

Utajone zakażenie HBV

Occult HBV infection

Joanna Kozłowska, Joanna Jabłońska

Warszawski Uniwersytet Medyczny, Klinika Hepatologii i Nabytych Niedoborów Immunologicznych, Warszawa

Summary: The persistence of hepatitis B virus genome in HBsAg-negative individuals, termed occult HBV infection, has been a matter of discussion for years, but now it is supported by many publications. Occult HBV infection may be an important factor in different clinical situations, including transmission of the infection, reactivation of hepatitis B during immunosuppression and development of hepatocellular carcinoma. Several aspects of this occult infection, like its role in fibrosis progression, chronic inflammatory reaction or evolution to „cryptogenic” cirrhosis remain unclear, but the existing reports enhance the importance of this medical problem, which needs much more research.

Słowa kluczowe: zapalenie wątroby typu B • utajone zakażenie HBV • HBV-DNA • HBsAg

Key words: hepatitis B • occult HBV • HBV genome • HBsAg-negative

Adres do korespondencji: Joanna Kozłowska, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Klinika Hepatologii i Nabytych Niedoborów Immunologicznych, ul. Wolska 37, 01-201 Warszawa, Polska, e-mail: askak1@o2.pl

Wstęp

O utajonym zakażeniu HBV (occult HBV infection) mówimy wtedy, gdy u pacjenta z niewykrywalnym antygenem powierzchniowym HBV w surowicy (HBsAg) stwierdza się obecność HBV DNA w tkance wątrobowej, a niekiedy również w surowicy.

Istnienie takiej postaci zakażenia stwierdzono wielokrotnie w różnych sytuacjach klinicznych, a także na modelach zwierzęcych. Po raz pierwszy opisano przypadek utajonego zakażenia HBV w 1978 r., w wyniku przetoczenia krwi od pacjenta z niewykrywalnym HBsAg, ale z obecnymi przeciwciałami anti-HBc [1].

Utajone zakażenie HBV charakteryzuje się zwykle bardzo niskim poziomem HBV DNA w surowicy (często poniżej 10^4 kopii/ml), w części przypadków niewykrywalnym. U wszystkich pacjentów stwierdza się obecność HBV DNA w tkance wątroby [2]. Ilość HBV DNA w wątrobie, nie jest u tych osób mniejsza niż u chorych z wykrywalnym HBsAg [3]. Zdolność do replikacji i transkrypcji wirusowej udowodniono poprzez wykazanie obecności HBV RNA i cccDNA w wątrobie [4].

Ciekawym aspektem tego zagadnienia jest fakt, że u ponad 20% osób z utajonym zakażeniem HBV nie wykrywa się żadnych markerów serologicznych zakażenia HBV [5]. U pozostałych osób stwierdza się przeciwciała anti-HBc i/lub anti-HBs.

Diagnostyka

Najbardziej właściwą metodą rozpoznawania utajonego zakażenia HBV jest badanie wątrobowego DNA. Wobec ograniczonej dostępności próbek materiału tkankowego, niejednokrotnie rozpoznanie utajonego zakażenia HBV ustala się na podstawie badania jedynie surowicy. W publikowanych pracach metody identyfikacji HBV DNA różnią się znacznie pod względem czułości i specyficzności, dlatego nie w pełni są porównywalne. Nie dysponujemy dotychczas komercyjnymi testami, umożliwiającymi badania nad utajonymi zakażeniami wirusowymi. W chwili obecnej „złoty standard” jest analiza ekstraktów DNA typu „home made”, wykonana techniką „nested”-PCR, z użyciem primerów specyficznych dla co najmniej 3 różnych regionów genomu HBV. Wynik pozytywny dla co najmniej 2 różnych regionów może być uznany za potwierdzenie utajonego zakażenia HBV [6].

Próby wyjaśnienia patogenezы

Istotnym etapem w cyklu życiowym wirusa HBV jest konwersja genomu wirusowego w cccDNA (covalently closed circular DNA). Cząstka ta, umiejscawiająca się w jądrze komórki wątrobowej jako stabilny epizom, służy za matrycę do transkrypcji wirusa. HBV cccDNA charakteryzuje się dużą trwałością, co w połączeniu z długim okresem półtrwania komórki wątrobowej tłumaczy może trudności w eradykacji wirusa.



Przyczyna zanikania HBsAg w surowicy i niejednokrotnie serokonwersji do anti-HBs, pomimo utrzymywania się w wątrobie episomalnych genomów wirusa, zdolnych do replikacji, pozostaje niewyjaśniona. Poszukiwania mutacji, prowadzących do zahamowania ekspresji genu S u tych pacjentów, okazały się bezowocne [7]. Infekcja utajona wydaje się być skutkiem silnego zahamowania replikacji i ekspresji genów wirusa, jednak bez efektu całkowitej eradykacji wirusa. Zostaje ustalona pewnego rodzaju równowaga pomiędzy wirusem a układem immunologicznym gospodarza. Wykazano między innymi istotne znaczenie cytokin takich jak TNF- α i interferon- γ w hamowaniu ekspresji genów HBV [8]. Dowodem na udział układu immunologicznego w rozwoju utajonego zakażenia HBV jest możliwość pełnej reaktywacji zakażenia w sytuacji immunosupresji.

Modele zwierzęce

Szczegółowe badania występowania utajonego zakażenia wirusem zapalenia wątroby przeprowadzono na modelach zwierzęcych: WHV u świstaków amerykańskich i GSHV u wiewiórek ziemnych. Są to wirusy z rodziny Hepadnaviridae, najbliższe spokrewnione z HBV. Wykazano, że zakażenie WHV pozostaje u świstaków w postaci utajonej do końca życia, jako następstwo przebytego ostrego zapalenia wątroby [9]. Zakażenie to przenosi się wertykalnie z matki na dziecko. Zostało również udokumentowane, że utajona obecność wirusa, wykrywalna w wątrobie oraz w tkance limfatycznej, przyczynia się do rozwoju pierwotnego raka wątroby u tych zwierząt [10].

Występowanie

Dane dotyczące częstości występowania utajonego zakażenia HBV różnią się znacznie. Wynika to z różnych metod rozpoznawania tego zakażenia. Prawdopodobnie częstość występowania utajonego HBV w różnych częściach świata odzwierciedla endemiczność zakażeń w danym regionie.

Wśród dawców krwi, w krajach wysoko rozwiniętych występowanie utajonego zakażenia HBV jest rzadkie, natomiast w krajach rozwijających się jest znacznie częstsze [11]. Szczególnie często utajone HBV stwierdza się u pacjentów zakażonych HCV, np. aż u 30% zakażonych HCV w basenie Morza Śródziemnego [12], i częściej jeszcze wśród mieszkańców Dalekiego Wschodu [13]. Oprócz pacjentów z przewlekłymi chorobami wątroby, większe ryzyko występowania utajonego zakażenia stwierdzono również u chorych z hemofilią – do 50% [14] oraz u narkomanów – do 45% [15]. Duże rozbieżności występują wśród danych dotyczących pacjentów przewlekle hemodializowanych oraz wśród zakażonych HIV.

Należy podkreślić, że nie u wszystkich chorych z przeciwciałami anti-HBc wykrywa się utajone zakażenie HBV. Rzadko dotyczy to dawców krwi, częściej pacjentów z towarzyszącą przewlekłą patologią wątroby.

Transmisja zakażenia

Osoby z utajonym zakażeniem HBV mogą stanowić źródło zakażenia w przypadku przetoczenia krwi [16]. U biorców rozwija się wtedy typowy obraz kliniczny ostrego zapalenia wątroby typu B. Zostało to potwierdzone eksperymentalnie na szympanсах [17].

Wykazano również możliwość transmisji zakażenia HBV przez transplantację, szczególnie wątroby, od dawcy z utajonym zakażeniem HBV. Ryzyko zakażenia biorcy wątroby od dawcy anti-HBc+ ocenia się na 17–94% [18]. W przypadku seronegatywnych dawców z utajonym zakażeniem HBV – ryzyko to nie zostało dotychczas określone.

Reaktywacja utajonego zakażenia HBV

U pacjentów z utajonym zakażeniem HBV, poddanych immunosupresji (z powodu choroby rozrostowej, zakażenia HIV, chemioterapii lub po transplantacji), może dojść do reaktywacji zakażenia, z nasileniem replikacji wirusa i wystąpieniem zaostrzenia klinicznego choroby wątroby, nierzadko w postaci nadostrego zapalenia wątroby [19,20]. U części tych chorych następuje również reserokonwersja, w postaci zanikania przeciwciał anti-HBs i pojawiania się antygenu HBsAg [21]. Wzrost stężenia HBV DNA wyprzedza o kilka do kilkunastu tygodni objawy kliniczne zapalenia wątroby [22]. Skłania to do rozważenia wskazań do zastosowania profilaktycznego leczenia przeciwwirusowego w trakcie leczenia immunosupresyjnego u chorych z utajonym zakażeniem HBV (podobnie jak u pacjentów z jawnym zakażeniem HBV), lub regularnego monitorowania poziomu HBV DNA w trakcie stosowania immunosupresji u takich pacjentów. Szerszych badań wymaga dokładniejsze określenie częstości, a więc i ryzyka wystąpienia reaktywacji utajonego zakażenia HBV w przebiegu immunosupresji.

Utajone zakażenie HBV a przewlekła choroba wątroby

Nie jest jasne, w jakim stopniu utajone zakażenie HBV przyczynia się do klinicznych objawów choroby wątroby. Wśród pacjentów z kryptogenną chorobą wątroby w Europie wykrywa się około 20% przypadków utajonego zakażenia HBV. Część z tych pacjentów ma marskość wątroby [23].

Wykazano, że u osób, które wyzdrowiały po przebyciu ostrego wirusowego zapalenia wątroby typu B, może nadal utrzymywać się zakażenie HBV w formie utajonej, często nie powodując żadnych objawów klinicznych ani nieprawidłowości biochemicznych [24], podobnie jak to opisano u świstaków amerykańskich. Te dane skłaniają do przypuszczenia, że zakażenie utajone nie prowadzi do poważnego uszkodzenia wątroby u pacjentów immunokompetentnych. Może jednak sprzyjać postępowi choroby wątroby w przypadku istnienia dodatkowego czynnika uszkadzającego wątrobę, jak np. u chorych zakażonych HCV.

Z drugiej strony, istnieje szereg doniesień, które wskazują, że utajone zakażenie HBV może być związane z progresją włóknienia i rozwojem marskości wątroby [23,25]. Wyjaśnieniem tych zróżnicowanych wyników badań może być różna długość okresu trwania jawnego zakażenia HBV. Do serokonwersji w układzie HBs może dojść już w okresie zawnoszonej choroby wątroby, również w okresie marskości. U takich pacjentów stwierdza się duże zmiany w wątrobie, powstałe w okresie jawnego zapalenia wątroby typu B, które po pewnym czasie dopiero przeszło w zakażenie utajone. Natomiast u osób, u których eliminacja HBsAg następuje we wczesnym okresie choroby, prawdopodobnie nie dochodzi do znacznego uszkodzenia wątroby.

Dalszych badań wymaga ocena naturalnego przebiegu utajonego zakażenia HBV w dłuższym okresie czasu. Niektórzy

autorzy sugerują możliwość istnienia zaostrzeń w naturalnym przebiegu tego zakażenia, gdzie okresom nasilonej replikacji wirusa towarzyszyć mogą przejściowe wzrosty poziomu aminotransferaz [26].

Utajone zakażenie HBV u chorych z zakażeniem HCV

Najwięcej doniesień dotyczących utajonego zakażenia HBV dotyczy grupy pacjentów zakażonych HCV. Niezupełnie jasne jest, dlaczego u tak wielu chorych z tej grupy (około 30% lub więcej) stwierdza się koinfekcję w postaci utajonego HBV. Częściowo jest to związane z tym, że do zakażenia tymi wirusami dochodzi drogą parenteralną. Wiadomo również, że zakażenie HCV hamuje replikację HBV, stąd częstsza w przypadku koinfekcji z HCV postać utajona zakażenia HBV niż postać jawna.

Wielu autorów postuluje, że współistnienie utajonego zakażenia HBV przyspiesza progresję choroby u zakażonych HCV [12,27,28], jednak nie wszyscy potwierdzają tę zależność [29,30]. W części prac sugerowano niekorzystny wpływ utajonego HBV na skuteczność leczenia interferonem chorych z HCV [31,32], zagadnienie to wymaga jednak szerszych badań.

Utajone zakażenie HBV a pierwotny rak wątrobowo-komórkowy (HCC)

Szczególnie ważnym aspektem utajonego zakażenia HBV jest silny związek z występowaniem pierwotnego raka wątroby (HCC) [2,33,34]. Zostało to udowodnione również na modelach zwierzęcych, gdzie wykazano wysokie ryzyko rozwoju raka wątroby nawet u osobników po przebytych w przeszłości samogojącym ostrym wirusowym zapaleniu wątroby [10]. Badania wykazują, że mechanizmy karcinogenezy wątrobowej w przebiegu utajonego zakażenia HBV pozostają takie same, jak w zakażeniu jawnym [34].

Częstość występowania utajonego zakażenia HBV wśród pacjentów z HCC wynosi 22–87% [35,34]. Wewnątrzwątrobowe HBV DNA u tych chorych występuje zarówno w formie episomalnej, jak i zintegrowanej. Częstsze występowanie utajonego HBV wśród pacjentów z HCC niż u tych z przewlekłym zapaleniem wątroby czy marskością potwierdza teorię, że utajone HBV jest istotnym czynnikiem sprzyjającym rozwojowi tego nowotworu.

Rekomendacje do badań w kierunku utajonego zakażenia HBV

Z powodu braku komercyjnych testów w kierunku utajonego zakażenia HBV, badania tego rodzaju wykonuje się

głównie dla celów naukowych. Nie istnieją zatem oficjalne zalecenia, u jakich pacjentów należy poszukiwać tego zakażenia. Analizując dane dotyczące utajonego zakażenia HBV można wyszczególnić grupy pacjentów, u których rozpoznanie tej choroby miałyby szczególnie istotne znaczenie:

- chorzy z czynnikami ryzyka zakażenia HBV (szczególnie anty-HBc+), u których planowane jest leczenie immunosupresyjne,
- chorzy z niewyjaśnioną przyczyną choroby wątroby,
- chorzy zakażeni HCV, u których utrzymują się objawy uszkodzenia wątroby pomimo skutecznego leczenia przeciwwirusowego,
- dawcy narządów anty-HBc+.

Chorzy z przewlekłym zapaleniem wątroby typu B do końca życia powinni być okresowo monitorowani w kierunku HCC, nawet po serokonwersji w układzie HBs.

Wnioski

Utajone zakażenie HBV jest zjawiskiem związanym z przetrwałą obecnością wirusowego cccDNA w wątrobie i z silną supresją replikacji wirusa oraz ekspresji jego genów.

Potwierdzenie tego zakażenia wymaga użycia bardzo czułych i specyficznych technik molekularnych.

Zahamowanie replikacji wirusa może nie być trwale – reaktywacja może powodować objawy ostrego zapalenia wątroby lub nawet niewydolności wątroby.

Długotrwałe zakażenie może wywoływać przewlekłe zmiany w wątrobie, zwykle łagodne, czasem jednak stwierdza się progresję do marskości wątroby, zwłaszcza przy współistnieniu innych czynników uszkodzających wątrobę.

Pomimo stanu utajenia wirus HBV zachowuje swoje pełne właściwości pro-onkogenne, stanowiąc istotny czynnik ryzyka rozwoju HCC.

Utajone zakażenie HBV powinno się brać pod uwagę szczególnie u pacjentów poddawanych immunosupresji (ze względu na ryzyko reaktywacji) i u pacjentów z marskością wątroby (ze względu na ryzyko HCC).

Problem utajonego zakażenia HBV wymaga szerokich badań epidemiologicznych, molekularnych i przekrojowych perspektywnych badań klinicznych.

Piśmiennictwo:

1. Hoofnagle JH, Seeff LD, Bales ZB, Zimmerman HJ: Type B hepatitis after transfusion with blood containing antibody to hepatitis B core antigen. *N Engl J Med*, 1978; 298: 1379–83
2. Brechot C, Thiers V, Kremersdorf D i wsp: Persistent hepatitis B surface antigen: clinically significant or purely "occult"? *Hepatology* (Baltimore, MD), 2001; 34: 194–203
3. Werle-Lapostolle B, Bowden S, Locarnini S i wsp: Persistence of cccDNA during the natural history of chronic hepatitis B and decline during adefovir dipivoxil therapy. *Gastroenterology*, 2004; 126: 1750–58
4. Mason AL, Xu L, Guo L i wsp: Molecular basis for persistent hepatitis B virus infection in the liver after clearance of serum hepatitis B surface antigen. *Hepatology*, 1998; 27(6): 1736–42
5. Torbenson M, Thomas DL: Occult hepatitis B. *Lancet Infect Dis*, 2002; 2: 479–86
6. Raimondo G, Pollicino T, Cacciola I, Squadrito G: Occult hepatitis B virus infection. *J Hepatol*, 2007; 46: 160–70
7. Hou J, Wang Z, Cheng J i wsp: Prevalence of naturally occurring surface gene variants of hepatitis B virus in nonimmunized surface antigen-negative Chinese carriers. *Hepatology* (Baltimore, MD), 2001; 34: 1027–34
8. Guidotti LG, Rochford R, Chung J i wsp: Viral clearance without destruction of infected cells during acute HBV infection. *Science*, 1999; 284: 825–29



9. Michalak TI, Pardoe IU, Coffin CS i wsp: Occult lifelong persistence of infectious hepatitis virus and residual liver inflammation in woodchucks convalescent from acute viral hepatitis. *Hepatology* (Baltimore, MD), 1999; 29: 928-38
10. Korba BE, Wells FV, Baldwin B i wsp: Hepatocellular carcinoma in woodchuck hepatitis virus-infected woodchucks: presence of viral DNA in tumor tissue from chronic carriers and animals serologically recovered from acute infections. *Hepatology* (Baltimore, MD), 1989; 9: 461-70
11. Allain JP: Occult hepatitis B virus infection: implications in transfusion. *Vox Sanguinis*, 2004; 86: 83-91
12. Cacciola I, Pollicino T, Squadrito G i wsp: Occult hepatitis B virus infection in patients with chronic hepatitis C liver disease. *N Engl J Med*, 1999; 341: 22-26
13. Koike K, Kobayashi M, Gondo M i wsp: Hepatitis B virus DNA is frequently found in liver biopsy samples from hepatitis C virus-infected chronic hepatitis patients. *J Med Virol*, 1998; 54: 249-55
14. Toyoda H, Hayashi K, Murakami Y i wsp: Prevalence and clinical implications of occult hepatitis B viral infection in hemophilia patients in Japan. *J Med Virol*, 2004; 73: 195-99
15. Torbenson M, Kannangai R, Astemborski J i wsp: High prevalence of occult hepatitis B in Baltimore injection drug users. *Hepatology* (Baltimore, MD), 2004; 39: 51-57
16. Larsen J, Hetland G, Skaug K: Posttransfusion hepatitis B transmitted by blood from a hepatitis B surface antigen-negative hepatitis B virus carrier. *Transfusion*, 1990; 30: 431-32
17. Thiers V, Nakajima E, Kremsdorf D i wsp: Transmission of hepatitis B from hepatitis B-seronegative subjects. *Lancet*, 1988; 2: 1273-76
18. Samuel D, Forns X, Berenguer M i wsp: Report of the monothematic EASL conference on liver transplantation for viral hepatitis (Paris, France, January 12-14, 2006). *J Hepatol*, 2006; 45: 127-43
19. Hoofnagle JH, Dusheiko GM, Schafer DF i wsp: Reactivation of chronic hepatitis B virus infection by cancer chemotherapy. *Ann Intern Med*, 1982; 96: 447-49
20. Marcellin P, Giostra E, Martinot-Peignoux M i wsp: Redevelopment of hepatitis B surface antigen after renal transplantation. *Gastroenterology*, 1991; 100: 1432-34
21. Onozawa M, Hashino S, Izumiyama K i wsp: Progressive disappearance of anti-hepatitis B surface antigen antibody and reverse seroconversion after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in patients with previous hepatitis B virus infection. *Transplantation*, 2005; 79: 616-19
22. Hui CK, Cheung WW, Zhang HY i wsp: Kinetics and risk of *de novo* hepatitis B infection in HBsAg-negative patients undergoing cytotoxic chemotherapy. *Gastroenterology*, 2006; 131: 59-68
23. Chemin I, Trépo C: Clinical impact of occult HBV infections. *J Clin Virol*, 2005; 34: S15-21
24. Michalak TI, Pasquinelli C, Guilhot S, Chisari FV: Hepatitis B virus persistence after recovery from acute viral hepatitis. *J Clin Invest*, 1994; 93: 230-39
25. Zhang YY, Hansson BG, Kuo LS i wsp: Hepatitis B virus DNA in serum and liver is commonly found in Chinese patients with chronic liver disease despite the presence of antibodies to HBsAg. *Hepatology* (Baltimore, MD), 1993; 17: 538-44
26. Kannangai R, Vivekanandan P, Netski D i wsp: Liver enzyme flares and occult hepatitis B in persons with chronic hepatitis C infection. *J Clin Virol*, 2007; 39: 101-5
27. Villa E, Grotola A, Buttafoco P i wsp: Evidence for hepatitis B virus infection in patients with chronic hepatitis C with and without serological markers of hepatitis B. *Digest Diseases Sci*, 1995; 40: 8-13
28. Chen YC, Sheen IS, Chu CM, Liaw YF: Prognosis following spontaneous HBsAg seroclearance in chronic hepatitis B patients with or without concurrent infection. *Gastroenterology*, 2002; 123: 1084-89
29. Nirei K, Kaneko M, Moriyama M, Arakawa Y: The clinical features of chronic hepatitis C are not affected by the coexistence of hepatitis B virus DNA in patients negative for hepatitis B surface antigen. *Intervirology*, 2000; 43(2): 95-101
30. Hui CK, Lau E, Wu H i wsp: Fibrosis progression in chronic hepatitis C patients with occult hepatitis B co-infection. *J Clin Virol*, 2006; 35: 185-92
31. Fukuda R, Ishimura N, Niigaki M i wsp: Serologically silent hepatitis B virus coinfection in patients with hepatitis C virus-associated chronic liver disease: clinical and virological significance. *J Med Virol*, 1999; 58: 201-7
32. Sagnelli E, Coppola N, Scolastico C i wsp: Isolated anti-HBc in chronic hepatitis C predicts a poor response to interferon treatment. *J Med Virol*, 2001; 65: 681-87
33. Brechot C: Pathogenesis of hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma: old and new paradigms. *Gastroenterology*, 2004; 127: S56-61
34. Pollicino T, Squadrito G, Cerenzia G i wsp: Hepatitis B virus maintains its pro-oncogenic properties in the case of occult HBV infection. *Gastroenterology*, 2004; 126: 102-10
35. Paterlini P, Gerken G, Nakajima E i wsp: Polymerase chain reaction to detect hepatitis B virus DNA and RNA sequences in primary liver cancers from patients negative for hepatitis B surface antigen. *N Engl J Med*, 1990; 323: 80-85