach obserwacji

Fig. 2. Number of patients infected with HCV genotype 4 detected in the years 2002-2008 in the Clinic of Infectious Diseases and Hepatology UM. Infection with HCV genotype 4 in each year of observation

nia zakażeń genotypem 4 w kolejnych latach obserwacji wykazywała tendencję wzrostową, a wśród zakażonych przeważali mężczyźni (ryc. 1 i 2). Analiza wieku chorych, wykazała że najczęściej zakażenie genotypem 4 wykrywano wśród osób młodych, w wieku od 18 do 30 roku życia (40%) (tab. I). Dziewięciu chorych (21%) było zakażonych jednocześnie HCV i HIV. Osoby te były narkomanami przyjmującymi dożylnie środki odurzające. U 13 z 43 chorych (30%) stwierdzono obecność tatuaży.

W ocenie histopatologicznej tkanki wątrobowej chorych zakażonych genotypem 4 HCV, aktywność zapalna wynosiła 2,5, natomiast włóknienie 1,5 wg Scheuer'a. U 2 z 43 (4,6%) chorych rozpoznano marskość wątroby.

Leczenie standardowe przewlekłego zapalenia wątroby typu C, zgodnie z programami terapeutycznymi otrzymało 21 zakażonych genotypem 4 HCV. Z tej grupy 11 chorych otrzymywało interferon pegylowany alfa 2b i rybawiryne, a 8 interferon pegylowany alfa 2a z rybawiryne. U 2 chorych, u których rozpoznano stabilną klinicznie marskość wątroby, leczenie przeprowadzono interferonem naturalnym alfa z rybawiryne, ze względu na istniejące przeciwwskazania do terapii interferonem pegylowanym. W wyniku zastosowanej terapii utrwa-

loną odpowiedź wirusologiczną (SVR) uzyskano u 9 z 21 chorych (43%). Spośród 12 chorych, którzy nie odpowiedzieli na pierwotne leczenie, u 8 przeprowadzono reterapię, uzyskując SVR u 1 pacjenta.

DYSKUSJA

Częstość zakażeń genotypem 4 HCV w Europie waha się od 7% na północy do 24% w regionach południowych (15). Dominującym podtypem w krajach europejskich jest genotyp 4d HCV. Biorąc pod uwagę fakt dominacji podtypu 4a w Egipcie, a w Europie 4d, wydaje się, że zakażenia genotypem 4 HCV w Europie nie są importowane z Egiptu. Genotyp ten powstał prawdopodobnie w Europie i rozprzestrzenił się wewnętrznie (15). W badaniach przeprowadzonych w południowo-zachodniej Francji genotyp 4 stanowi do 24% zakażeń HCV. Transmisja genotypu 4 HCV wiąże się w dużym stopniu z przyjmowaniem dożylnych środków odurzających lub wykonywaniem tatuaży (6, 11). Pacjenci przyjmujący narkotyki drogą dożylną stanowią jednorodną grupę i są zakażeni HCV genotypami 4a lub 4d. Inną grupą pacjentów często zakażonych genotypem 4, są chorzy pochodzenia francuskiego, zakażeni 8 podtypami oraz chorzy z krajów pozaeuropejskich (Afryka Środkowa i Bliski Wschód), którzy są zakażeni głównie subgenotypami 4f, 4k, 4r. Ta ostatnia grupa wykazała największą różnorodność genetyczną. Badania te przeprowadzone na dużej grupie pacjentów pokazały dużą różnorodność genotypu 4 HCV (9). Znajomość zmienności HCV ma zasadnicze znaczenie dla analiz klinicznych i epidemiologicznych.

W badaniach własnych zakażenie genotypem 4 HCV wykazano u 7% chorych. Jest to stosunkowo niewielki odsetek w porównaniu do Francji. Badania przeprowadzone przed kilku laty w województwie mazowieckim określają częstość zakażeń genotypem 4 na 1,2%, a w województwie kujawsko – pomorskim na 4,5% (1, 14). Różnica pomiędzy wynikami badań własnych, a wynikami badań wykonanych przed kilku laty w innych regionach Polski związana jest najprawdopodobniej ze wzrostem w całej Polsce liczby zakażeń genotypem 4 HCV w ostatnich latach. Wzrost ten potwierdzono w badaniach własnych.

W przebiegu zakażenia HCV, u kobiet dochodzi przeszło dwukrotnie częściej do spontanicznej eliminacji wirusa. Jest to prawdopodobnie jedna z najważniejszych przyczyn częstszego rozwoju przewlekłego wirusowego zapalenia wątroby typu C wśród mężczyzn aniżeli wśród kobiet (5). Dotyczy to zakażenia wszystkimi genotypami, w tym także genotypem 4. Z tego też powodu nie jest zaskakujące stwierdzenie w naszych badaniach, że zakażenie genotypem 4 występuje trzykrotnie częściej wśród mężczyzn niż u kobiet. Ponad-

to może to się wiązać z częstszym wśród mężczyzn uzależnieniem od dożylnych środków odurzających i nadużywaniem alkoholu.

Wyniki naszych badań wskazują na to, że zmiany morfologiczne w wątrobie osób zakażonych genotypem 4 HCV są małego stopnia, a częstość występowania marskości wątroby wynosi 4,6%. Podobne obserwacje przedstawiają inni autorzy, w tym *Kamal* i wsp. (6)

Wyniki badań nad skutecznością terapii przeciwwirusowej chorych zakażonych genotypem 4 HCV nie są jednoznaczne. Większość autorów uważa, że odpowiedź na leczenie u chorych zakażonych genotypem 4 jest porównywalna do odpowiedzi uzyskiwanej wśród chorych zakażonych genotypem 1 HCV (12). Jednak *Lyra* i wsp. (8) uzyskał SVR u 71%, a *Varghese* i wsp. (16) u 82% leczonych. W naszych badaniach SVR uzyskano u 43% leczonych i był to wynik podobny do opisywanych efektów terapeutycznych z terenów endemicznego występowania zakażenia genotypem 4, głównie Egiptu (2, 4). W prezentowanych badaniach skuteczność terapii przeciwwirusowej zakażonych genotypem 4 wydaje się mniejsza od uzyskiwanej u zakażonych genotypem 1 HCV. Jednak nie można sformułować takiego wniosku ze względu na niejednorodność grupy badanej pod względem zaawansowania choroby (chorzy z marskością wątroby) i zastosowanych interferonów. Tak duże różnice w ocenie skuteczności leczenia przeciwwirusowego w piśmiennictwie skłaniają do zastanowienia się nad możliwością zróżnicowanej odpowiedzi na leczenie w zależności od podtypu genotypu 4 HCV.

PODSUMOWANIE I WNIOSKI

W regionie północno – wschodniej Polski, zakażenie genotypem 4 HCV występuje u 7% chorych, dotyczy głównie osób młodych, często jest związane z przyjmowaniem dożylnych środków odurzających i obecnością tatuaży. W ostatnich latach obserwuje się wzrost częstości zakażeń genotypem 4. Duże różnice w ocenie skuteczności leczenia przeciwwirusowego mogą sugerować zróżnicowanie odpowiedzi na leczenie w zależności od podtypu genotypu 4 HCV.

PIŚMIENNICTWO

1. Brojer E, Gronowska A, Medyńska J, i wsp. 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;12:1706-10.
2. Elefsiniotis IS, Pavlidis C, Dimitroulopoulos D, i wsp. Differential viral kinetics in treated genotype 4 chronic hepatitis C patients according to ethnicity. *J Viral Hepatol* 2009; w druku.
3. Esteban JI, Sauleda S, Quer J. The changing epidemiology of hepatitis C virus infection in Europe. *J Hepatol* 2008;48:148-62.
4. Hasan F, Asker H, Al-Khalidi J, i wsp. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin for the treatment of chronic hepatitis C genotype 4. *Am J Gastroenterol* 2004;99:1733-7.
5. Juszczyk J. *Hepatitis C. Patogeneza i Terapia*. Poznań Termedia; 2009, 5-123.
6. Kamal SM. Improving outcome in patients with hepatitis C virus genotype 4. *Am J Gastroenterol* 2007;11:2582-8.
7. Lu L, Li C, Fu Y, i wsp. Complete genomes for hepatitis C virus subtypes 6f, 6i, 6j and 6m: viral genetic diversity among Thai blood donors and infected spouses. *J Gen Virol* 2007;88:1505-18.
8. Lyra AC, Ramrakhiani S, Bacon BR, i wsp. Infection with hepatitis C virus genotype 4 in the United States. *J Clin Gastroenterol* 2004;1:68-71.
9. Nicot F, Legrand-Abravanel F, Sandres-Saune K i wsp. Heterogeneity of hepatitis C virus genotype 4 strains circulating in south-western France. *J Gen Virol* 2005; 86:107-14.
10. Ray SC, Arthur RR, Carella A, i wsp. Genetic epidemiology of hepatitis C virus throughout Egipt. *J Infect Dis* 2000;3:698-707.
11. Roulot D, Bourcier V, Grando V, i wsp. Observational VHC4 Study Group. Epidemiological Characteristics and Response to Peginterferon Plus Ribavirin Treatment of Hepatitis C Virus Genotype 4. *J. Viral Hepatol* 2007;7:460-7.
12. Rumi M, Aghemo A, Prati GM i wsp. Randomized study comparing peginterferon-alfa2a plus ribavirin and peginterferon-alfa2b plus ribavirin in naïve patients with chronic hepatitis C: final results of the Milan safety tolerability (MIST) study. *Hepatology* 2008;48,(suppl):404,212.
13. Scheuer PJ. Classification of chronic viral hepatitis: A need for reassessment. *J Hepatol* 1991;13:372-6.
14. Tyczyno M. Genotypy HCV wśród pacjentów diagnozowanych w Bydgoszczy. <http://journals.indexcopernicus.com/fulltxt.php?ICID=485998>, 2007:76-8.
15. van Asten L, Verhaest I, Lamzira S, i wsp. European and Italian Seroconverter Studies. Spread of hepatitis C virus among European injection drug users infected with HIV: a phylogenetic analysis. *J Infect Dis* 2004;2:292-302.
16. Varghese R, Al-Khalidi J, Asker H, i wsp. Treatment of chronic hepatitis C genotype 4 with peginterferon alpha-2a plus ribavirin. *Hepatogastroenterology* 2009;89:218-22.

Otrzymano: 11.08.2009

Zaakceptowano do druku: 16.09.2009

Adres do korespondencji:

Dr hab med. Tadeusz Wojciech Łapiński
Klinika Chorób Zakaźnych i Hepatologii
Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku
Ul. Żurawia 14, 15-540 Białystok
e-mail: twlapinski@wp.pl
tel/fax: (48-85) 7-41-69-21