

Zakażenia HBV po 40-latach od odkrycia „antygeny Australia”

HBV infections after 40 years from “Australia antigen” discovery

Waldemar Halota, Małgorzata Pawłowska

Katedra Chorób Zakaźnych i Hepatologii CM UMK, Bydgoszcz

Adres do korespondencji: Waldemar Halota, Katedra Chorób Zakaźnych i Hepatologii CM UMK, ul. Floriana 12, 85-838 Bydgoszcz, Polska, e-mail: kikchzak@cm.umk.pl

Wstęp

Mimo, iż młodym lekarzom nazwa „antygen Australia” może mówić niewiele, jego odkrycie stanowiło zasadniczy zwrot w konfrontacji z chorobą nazywaną wówczas „wszczepionym zapaleniem wątroby”. Te historyczne nazwy funkcjonują obecnie w praktyce lekarskiej jako wirusowe zapalenie wątroby typu B oraz powszechnie znany antygen HBs, oznaczający część płaszczyzny wirusa HBV.

Przyznanie Baruchowi Blumbergowi nagrody Nobla „za odkrycia dotyczące nowych mechanizmów pochodzenia i rozprzestrzeniania się chorób zakaźnych, w szczególności antygeny Australia”, unaocznia rangę przełomu w poznaniu wirusowego zapalenia wątroby typu B, jaki dokonał się przy udziale ponad 80-letniego już laureata (*na zdjęciu z autorami artykułu*) (Rycina 1). Na kanwie odkrycia z 1965 roku możliwy był wszelki postęp jaki dokonał się później w poznaniu tej choroby uważanej w wielu krajach za społeczną. Poza odkryciem antygeny HBs, zasługą Blumberga i zespołu było wprowadzenie techniki diagnozowania tych zakażeń oraz udział w opracowaniu metod czynnej immunizacji. Nie ma wątpliwości, iż mimo wielokierunkowego postępu w poznaniu zakażenia HBV dokonanego później przy udziale innych zespołów badawczych, Blumberg ze swymi pionierskimi odkryciami zawsze będzie numerem jeden w tej dziedzinie. Obecnie choroba przestaje być groźna dla nowych pokoleń w związku z szeroko zakrojonymi akcjami szczepień ochronnych. Również w Polsce to one zdecydowały o drastycznym obniżeniu zapadalności i zmarginalizowaniu rangi choroby wśród nie zakażonych. Atmosferę osiągnięć tego ponad 40-letniego okresu mać jednak dysproporcja pomiędzy postępiem w zapobieganiu i ciągle mało satysfakcjonującym rozwojem możliwości farmakoterapii klinicznych następstw zakażenia HBV. Nie umiemy modyfikować historii naturalnej choroby tak, aby kończyła się na wcześniejszych etapach, ani satysfakcjonująco leczyć jej późnych postaci. W konsekwencji około 400 milionów ludzi na świecie należy do grupy wysokiego ryzyka zgonu z powodu chorób wątroby w przebiegu tego zakażenia, a każdego roku około miliona spośród nich umiera. Jeśli przyjąć, że prawdziwe szacunki wskazujące, iż dotychczas około 2 miliardów ludzi zostało



Rycina 1. Baruch Blumberg i autorzy artykułu, Kohala Coast 2005.

zakażonych HBV, to nie sposób oprzeć się podejrzaniu, że częstość niekorzystnych następstw w tych przypadkach jest wyższa niż wynika to z dostępnych podręczników.

Przewlekłe zapalenia, marskość i rak pierwotny wątroby etiologii HBV decydują obecnie o randze i aktualności omawianego problemu [1].

Wirus

HBV (Hepatitis B virus) posiadający podwójną kolistą nić DNA, z rodziny Hepadna jest dobrze znany polskiemu lekarzowi. Do rodziny tej należą również wirusy zwierzęce WHV, GSHV i DHBV, których odkrycie otworzyło nową kartę badań nad patogenezą chorób wywołanych przez HBV.

Na podstawie analizy sekwencyjnej izolatów HBV wyróżniono 8 genotypów tego wirusa, oznaczonych literami od A do H. Wykazują one co najmniej 8% różnice w budowie genomów, powstające w przebiegu długotrwałej ewolucji. Inne odmiany genetyczne – mutanty, w przeciwieństwie do genotypów powstają szybciej, pod wpływem takich czynników zewnętrznych jak szczepionki, immunoglobuliny czy leki i wykazują mniejsze różnice w zakresie budowy genomu. Pierwszym mutan-

tem był opisany w 1987 roku szczep u dzieci senegalskich, nazwany HBV-2. Zakażenie HBV w tym przypadku charakteryzuje się nieobecnością HBeAg oraz przeciwciał anti-HBe w surowicy krwi. Inny mutant opisany w 1990 roku nie wykazuje ekspresji HBsAg, co wiąże się ze zmianą aminokwasów w pozycjach 3, 53 i 210. W 1994 roku opisano w Singapurze mutant G 145R, występujący u dzieci zakażonych wertykalnie nie odpowiadających na szczepienie p/wzw B. Dotychczas opisano też ponad 30 mutacji kodonu pre-C – tzw. mutanty e-minus, wśród których dominują *precore stop codon* i podwójna mutacja *basal core promoter*. Pierwsza polega na zamianie guaniny na adeninę w pozycji 1896. Szczególnie często dochodzi do niej w rejonach Basenu Morza Śródziemnego i Azji, gdzie dotyczy 90% populacji HBeAg ujemnych. Ma to ścisły związek z dominującymi tam genotypami B, C i D. Budowa genotypu A, gdzie cytozyna w pozycji 1858 tworzy stabilną parę z guaniną w pozycji 1896 utrudnia powstawanie tej mutacji. Podobnie mutacja ta nie powstaje w genotypie F zawierającym sekwencję epsilon. Podwójną mutację basal core promoter T-1762/A-1764, której wynikiem jest obniżenie transkrypcji precore/core mRNA obserwuje się głównie u zakażonych genotypem C HBV [2].

Znaczenie odmian genotypowych HBV w historii naturalnej choroby jest mało poznane, często kontrowersyjne. Wskazuje się, że prawdopodobnie od genotypów HBV zależy przebieg historii naturalnej tego zakażenia jak też odpowiedź na leczenie przeciwwirusowe. Nie ma wątpliwości, że ewolucja HBV będzie postępowała, tym bardziej, że wraz z nowymi lekami wzrastać będzie presja farmakologiczna stymulująca te modyfikacje. Szczególnie interesujące będą rekombinacje między wariantami i mutantami HBV ze względu na ryzyko prowokowania nieznanymi dotychczas zjawisk w przebiegu tych zakażeń.

Choroba

Wirusowe zapalenie wątroby typu B jest chorobą, której przebieg uwarunkowany jest sprawnością mechanizmów odpornościowych osoby zakażonej. Szczególnie widoczne jest to w przypadku noworodków i małych dzieci, u których wcale lub tylko wyjątkowo dochodzi do spontanicznego wyzdrowienia.

Relacje wirus–gospodarz są stosunkowo dobrze poznane w wyniku badań nad przedstawicielami z rodziny Hepadnaviridae oraz doświadczeń na myszach transgenicznym. Wykazano, że w patomechanizmie choroby podstawowe znaczenie ma aktywność limfocytów T oraz różne inne elementy odporności takie jak cytokiny, wolne rodniki i proteazy [3]. W konsekwencji mechanizmy odpornościowe czyli indywidualne cechy osoby zakażonej decydują o „wyleczeniu” lub liczbie zakażonych hepatocytów jak i o ustąpieniu lub utrzymywaniu się zakażenia.

Tradycyjnie wyróżnia się cztery fazy zakażenia HBV, od tolerancji immunologicznej poprzez fazę klirensu, niereplikacyjną lub niskiej replikacji do fazy reaktywacji. „Tolerancję” charakteryzuje wysoki poziom surowiczego HBV-DNA, obecność HBeAg oraz niewielka odpowiedź biochemiczna i histologiczna. Po różnie długim okresie, pojawia się aktywność biochemiczna choroby z jej wykładnikami histologicznymi oraz obniżeniem wiremii. Na granicy drugiej i trzeciej fazy dochodzi do serokonwersji w układzie HBe/anty-HBe i ustępowania zmian martwiczko-zapalnych. W większości przypadków choroba staje się nieaktywna do końca życia, aczkolwiek

u części, uznanych za zdrowych utrzymuje się minireplikacja HBV. U pozostałych może wystąpić czwarta faza z nawrotem choroby. Jest ona typowa dla okresu rekonstrukcji immunologicznej u osób zakażonych HBV leczonych immunosupresyjnie. Nawroty choroby występują zarówno u zakażonych szczepem dzikim HBV, jak i wariantem czy mutantem.

Faza immunotolerancji charakteryzuje zwłaszcza wertykalne zakażenia, w przebiegu których tylko wyjątkowo zdarza się spontaniczna serokonwersja w układzie HBeAg/anty-HBe. Może ona trwać wiele lat, aczkolwiek wbrew nazwie nie chroni przed następstwami klinicznymi. W konsekwencji nie brakuje publikacji o łagodnym przebiegu zakażenia HBV w tych przypadkach jak i przeciwnych temu pogładowi. Niewykluczone, iż decydujące znaczenie odgrywa tu czas od zakażenia. W jednej z niedawno opublikowanych prac amerykańskich wykazano, iż u ponad połowy spośród 76 chorych na pzw B młodych ludzi występowało postępujące włóknienie, z częstymi wykładnikami marskości wątroby. To kolejny dowód wysokiego ryzyka raka wątrobowo-komórkowego (HCC) w tej grupie zakażonych HBV [4].

U zakażonych HBV w wieku późniejszym, częściej występują objawowe przebiegi. Serokonwersja w układzie HBe odzwierciedla u nich zmniejszenie dynamiki choroby oraz stężenia wiremii. W ostatnim czasie coraz więcej badaczy przestaje ten etap historii naturalnej zakażenia HBV uważać za wyzdrowienie lub cel terapii, gdyż często nie łączy się on z ustąpieniem zakażenia. Zrozumienie tych zjawisk komplikuje wspomniana minireplikacja HBV u osób uznawanych do niedawna za wyleczone. W tych przypadkach izolowana obecność przeciwciał anti-HBe w surowicy krwi nie jest wykładnikiem wyzdrowienia, gdyż dotyczy ludzi zagrożonych hepatokarcynogenezą. Decyduje o tym integracja genomów wirusa i hepatocytą z syntezą HBx-DNA, sekwencja szczególnie często wykrywana u zakażonych mutantem e-minus.

W konsekwencji szczególnego znaczenia nabiera czułość stosowanych metod diagnostycznych, a też ostrożność w ocenie zejścia zakażenia.

Terapia

Głównym celem leczenia przewlekłych zapaleń wątroby typu B jest uzyskanie pełnej odpowiedzi terapeutycznej z eliminacją zakażenia HBV. Oznacza to w praktyce obniżenie wiremii HBV do wartości niewykrywalnych czułymi metodami diagnostycznymi oraz trwale ustąpienie biochemicznych i histologicznych wykładników uszkodzenia wątroby. Szczególne miejsce w tych rozważaniach zajmuje serokonwersja w układzie HBeAg/anty-HBe do niedawna wskazywana za cel terapii. W świetle ostatnich doniesień wiadomo, że jest ona konsekwencją obniżenia się wiremii HBV poniżej 10^5 kopii/ml, co wskazuje, że raczej jest to etap pośredni w drodze do celu. Brakuje łatwego kryterium potwierdzenia eliminacji zakażenia HBV. Dotychczas jedynym pewnym jest ustąpienie kluczowego wykładnika zakażenia jakim jest cccDNA (covalently closed, circular DNA). Sekwencja ta powstaje w jądrze zakażonej komórki po połączeniu się wirusowego DNA z chromatyną. Często nazywana minichromosomem stanowi matrycę do produkcji genomowego HBV-RNA, niezbędnego do produkcji białek czynnościowych i strukturalnych wirusa.

W leczeniu zakażeń HBV stosuje się interferony alfa oraz analogi nukleozydów i nukleotydów. Działanie przeciwwiru-



sowe interferonów polega na upośledzeniu translacji wirusowego mRNA, blokowaniu syntezy i elongacji białek, oraz hamowaniu procesu dojrzewania wirionów. Nowe postaci tych cytokin (interferony pegylowane) wykazują wyższą skuteczność od rekombinowanych [5,6].

Prowadzi się badania nad szczepionką terapeutyczną, immunizowaniem komórek dendrytycznych, oraz zastosowaniem interleukin 12 i 18 do stymulowania aktywności limfocytów klasy Th1. Nadal w trakcie badań klinicznych znajduje się interferon gamma. Niemniej zaawansowane badania prowadzone są w celu wykorzystania znajomości cyklu życiowego wirusa dla potrzeb terapeutycznych.

Analogi nukleozydowe i nukleotydydowe blokują replikację HBV poprzez hamowanie odwrotnej transkryptazy. Trwała odpowiedź występuje tu stosunkowo rzadko, nawet w przypadkach leczenia przedłużonego do kilku lat. Nie ma wątpliwości, iż leczenie to u chorych na marskość lub po przeszczepieniu wątroby opóźnia postęp choroby. Historycznie na plan pierwszy wysuwa się lamiwudyna stosowana od wielu lat w praktyce klinicznej. Zdobyła ona uznanie klinicystów ze względu na zdolność tłumienia replikacji HBV i prawie całkowity brak działań niepożądanych. Problemem jest natomiast duża łatwość generowania szczepów opornych (YMDD), które unicestwiają jej wartość terapeutyczną. W przeciwieństwie do lamiwudyny, adefowir, czy telbivudyna wywołują lekooporność rzadziej; najmniejszą zdolność generowania oporności wykazuje entekawir [7–9]. W praktyce klinicznej w najbliższym czasie znajdą również zastoso-

wanie emtrycytabina (FTC – analog cytozyny), analog nukleotydydowy tenofovir i inne. Leki przyjmowane doustnie, zwłaszcza stosowane w schematach wielolekowych stanowią poważną perspektywę terapeutyczną. Leczenie skojarzone zmniejsza ryzyko oporności, wzmacniając efekt przeciwwirusowy. Zaletą rozważanych tu leków jest też wysokie bezpieczeństwo i tolerancja.

Autorzy nie podjęli w tym artykule problemu zabiegowych metod leczenia tych stanów chorobowych, prezentując pogląd, iż przeszczepienie wątroby jest aktem rozpaczki i bezsilności medycyny zachowawczej, dowodem niedostatecznego postępu farmakoterapii. Od niej bowiem, nie transplantologii, zależy kolejny przełom w zwalczaniu zakażenia HBV.

Perspektywy

Nie ma wątpliwości, iż skuteczność leczenia chorych na pzw B będzie się poprawiać. Coraz częściej próbuje się wprowadzać kombinacje leków na wór wielolekowej terapii antyretrowirusowej. Zwiększająca się liczba pochodnych nukleozydowych i nukleotydydowych skutecznych wobec HBV będzie tym próbom sprzyjać. Niewykluczone, że „mieszanka” z wyboru będzie łączenie tych leków z immunomodulatorami. W tym kontekście problemem otwartym jest zastosowanie szczepionek terapeutycznych. Kilka polskich ośrodków brało ostatnio udział w tego typu badaniach [10]. W konsekwencji nie tracą na aktualności poszukiwania zarówno skutecznych immunomodulatorów, jak i leków o dominującym działaniu przeciwwirusowym.

Piśmiennictwo:

1. Halota W, Pawłowska M: Zakażenia wirusami hepatotropowymi. *Med Sci Rev Hepatologia*, 2001; 43–57
2. Pawłowska M, Halota W: Charakterystyka i znaczenie kliniczne odmian genetycznych HBV. *Med Sci Rev Hepatologia*, 2004; 43–46
3. Pawłowska M, Halota W: Chemokiny i cytokiny jako czynniki uszkodzenia i regeneracji wątroby. *Med Sci Rev Hepatologia*, 2006; 34–35
4. Pawłowska M, Halota W: Charakterystyka zakażeń HBV i HCV u dzieci. *Med Sci Rev Hepatologia*, 2006; 17–20
5. Marcellin P, Lau GKK i wsp: Peginterferon Alfa-2a Alone, Lamivudine Alone, and the Two in Combination in Patients with HBeAg – Negative Chronic hepatitis B. *N Engl J Med*, 2004; 351(12): 1206–17
6. Pawłowska M, Halota W: Pegylowany IFN-alfa w leczeniu przewlekłego zapalenia wątroby typu B u pacjentów z nieobecny antygenem HBe. *Przegl Epidemiol*, 2006; 60(1): 105–8
7. Halota W, Pawłowska M: Entekawir – nowa opcja w leczeniu przewlekłego zapalenia wątroby typu B. *Med Sci Rev Hepatologia*, 2006; 15–16
8. Lai CH, Shouval D, Halota W i wsp: Entecavir versus Lamivudine for Patients with HBeAg-Negative Chronic Hepatitis B. *N Engl J Med*, 2006; 354: 1011–20
9. Chang TT, Gish R, Halota W i wsp: A comparison of Entecavir and Lamivudine for HBeAg-Positive Chronic Hepatitis B. *N Engl J Med*, 2006; 354: 1001–10
10. Schneider J, Halota W, Delic D i wsp: A novel primeboosttherapeutic vaccine induces sustained seroconversion at 52 weeks in patients with HBeAg+ chronic hepatitis B: a phase IIa clinical trial. *J Hepatol*, 2006; 44(Suppl.2): S277