

# Stłuszczenie wątroby a przewlekłe zakażenie HCV

## Hepatic steatosis and chronic hepatitis C

Małgorzata Pawłowska, Waldemar Halota

Katedra i Klinika Chorób Zakaźnych i Hepatologii CM UMK, Bydgoszcz

**Summary:** Steatosis occurs frequently in hepatitis C. The mechanisms leading to this lesion are different according to HCV genotypes. In HCV-3 steatosis is connected with viral load, in other with body mass index. Steatosis affects the natural course of HCV infection. It is associated with fibrosis, insulin resistance, type 2 diabetes, impairment of the response to antiviral treatment and carcinogenesis. In patients infected with HCV-3 genotype antiviral treatment is efficient and connected with reduction of steatosis.

**Słowa kluczowe:** stłuszczenie wątroby • przewlekłe zapalenie wątroby typu HCV • genotyp 3 HCV

**Key words:** hepatic steatosis • chronic hepatitis C • genotype 3 HCV

**Adres do korespondencji:** Małgorzata Pawłowska, Katedra i Klinika Chorób Zakaźnych i Hepatologii CM UMK, ul. Floriana 12, 85-030 Bydgoszcz, Polska, e-mail: kikchzak@cm.umk.pl

Stłuszczenie wątroby charakteryzujące się gromadzeniem lipidów w hepatocytach jest stosunkowo często spotykanym wykładnikiem histopatologicznym przewlekłego zakażenia HCV, występuje u 40 do 80% zakażonych. Przed erą badań diagnozujących HCV było ono niekiedy wyznacznikiem hepatitis non-A, non-B [1].

Czaja i wsp. porównując zmiany histologiczne w przewlekłych zapaleniach wątroby etiologii HBV, HCV i autoimmunologicznej, obserwowali stłuszczenie odpowiednio u 27%, 57% i 16% pacjentów, wskazując na najwyższą jego częstość u zakażonych HCV [2]. Podobną zależność wykazał Bach i wsp. wskazując na obecność stłuszczenia u 72% chorych na przewlekłe zapalenie wątroby typu C w porównaniu z 19% w autoimmunologicznym zapaleniu wątroby [3].

Dowodzono, że do stłuszczenia wątroby dochodzi w dwóch różnych mechanizmach. Pierwszy, w którym dominuje efekt zależny od wirusa, jest ściśle związany z genotypem 3 HCV. Wiąże się to z obecnością „stłuszczeniogennych” sekwencji genu HCV typu 3. Stłuszczenie jest skorelowane z replikacją wewnątrzwątrobową HCV i zmniejsza się u pacjentów uzyskujących trwałą odpowiedź wirusologiczną (SVR).

Drugi mechanizm powstawania stłuszczenia związany jest z metabolizmem gospodarza i występuje głównie u zakażonych genotypem 1 HCV. U tych chorych stłuszczenie związane jest z czynnikami ryzyka analogicznymi do występujących w niealkoholowym stłuszczeniu wątroby (NAFLD), takimi jak: nadwaga, otyłość i cukrzyca [4].

Czynniki prowadzące do tego uszkodzenia są nadal badane, a poglądy o roli stłuszczenia w progresji choroby wą-

troby kontrowersyjne. Matos wskazuje na niezależne uwarunkowania stłuszczenia takie jak starszy wiek, płeć żeńska i BMI powyżej 25 kg/m<sup>2</sup>, które potwierdzają udział czynników „gospodarza” w rozwoju stłuszczenia wątroby [5]. Z drugiej strony wiadomo, że u około 25% pacjentów zakażonych HCV, u których występuje stłuszczenie nie występują wymienione czynniki ryzyka.

Związki stłuszczenia wątroby i nieprawidłowości metabolicznych u zakażonych HCV nie są ograniczone do dorosłych, gdyż występują również u dzieci aczkolwiek zarówno częstość zakażeń HCV, jak i zaawansowanie zmian morfologicznych w wątrobie są w tej grupie wiekowej niższe niż u dorosłych [4]. W niektórych badaniach wskazuje się, że spadek masy ciała i wzrost aktywności fizycznej mogą mieć wpływ na obniżenie aktywności biochemicznej a nawet histologicznej choroby wątroby u pacjentów z pzw C [6,7].

U zakażonych HCV spotyka się związaną ze stłuszczeniem wątroby hypo-beta-lipoproteinemię i hypocholesterolemię. Obniżone stężenie cholesterolu ulega podwyższeniu u zakażonych HCV leczonych interferonem i rybawiryną (IFN+R) uzyskujących trwałą odpowiedź wirusologiczną. Sugeruje to nabytą w tych przypadkach wirusową etiologię hypocholesterolemii, w odróżnieniu od wrodzonej, występującej w przebiegu rodzinnej hypo-beta-lipoproteinemii związanej z mutacją genu dla apolipoproteiny beta i syntezą jej niepełnej postaci. Mechanizm, w którym HCV powoduje nabytą hypo-beta-lipoproteinemię jest niejasny [8]. Klirens HCV związany z korekcją hypo-beta-lipoproteinemii sugeruje, że HCV może interferować z lipoproteinami o bardzo niskiej gęstości (VLDL). Białka rdzenia HCV mogą zmieniać aktywność białek mikrosomalnych przenoszących trójglicerydy



i w ten sposób modyfikować tworzenie i sekrecję VLDL. Białka HCV mogą interferować z drobinami tłuszczu także pośrednio poprzez rozpuszczalne czynniki uwalniane przez zakażone komórki [9].

Wykazano eksperymentalnie, że białka rdzenia HCV mogą indukować proces stłuszczenia wątroby tak w kulturach komórkowych, jak i u myszy transgenicznych. W transfekowanych liniach komórkowych białka rdzenia HCV zlokalizowane są w sąsiedztwie kropli lipidów, a ich interakcje wymagają udziału określonych sekwencji domeny 2 białek rdzenia HCV. Z kolei niestrukturalne białko NS5A zostaje związane z powierzchniową strukturą globulinowych cytoplazmy, które reprezentują krople lipidów. NS5A wchodzi w interakcje z apolipoproteina A1, która jest jednym z białek budujących lipoproteiny o wysokiej gęstości (HDL). Wskazuje to, że NS5A wraz z białkami rdzenia mogą odgrywać rolę w metabolizmie tłuszczów, prowadząc do stłuszczenia wątroby [9].

HCV może interferować z metabolizmem lipidów na poziomach zaburzenia sekrecji, wzmoczonej syntezy *de novo* oraz zaburzeń degradacji. Pierwszym proponowanym mechanizmem tłumaczącym stłuszczenie indukowane zakażeniem HCV jest zaburzenie sekrecji lipidów z zakażonych hepatocytów. U pacjentów zakażonych HCV, u których zmiany zaawansowania stłuszczenia korelują z odpowiedzią na leczenie obserwuje się obniżone stężenie apolipoproteiny B i cholesterolu, co potwierdza możliwość interferencji HCV z VLDL.

Udział stłuszczenia wątroby w indukcji procesów hepatokarcynogenezy jest nieznany. Wydaje się, że predysponuje ono do peroksydacji lipidów i wydłuża aktywację wolnych rodników tlenowych, zwiększając ryzyko mutacji [10]. HCV może też nasilać stres oksydacyjny wywołany w wyniku stłuszczenia. Białka rdzenia HCV poprzez zmiany stanu utlenienia lub interakcje z receptorem alfa retinoidu X wpływają na proliferację i różnicowanie komórek oraz metabolizm lipidów. Ohata i wsp. wskazują na stłuszczenie jako niezależny czynnik ryzyka rozwoju HCC obok marskości wątroby, czy nie leczonego przewłokienia. Niewykluczone, że stłuszczenie zwiększa ryzyko HCC pośrednio poprzez stymulację włóknienia wątrobowego [11]. Niektórzy badacze wskazują na wzrost liczby przypadków HCC w konsekwencji NASH i potencjalny związek z opornością na insulinę i stłuszczeniem wątroby. Według innych HCC niezwykle rzadko rozwija się bez obecności zaawansowanego włóknienia, które jest znanym czynnikiem onkogennym [12,13].

Badania eksperymentalne na myszach transgenicznych dla białek rdzenia HCV wykazały udział HCV w rozwoju oporności na insulinę (IR) i związanej z nią hiperinsulinemii. Hiperinsulinemia u zakażonych HCV może promować fibrogenozę poprzez zmianę produkcji określonych cytokin, w tym TNF-alfa lub przez jego bezpośredni efekt na komórki gwiaździste. Wykazano również, że IR jest niezależnym czynnikiem gorszej odpowiedzi na leczenie przeciwwirusowe u zakażonych HCV, szczególnie u otyłych. Z drugiej strony wywołany zakażeniem HCV proces zapalny w wątrobie współistniejący z otyłością i opornością na insulinę może prowadzić do postępującego uszkodzenia wątroby ze stłuszczeniem [14]. Adipocyty wykazują ekspresję prozapalnych cytokin, w tym TNF-alfa, która była istotnie statystycznie wyższa u zwierząt otyłych. Neutralizacja TNF-alfa przez rozpuszczalny receptor prowadziła do obniżenia IR u tych zwierząt. W innym badaniu wykazano towarzyszący obniżeniu masy ciała spadek eks-

presji TNF-alfa na ludzkich adipocytach [15]. Wyjaśnienie związków przewlekłego zapalenia wirusowego i towarzyszących zaburzeń metabolicznych wskaże być może drogę do nowych rozwiązań terapeutycznych mających na celu minimalizację uszkodzeń wątroby oraz poprawę trwałej wirusologicznej odpowiedzi na leczenie.

HCV może również indukować stłuszczenie poprzez syntezę *de novo* kwasów tłuszczowych. W badaniach doświadczalnych wykazano, że HCV ma zdolność regulacji sygnału elementu regulującego sterolu łączącego białko 1c (SREBP-1c), który jest czynnikiem transkrypcyjnym dla ekspresji enzymów odpowiedzialnych za liponeogenezę, promującym wewnątrzkomórkową akumulację trójglicerydów. Szimpansy eksperymentalnie zakażane HCV wykazywały wzrost aktywności wewnątrzwątrobowych enzymów biorących udział w lipogenezie, regulowanych przez SREBP-1c [16].

Białko rdzenia HCV może aktywować domenę łączącą DNA receptora alfa retinoidu X (R $\alpha$ Ralfa) – czynnika transkrypcyjnego, kontrolującego syntezę lipidów. Akumulacja tłuszczów w hepatocytach z ekspresją HCV wydaje się zależeć od obecności lipidów egzogennych, których poziom obniża się w zależności od nowo syntetyzowanych kwasów tłuszczowych w procesie zależnym od białek HCV. Sam wirus bowiem może zaburzać utlenianie kwasów tłuszczowych.

Tsutsumi i wsp. opisali obniżenie ekspresji mitochondrialnej palmitylotransferazy-1 karnityny (CPT-1) enzymu ograniczającego mitochondrialną beta-oksydację, która jest główną drogą katabolizmu kwasów tłuszczowych i oksydazy acylo-CoA (AOX) [17]. Ponieważ obniżenie ekspresji genów CPT-1 i AOX jest kontrolowane przez peroksyosomalny aktywowany proliferacją receptor alfa (PPARalfa), powyższe zmiany metabolizmu lipidów mogą być wtórne do obniżenia ekspresji PPAR alfa. Ekspresja mRNA dla PPARalfa była znacznie niższa u pacjentów zakażonych genotypem 3 HCV w porównaniu do zakażonych genotypem 1 HCV [18].

U zakażonych innym niż 3 genotypem HCV, nie nadużywających alkoholu najczęściej obserwuje się podwyższony BMI. Stłuszczenie tzw. metaboliczne nie jest modyfikowane przez terapię antywirusową, aczkolwiek niekiedy obserwuje się częściowe zmniejszenie jego zaawansowania. Wskazuje to na niemożność całkowitego rozgraniczenia stłuszczenia na wirusowe u zakażonych genotypem 3 HCV i metaboliczne u zakażonych genotypem 1 HCV.

Reasumując, występują dwa typy stłuszczenia. U zakażonych genotypem 1 HCV dominuje typ metaboliczny, u zakażonych genotypem 3 HCV typ wirusowy. Charakterystyczne dla stłuszczenia typu metabolicznego jest występowanie oporności na insulinę związanej z nadmierną masą ciała czyli cechy zespołu metabolicznego. Mechanizm stłuszczenia wątroby w oporności na insulinę jest złożony. Obrót wolnych kwasów tłuszczowych z tkanki tłuszczowej do wątroby jest konsekwencją hamowania aktywności lipazy lipoproteinowej, co powoduje zwiększony wychwyt wolnych kwasów tłuszczowych (FFA) przez tkanki obwodowe, w tym wątrobę. Dysregulacja gospodarki tłuszczowej stymuluje syntezę kwasów tłuszczowych *de novo*, hamując mitochondrialną beta-oksydację. Te zaburzenia równowagi pomiędzy wychwytem, syntezą *de novo* i degradacją, powodują akumulację trójglicerydów w hepatocytach. W tym kontekście w przypadku zakażenia HCV dochodzi do synergistycznego działania na szlaki metaboliczne

na przykład inhibicji CPT-1. Badania eksperymentalne sugerują interferencję HCV ze szlakami sygnałów insuliny na poziomie proteosomalnej degradacji substratów receptorów 1 i 2 dla insuliny. Zaburzenia funkcji tych szlaków związane są ze wzrostem ekspresji prozapalnych cytokin. Chorzy na pzw C z zaawansowaną chorobą wątroby wykazują wzmożoną ekspresję TNF-alfa, wyższą oporność na insulinę i ryzyko rozwoju cukrzycy. Oporność na insulinę dotyczy wszystkich genotypów lecz u zakażonych genotypem 3 HCV wirus może zmieniać wewnątrzwątrobowy sygnał insulinowy przez obniżenie ekspresji PPARalfa. HCV indukuje stłuszczenie wątroby zarówno przez wpływ na metabolizm lipidów w hepatocytach, jak i na regulację oporności na insulinę.

Relatywnie nowym zagadnieniem jest wpływ czynników metabolicznych na uwalnianie z tkanki tłuszczowej cytokin zwanych adipokinami. Adiponektyna jest uwalnianą przez adipocyty cytokiną o działaniu zapobiegającym gromadzeniu tłuszczu przez inne tkanki. Wykazano, że zakażeni genotypem 3 HCV mieli najniższe poziomy adiponektyn, które warunkowały wzrost FFA w osoczu i ich wychwyty przez hepatocyty [18].

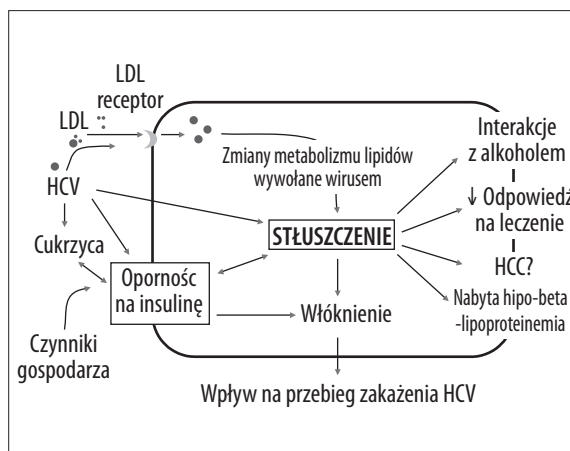
Replikacja HCV zachodzi w cytoplazmie hepatocytów, w styczności z błonami reticulum endoplazmatycznego. Zmiany metabolizmu lipidów komórkowych i cholesterolu poprzez zmiany lipidów błonowych mogą zaburzać replikację HCV. Niewykluczony jest wpływ HCV na własną replikację przez regulację metabolizmu lipidów błon reticulum.

Wykazano, że replikacja HCV w linii komórek hepatoma może być przerwana wskutek podania lowastatyny – leku hamującego reduktazę 3-OH-3 metyloglutarylo CoA prowadzącego do obniżenia stężenia mewalonatu – prekursora hydrofobowych prenylowych grup prostetycznych białek błon komórkowych. Zahamowanie replikacji HCV sugeruje, że wymaga ona udziału błonowych białek, ostatnio zidentyfikowanych jako FBL<sub>2</sub> tworzących kompleks z NS5A.

Związki stłuszczenia z zakażeniem HCV przedstawiono na Rycinie 1.

Dotychczas nie wyjaśniono, czy obydwa typy stłuszczenia (wirusowe i metaboliczne) mają jednakowy wpływ na progresję włóknienia w wątrobie. Poglądy są kontrowersyjne. Według Westina i wsp. stłuszczenie przyspiesza włóknienie tylko u zakażonych genotypem 3 HCV [19]. Inni autorzy potwierdzają związek stłuszczenia i włóknienia również u zakażonych genotypem 1 [20].

Castera i wsp. na podstawie analizy przeprowadzonej u niespełna 100 pacjentów z pzw C wskazują, że nasilenie stłuszczenia było jedynym niezależnym czynnikiem związanym z progresją włóknienia [21]. Podobnie Westin i wsp. wykazali, że zakażeni genotypem 3 HCV demonstrujący stłuszczenie w obrazach histopatologicznych wątroby charakteryzowali się wysoką progresją włóknienia, natomiast w badaniach Sharmy i wsp. nie znaleziono związku stłuszczenia z zaawansowaniem włóknienia, aktywnością zapalną, wzrostem BMI, czy stężeniem lipidów u zakażonych genotypem 3 HCV. BMI było skorelowane z zaawansowaniem stłuszczenia u zakażonych genotypem 1. Pacjenci zakażeni genotypem 3 byli młodszy, z niższym stężeniem cholesterolu, a umiarkowane i zaawansowane stłuszczenie częściej obserwowano w biopsjach wą-



Rycina 1. Związki stłuszczenia z zakażeniem HCV

troby zakażonych genotypem 3 HCV narkomanów przyjmujących środki odurzające drogą dożylną [19,22].

W badaniach oceniających wpływ spadku masy ciała na stłuszczenie wątroby wykazano obok redukcji stłuszczenia również zmniejszenie zaawansowania włóknienia w wątrobie. Wśród mechanizmów, w których związane z HCV stłuszczenie wątroby promuje progresję włóknienia podkreśla się rolę stresu oksydacyjnego i aktywacji komórek gwiaździstych, udziału cytokin prozapalnych, oporności na insulinę i zwiększenia podatności na apoptozę [23].

W pracy Walsh i wsp. natężenie stłuszczenia było związane ze wzrostem indeksu apoptozy i ekspresją aktywnej caspazy-3 w hepatocytach, jak też obniżeniem mRNA dla Bcl i wzrostem proapoptotycznego wskaźnika Bax/Bcl. W tych przypadkach obserwowano też nasilenie włóknienia. Nie wyjaśniono czy mechanizmem indukującym apoptozę było tylko stłuszczenie oraz czy wzmożona apoptoza związana była z nasileniem włóknienia [24].

Obecność stłuszczenia jest znanym czynnikiem niekorzystnej odpowiedzi na leczenie przeciwwirusowe. U pacjentów zakażonych genotypem 3 HCV uzyskujących SVR obserwowano znaczną redukcję stłuszczenia. U zakażonych genotypem 1 HCV, niezależnie od typu odpowiedzi na leczenie nie obserwowano zmian natężenia stłuszczenia [8].

Molekularne przyczyny korelacji oporności na insulinę i oporności na leczenie są niejasne. U pacjentów nie odpowiadających na leczenie wykazano podwyższony poziom supresora cytokin sygnału 3 (SOCS-3) w wątrobie – czynnika promującego degradację IRS-1. Grupa SOCS stanowi czynniki negatywnej regulacji sygnałów transdukcji i aktywacji transkrypcji (STAT-1) IFN-alfa. Niewykluczone, że HCV aktywuje grupę SOCS w celu hamowania sygnału IFN-alfa, a jednocześnie zaburzenia sygnału insuliny [25].

Uważa się, że zaburzenia metaboliczne i stłuszczenie wątroby u zakażonych HCV odgrywają rolę jako kofaktory powikłań i niepowodzeń terapii. Zrozumienie związków pomiędzy zakażeniem HCV, zespołem metabolicznym i jego konsekwencjami może doprowadzić do zmiany schematów terapeutycznych i zwiększenia ich skuteczności.



1. Gerber MA, Krawczyński K, Alter MJ i wsp: Histopathology of community acquired chronic hepatitis C. The sentinel counties chronic non-A, non-B hepatitis study team. *Mod Pathol*, 1992; 5: 483–86
2. Czaja AJ, Carpenter HA: Sensitivity, specificity and predictability of biopsy interpretations in chronic hepatitis. *Gastroenterology*, 1993; 105: 1824–32
3. Bach N, Thung SN, Schafner F: The histological features of chronic hepatitis c and autoimmune chronic hepatitis: a comparative analysis. *Hepatology*, 1992; 15: 572–77
4. Guido M, Bortolotti F, Jara P i wsp: Liver steatosis in children with chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol*, 2006; 101: 2611–15
5. Matos C, Perez RM, Pacheco MS i wsp: Steatosis in chronic hepatitis C: relationship to the virus and host risk factors. *J Gastroenterol Hepatol*, 2006; 21(8): 1236–39
6. Hickman IJ, Clouston AD, Macdonald GA i wsp: Effect of weight reduction on liver histology and biochemistry in patients with chronic hepatitis C. *Gut*, 2002; 51: 89–94
7. Hickman IJ, Jonsson JR, Prins JB i wsp: Modest weight loss and physical activity in overweight patients with chronic liver disease results in sustained improvements in alanine aminotransferase, fasting insulin, and quality of life. *Gut*, 2004; 53: 413–19
8. Lonardo A, Loria P, Adinolfi LE i wsp: Hepatitis C and steatosis: a reappraisal. *J Viral Hepat*, 2006; 13(2): 73–80
9. Zhu AX, Chung RT: Hepatic steatosis in patients with chronic hepatitis C virus infection. *Cancer*, 2003; 97(12): 2948–50
10. Okuda M, Li K, Beard MR et al: Mitochondrial injury, oxidative stress and antioxidant gene expression are induced by hepatitis C virus core protein. *Gastroenterology*, 2002; 122: 366–75
11. Kumar D, Farrell GC, Kench J i wsp: Hepatic steatosis and the risk of hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis C. *J Gastroenterol Hepatol*, 2005; 20(9): 1395–400
12. Zen Y, Katayanagi K, Tsuneyama K i wsp: Hepatocellular carcinoma arising in non-alcoholic steatohepatitis. *Pathol Int*, 2001; 51: 127–31
13. Hassan MM, Hwang L, Hatten CJ i wsp: Risk factors for hepatocellular carcinoma: synergism of alcohol with viral hepatitis and diabetes mellitus. *Hepatology*, 2002; 36: 1206–13
14. Zein NN, Poterucha J: Steatosis In hepatitis C: the missing link to metabolic abnormalities? *Am J Gastroenterol*, 2006; 101: 2616–18
15. Kern PA, Saghizadeh M, Ong JM i wsp: The expression of tumor necrosis factor in human adipose tissue. Regulation by obesity, weight loss and relationship to lipoprotein lipase. *J Clin Invest*, 1995; 95: 2111–19
16. Su AI, Pezacki JP, Wodicka L i wsp: Genomic analysis of the host response to hepatitis c virus infection. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002; 99: 15669–74
17. Tsutsumi T, Suzuki T, Shimoike T: Interaction of hepatitis C virus core protein with retinoid X receptor alpha modulates its transcriptional activity. *Hepatology*, 2002; 35: 937–46
18. Negro F: Mechanisms and significance of liver steatosis in hepatitis C virus infection. *World J Gastroenterol*, 2006; 12(42): 6756–65
19. Westin J, Nordlinder H, Lagging M i wsp: Steatosis accelerates fibrosis development over time in hepatitis C virus genotype 3 infected patients. *J Hepatol*, 2002; 37: 837–42
20. Leandro G, Mangia A, Hui J i wsp: relationship between steatosis, inflammation and fibrosis in chronic hepatitis C: a meta-analysis of individual patient data. *Gastroenterology*, 2006; 130: 1636–42
21. Castera L, Hezode C, Roudot-Toraval F i wsp: Worsening of steatosis is an independent factor of fibrosis progression in untreated patients with chronic hepatitis C and paired liver biopsies. *Gut*, 2003; 52: 288–92
22. Sharma P, Balan V, Hernandez J et al: Hepatic steatosis in hepatitis C virus genotype 3 infection: does it correlate with body mass index, fibrosis and HCV risk factors? *Dig Dis Sci*, 2004; 49(1): 25–29
23. Clouston AD, Jonsson JR, Purdie DM i wsp: Steatosis and chronic hepatitis C: analysis of fibrosis and stellate cell activation. *J Hepatol*, 2001; 34: 314–20
24. Walsh MJ, Vanags DM, Clouston AD i wsp: Steatosis and liver cell apoptosis in chronic hepatitis C: a mechanism for increased liver injury. *Hepatology*, 2004; 39: 1230–38
25. Gadina M, Hilton D, Jonhston JA i wsp: Signaling by type I and II cytokine receptors: ten years after. *Curr Opin Immunol*, 2001; 13: 363–73