

Patogeneza zakażenia HBV

Pathogenesis of HBV infection

Jacek Juszczyk

Katedra i Klinika Chorób Zakaźnych Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, Poznań, Polska

Summary: Approximately 5–10% of acutely HBV infected immunocompetent adults develop a chronic hepatitis with different patterns of severity and course. Viral and host factors causing HBV persistence are not completely understood, but it is widely accepted that this virus is not directly cytopathic. The response to HBV is influenced by the immunological events during the initial phase of HBV replication. Many data has revealed that HBV fails to activate early immunological responses. The control of HBV infection was thought to be dependent on the destruction of infected cells, as well as by cytokine-dependent curative mechanisms, without hepatocyte necrosis. The ability to mount an efficient, virus-specific helper and cytotoxic T-cell response is essential for control of HBV infection. Chronic hepatitis appears to be due to a suboptimal cellular immune response and consequently unuseful, thereby permitting the persisting virus to trigger a chronic necroinflammatory liver disease. The template of HBV transcription, the covalently closed circular DNA (cccDNA) plays a key role in the virus replication and as factor of persistence of infection. The size of cccDNA pool under influence of new anti-viral drug may be only reduced, but not eliminated.

Słowa kluczowe: wirus B zapalenia wątroby • cccDNA HBV • przeciwwirusowa wrodzona odpowiedź odpornościowa • przeciwwirusowa nabyta odpowiedź odpornościowa • cytokiny w zakażeniu HBV • komórki Treg w zakażeniu HBV

Key words: hepatitis B virus • cccDNA HBV • anti-viral innate immune response • anti-viral adaptative immune response • cytokines in HBV infection • Treg cells in hepatitis B infection

Adres do korespondencji: Jacek Juszczyk, ul. Kartuska 13, 60-471 Poznań, Polska, e-mail: juszczyk@post.pl

Wstęp

HBV jest wirusem z rodziny *hepadna* z podwójną nicią DNA, która ulega integracji z genomem hepatocytu, oraz przybiera postać kowalentnie domkniętej kolistej nici (cccDNA HBV), będącej matrycą transkrypcji wirusowego RNA i jest kluczowym elementem zakażenia przewlekłego. Polimeraza DNA HBV ma własności rewertazy, co umożliwia syntezę DNA na matrycy RNA, a następnie translację białek wirusowych, takich jak HBsAg (wraz z *pre-S*) oraz HBcAg i HBxAg. HBV nie jest wirusem wywołującym efekt cytopatyczny [1].

Odpowiedź immunologiczna na zakażenie ma w pierw charakter nieswoisty zależny od odporności wrodzonej, a następnie wysoce swoisty, związany z odpowiedzią nabytą. Ok. 5% osób (obecnie najczęściej przyjmowany wskaźnik w Europie i w USA) do 10% (dane wcześniejsze) przechodzi w przewlekłe wirusowe zapalenie wątroby, pzwWB [2].

Wczesne okresy zakażenia i znaczenie odporności nieswoistej (wrodzonej)

Zadanie odporności nieswoistej polega na hamowaniu rozprzestrzeniania się infekcji oraz na „przełączaniu” informacji

o obecności obcego czynnika do specjalistycznego, swoistego antygenowo układu odporności typu nabytego. Receptory typu *toll-like* (TLR) rozpoznają wzorce antygenowe drobnoustrojów (PAMP: *patogen-associated molecular patterns*). TLR, obok innych, np. białek katerpilarnych, należą do systemu PRR (*pattern recognition receptors*). Są na powierzchni błon komórkowych oraz śródkomórkowo niektórych limfocytów, makrofagów oraz komórek dendrytycznych. Spośród 10 znanych TLR – 2,3,4,7,8 i 9 są PRR dla wirusowego PAMP. Aktywują monocyty i komórki dendrytyczne oraz komórki NK i NKT. Blokowanie TLR wpływa na indukowanie wytwarzania IFN γ [3].

W zdrowej wątrobie TLR mają komórki dendrytyczne, Browicza-Kupffera i hepatocytu. Wpływają na dojrzewanie komórek dendrytycznych prezentujących antygen, stymulując wytwarzanie cytokin prozapalnych, w tym TNF- α i IL-6 [4], indukując wytwarzanie reaktywnych związków tlenu i azotu [5]. Wzbudzając aktywność limfocytów, są jednym z podstawowych elementów łączących odporność wrodzoną z nabytą.

W ostrym zakażeniu HBV wykazano zmiany ekspresji TLR 2, TLR 3, a szczególnie TLR4 [6]. Wg jednych autorów – ekspresja TLR 2 jest zwiększona, a wg innych – zmniejszona

w monocytach, komórkach Browicza-Kupffera i hepatocytach; ten pogląd zaczyna dominować [7].

Komórki dendrytyczne w ostrym zakażeniu HBV

Komórki dendrytyczne mają regulacyjny wpływ na lokalną odpowiedź odpornościową w wątrobie, ponieważ wytwarzają IFN-alfa, IL-12 i IL-10 właśnie poprzez indukcję receptorów TLR-9 [8], a obniżenie ekspresji TLR-9 w komórkach dendrytycznych, powoduje niedobór endogennego interferonu [9], podstawowego czynnika nieswoistej obrony przeciwwirusowej.

Najprawdopodobniej HBV ma mechanizmy omijania wczesnych etapów obrony przed zakażeniem, indukowanych przez TLR. W porównaniu z wirusami *herpes* i grypy, HBV nie indukował aktywności komórek dendrytycznych stymulowanych przez TLR9, a wręcz zmniejszał wytwarzanie IFN α i IL-6 obniżając aktywność plazmocytnych komórek dendrytycznych [10].

Od zakażenia do odpowiedzi cytokinowej

Na modelu świstaków wrażliwych na infekcję WHV (*woodchuck hepatitis virus*) wykazano, że mała dawka wirusa (<1000 wirionów) powoduje serologicznie niewykrywalne zakażenie ograniczone do węzłów chłonnych; z czasem może dojść do zakażenia hepatocytów. Jest to pierwotne zakażenie utajone, w odróżnieniu od wtórnie utajonego po przebyciu ostrego zapalenia wątroby (tzw. minireplikacja). W pierwotnym zakażeniu utajonym jest odpowiedź proliferacyjna limfocytów T na antygeny HWV bez przeciwciał anti-HWV [11].

W eksperymentalnych zakażeniach szympanów [12,13] około miesiąca od infekcji nie wykrywa się zwiększonego wytwarzania IFN-ów typu I, tj α i β i nie ma oznak aktywacji genów komórkowych systemu obrony [13]. Sugerowałoby to późne uruchomienie efektorów odpowiedzi odpornościowej typu wrodzonego. Jednakże w zakażeniach WHV świstaków – już po kilku godzinach ulegają aktywacji komórki NK i K, co częściowo hamuje rozprzestrzeniania się wirusa i zmniejsza wiremie. Okres ten rozciąga się na 4 do 5 tygodni [12,14].

W czasie „zaczysa” dochodzi do logarytmicznego narastania replikacji HBV, z wysokimi wartościami wiremii, 10^9 – 10^{10} kopii HBV/ml, ze szczytem po 8–10 tyg. od zakażenia [12]. Po wroście wiremii, u szympanów wytwarzane są znaczne ilości chemokin – atraktantów typu RANTES, a zwłaszcza CXC [15] rekrutujących komórki zapalne do wątroby uszkadzające miąższ tego narządu. Kiedy TNF-alfa i IFN-gamma osiągają wysokie wartości zmniejsza się wiremia i to jeszcze przed rekrutacją limfocytów T – HBV-swoistych [12,15]. Zmniejszaniu się stężenia HBV DNA nie towarzyszy wzrost aktywności ALT. Pojawia się ona wraz z wykrywalnością aktywowanych komórek T – już w okresie objawów klinicznych [16].

Taki przebieg początków zakażenia jest prawdopodobnie związany z omijaniem przez wirusa elementów wczesnej obrony, jak również pierwotne zakażenie innych układów i narządów (np. szpiku kostnego) lub początkowo mała pula zainfekowanych komórek wątrobowych [17].

HBV jest rozpoznawany przez komórki Browicza-Kupffera, a te przekazują sygnał aktywujący czynnik jądrowy κ B co indukuje syntezę znacznych ilości IL-6 i innych cytokin

prozapalnych (IL-8, TNF, IL-1 β), lecz jeszcze bez indukcji IFN typu I. IL-6 kontroluje transkrypcję genów HBV poprzez kinazy ERK 1/2 (*extracellular signal-regulated kinase 1/2*, ERK1/2) i INK (*c-Jun-N-terminal kinase*) zwrótnie hamujące ekspresję czynnika jądrowego 1-alfa i 4-alfa o własnościach transkrypcyjnych - niezbędnych do ekspresji genów replikacji wirusa [6].

Komórki K i NK

Wczesna aktywacja komórek K i NK – źródła IFN- γ , jest odpowiedzialna na sygnały stresowe [18] przekazywanych przez komórki dendrytyczne [19]. Limfocyty NK rozpoznają (model myszy transgenicznym) antygeny HBV na błonach hepatocytarnych [15,18]. Liczba komórek NK zwiększa się w okresie najwyższej wiremii, 2–4 tygodnie przed pojawieniem się swoistych limfocytów T CD8+ [20]. Komórki NK mają ekspresję Fas-ligandu. Umożliwia to indukcję apoptozy w hepatocytach i uruchomienie granzymowo-perforynowego efektu cytotoksycznego [21]. Komórki napływające do wątroby, bez swoistości dla antygenów HBV – nasilają efektywność komórek NK i NKT [15].

Odpowiedź limfocytów T CD4+ i CD8+

Duże znaczenie w eliminacji wirusa ma ostry okres zakażenia, lecz uruchomienie swoistej, odpowiedzi na antygeny HBV, ma podstawowe znaczenie dla jego dalszych losów [22]. Wyleczenie – to mocna odpowiedź komórek cytotoksycznych na różne epitopy HBV, utrzymująca się przez lata po zahamowaniu replikacji wirusa.

W 5 przypadkach ostrego zapalenia wątroby obserwowanych [23] do 90 dnia po serokonwersji w anti-HBs (biopsje wątroby) nagromadzenie limfocytów T CD8+ (do 20-krotnie więcej aniżeli w krwi obwodowej) w tkance wątrobowej przeważało odsetkowo nad limfocytami T CD4+, korelując ze stopniem uszkodzenia wątroby. W miarę postępowania zdrowienia z serokonwersją do anti-HBs – zmniejszała się liczba limfocytów T CD8+ w krwi, wzrastając ponownie, kiedy dochodziło do reaktywacji zakażenia.

Limfocyty T CD4+ i CD8+ mają w pzwB swoistość anti-HBc, lecz nie anti-HBs [24]. Tak w okresie wiremii, jak i po jej zaniknięciu, do 13 lat wykazywano komórki pamięciowe CD45R0; wskazuje to na ich rolę w korzystnym zejściu infekcji [25]. W 8 przypadkach przeszczepienia szpiku od dawców-ozdrowieńców po wzw B nosicielom tego wirusa [26] u 6 doszło do zaniku HBsAg z serokonwersją w anti-HBs, prawdopodobnie w związku z przeniesieniem komórek pamięciowych CD45R0, swoistych dla HBcAg CD4+T.

W eliminacji HBV mogą także odgrywać rolę przeciwciała neutralizujące przeciwko komponentom otoczki wirusa [27]. Swoistość limfocytów T CD8+ i CD4+ dotyczy w pierwszym rzędzie epitopów rdzenia, choć HBsAg ma także własności immunogenne [24,28]; odrębny temat to odpowiedź na szczepienia anti-HBV [29].

Mechanizmy eliminacji HBV

Udowodniono występowanie dwóch mechanizmów eliminacji HBV: blokowanie replikacji w hepatocytach bez ich destrukcji (model myszy transgenicznym) oraz na drodze efektu cytotoksycznego wywieranego przez limfocyty CD8+T



z nagłą śmiercią komórki [12,22]. Niecytolytycznie usuwają z komórki HBV cytokiny prozapalne, jak TNF, IFN- γ i inne, głównie z makrofagów wątrobowych [12,22]. Ten typ eliminacji jest około 10 do 100-krotnie efektywniejszy w porównaniu z lizą cytotoksyczną [22,30]. Oba mechanizmy występują równolegle [12,17,22]. W kontekście pierwszego z nich używa się nawet określenia – „wyleczenie komórki z zakażenia HBV” [31]. Nie jest to jednak równoznaczne z eradykacją wirusa w zakażeniach przewlekłych.

Wśród komórek T CD4+ w mięszu wątrobowym przeważają Th0, uwalniające IL-4, IL-5 i IFN-gamma. Ulegają one różnicowaniu do Th1 pod wpływem stymulacji przez HBeAg, a do Th2 – przez HBeAg [17], co potwierdza immunotolerancyjne własności tego antygeny. Występuje także krzyżowe rozpoznawanie ww. antygenów. Za niszczenie hepatocytów są również odpowiedzialne komórki zapalne bez swoistości antygenowej, nb. przeważające w nacieku zapalnym [17].

Upośledzenie funkcji limfocytów cytotoksycznych może ulec odbudowie podczas zaostrzenia samoistnego lub wywołanego terapią [32,33].

Różne możliwości upośledzenia odporności komórkowej w przewlekłym zakażeniu HBV

W pzwB występuje hiporeaktywność komórek antygenowo-swoistych dla HBV. Pozwala to na ograniczoną kontrolę replikacji, na tyle nieefektywną, iż nie doprowadza do jego eradykacji [17,34]. Upośledzona reaktywność na HBV może być wywołana nadmiarem jego antygenów. Gdy wiremia osiągnie wartość powyżej 10^7 kopii/ml, ani w wątrobie, ani w krwi obwodowej nie wykrywa się limfocytów CD8+ swoistych dla regionu 18–27 rdzenia HBV [35]. Mogą być także niedostatki kooperacji subpopulacji komórek T CD4+ i CD8+ [36]. U bezobjawowych nosicieli HBV i u zakażonych ze zmianami zapalno-martwiczymi proporcje komórek cytotoksycznych w nacieku są zbliżone [34]. Wykazano odwrotną korelację pomiędzy liczbą i własnościami cytotoksycznymi limfocytów T CD8+ w wątrobie i w krwi krążącej a wartościami HBV DNA [34]. Może to świadczyć nieefektywnych funkcjach tych komórek, tłumieniu ich rekrutacji i wspomnianym nadmiarze antygenów. Limfocyty T CD8+ ulegają w wątrobie preferencyjnej apoptozie [37]. Ponadto, hepatocyty mają małą gęstość cząstek MHC klasy I, niezbędnych do efektu cytotoksyczności, tym bardziej, że w wątrobie potrzebne jest stokrotnie większe stężenie peptydów w komórce prezentującej antygen [17].

Cytotoksyczność hamują mutacje w strukturach przedrdzeniowych HBV, jak i w genie *env*, jako wynik dużego tempa replikacji HB [17]. W pierwotnie przewlekłych zakażeniach HBV u noworodków odgrywa rolę delecja komórek T graszozależnych [22].

Zaostrzenia w przebiegu przewlekłego zakażenia HBV

Zaostrzenia są charakterystyczne dla okresu przed serokonwersją z HBeAg+ w anty-HBe+. Mogą być także skutkiem czynników immunosupresyjnych, powstaniem oporności HBV na leki, jak i odstawienia leczenia analogami nukleoz(t)ydowymi. W okresie zaostrzenia nie zmienia się liczba limfocytów cytotoksycznych, natomiast wzrastają: odsetek limfocytów T CD4+, synteza IFN- γ , aktywność makrofagów i komórek NKT [35,38].

Śmierć komórki w zakażeniu HBV

W ostrej fazie zakażenia rozpad hepatocytów ma różne nasilenie, krańcowo-masywna śmierć komórek doprowadza do nadostrego zapalenia wątroby. Śmierć komórki występuje poprzez apoptozę oraz martwicę, co ma znaczenie dla konsekwencji tego rodzaju zdarzeń. Komórki ginące apoptycznie indukują anergię lub immunosupresję, co ogranicza aktywność zapalną [39]. Hepatocyty są szczególnie wrażliwe na bodźce proapoptyczne [40] a własności indukcji apoptozy mają komórki NK, inne komórki bez swoistości HBV oraz limfocyty T CD8+ [21,41]. Występuje korelacja pomiędzy wskaźnikami apoptozy a wartościami HBV DNA i aktywnością ALT [42].

Z kolei, w martwicy cytotoksycznej zawartość komórki wydostaje się do jej otoczenia wraz z toksycznymi enzymami lizosomalnymi. Własności indukcji martwicy hepatocytów ma TNF, którego receptory (p55 i p75) występują w wzwB ze zwiększoną gęstością na hepatocytach [39].

Śmierć komórki w rezultacie martwicy cytotoksycznej wyzwala do krążenia cząsteczki systemu DAMP (*damage-associated molecular pattern*) – aktywatora wrodzonej odpowiedzi odpornościowej [39].

CccDNA HBV w zakażeniu przewlekłym

U osób HBeAg-dodatnich w porównaniu z HBeAg-ujemnymi, w komórce jest więcej cccDNA HBV. Średnie wartości to ok. 2,5 kopii/hepatocyt *versus* 0,5 kopii [43]. Opisano silną korelację między cccDNA HBV i całkowitym HBV DNA w komórkach wątrobowych oraz HBeAg oraz HBV DNA w surowicy [43]. Są jednak prace o braku tak prostych powiązań [44].

Ani martwica hepatocytów, ani niecytopatyczne eliminowanie HBV nie wykluczają się wzajemnie w eliminacji cccDNA HBV [45]. Do osiągnięcia całkowitej eliminacji cccDNA HBV potrzeba (model teoretyczny) co najmniej jednej lub więcej wymian wszystkich hepatocytów [46]. Z upływem lat może zmniejszać się pula zakażonych hepatocytów podczas podziałów komórek [33]. Ostatecznie, nie tłumaczy to wysokich odsetków minireplikacji HBV.

Preparaty antywirusowe mają różną zdolność supresji cccDNA, lecz żaden z nich – całkowitej eradykacji. W leczeniu PegIFN alfa-2b pacjentów HBeAg-dodatnich w połączeniu z lamiwudyną [47], całkowity HBV DNA w wątrobie zmniejszył się o 2,5 \log_{10} , a cccDNA średnio o 1,2 \log_{10} . Po długotrwałym, 4–5 letnim leczeniu adefowirem [48], pacjentów HBeAg-ujemnych wytwarzanie cccDNA HBV było 38-krotnie mniejsze w porównaniu z nieleczonymi. Entekawir na modelu wirusa DHBV (zakażenie kaczek pekińskich) powodował czterokrotne zmniejszenie liczby cccDNA HBV [49].

Inne aspekty zakażenia przewlekłego (mutacje, dezaminaza cytydyny)

Z upływem lat zakażenia powstają mutanty wirusa, szczególnie w regionie przedrdzeniowym i rdzeniowym, jak np. „e-minus” [50].

Dezaminazy cytydyny APOBEC3 (A3A, A3B i A3G) to rodzina enzymów o własnościach indukowania hipermutacji w genomie wirusów. Kotransfekcja plazmidu z ekspresją A3G hamuje replikację HBV *in vitro* przez przyłączenie

reszt cytydynowych do ujemnej nici HBV DNA i inhibicję aktywności rewertazy [51]. Jest to jeden z najbardziej obiecujących kierunków badań [52] związanych z patogenezą zakażeń wywoływanych przez wirusy powielające swój materiał genetyczny poprzez odwrotną transkrypcję (HBV, HIV).

Komórki dendrytyczne w przewlekłym zakażeniu HBV

Wyniki badań w pzwB są kontrowersyjne. *In vitro* – wyizolowane z krwi obwodowej wykazują opóźnienie prezentacji antygeny [53], co zmniejsza ich efekt immunostymulujący. Natomiast we wcześniejszych badaniach [38] wykazywano zwiększenie aktywności tych komórek, wyrażające się zwiększonym wytwarzaniem IL-12 i syntezą cytokin związanych z subpopulacją limfocytów CD4+Th1 [53]. Nie można wykluczyć bliżej niejasnego mechanizmu interferencji produktów genomu HBV z funkcjami komórek dendrytycznych [53].

Komórki regulacyjneTreg

Komórki Treg (CD4⁺ CD25⁺) hamują aktywność limfocytów CD4⁺ i CD8⁺, co wpływa na rozwój zakażenia przewlekłego [54]. W pzwB stwierdzono powiązanie pomiędzy ciężkością uszkodzenia wątroby a ich zwiększoną aktywnością [55]. Znacząco większy odsetek Treg występuje w krwi obwodowej bezobjawowych nosicieli HBV, natomiast zmniejsza się w okresie zaostrzenia [56]. Na aktywność komórek Treg ma wpływ białko stresu cieplnego HSP 60 wyzwalane w odpowiedzi na śmierć komórki [57], jak i leczenie IFN-alfa [58]: u pacjentów nieodpowiadających wzrasta odsetek komórek Treg wraz ze zmniejszeniem o blisko 80% odpowiedzi proliferacyjnej limfocytów Th w porównaniu z odpowiadającymi na terapię. Długotrwałe leczenie adefowirem lub entekawirem z serokonwersją w anty-HBe zmniejsza odsetek komórek Treg [59].

Terapeutyczne obniżanie wiremii obok zmniejszania liczby komórek Treg [59,60] poprawia efektywność limfocytów CD8+T [33] i komórek dendrytycznych mieloidalnej linii komórek dendrytycznych [61].

Fazy zakażenia HBV

Wyodrębnia się trzy lub cztery fazy zakażenia (jeśli wliczy się okresy reaktywacji i zaostrzenia zakażenia w okresie bezobjawowego nosicielstwa), związane z relacjami pomiędzy układem odpornościowym a wirusem [62–65].

W fazie pierwszej, immunotolerancji, w surowicy wykrywa się HBeAg, wysokie wartości HBV-DNA, powyżej 10⁶–10⁷ IU/ml i niskie lub w normie aktywności ALT [64,65]. Jako przyczynę fazy immunotolerancji w zakażeniach perinatalnych uważa się przechodzenie do krążenia płodu matczynego HBeAg powodującego indukcję limfocytów Th hamujących odpowiedź odpornościową [66]. Zmiany zapalne w biopsjach wątrobowych są niewielkie lub może ich w ogóle nie być. U zakażonych w późnym dzieciństwie i u dorosłych okres ten może trwać krótko.

Utrata tolerancji immunologicznej w drugiej fazie zakażenia nie jest wyjaśniona. Jako powody podkreśla się zmianę ekspresji HBcAg w hepatocytach z jądrowej na cytoplazmatyczną i narastającą mutagenność w regionie przedrdzeniowym [67]. HBeAg jest dodatni z wysokimi, często zmiennymi

wartościami HBV-DNA w surowicy [63] i okresowo podwyższone aktywności ALT, a w tkance wątrobowej nasilone zmiany martwiczo-zapalne [68,69]. Zmniejsza się okresowo stężenie HBV-DNA, może dojść do zaniku HBeAg i syntetyz anty-HBe [70].

U ok. 1–4% pacjentów dochodzi do reserokonwersji z zanikiem anty-HBe i pojawieniem się HBeAg [62]. Nadmierna eliminacja zakażonych hepatocytów może doprowadzić do dekompensacji funkcji wątroby [70]. Im częstsze są okresy zaostrzeń, tym bardziej nasilają się wtórne procesy włóknienia wątrobowego, rośnie ryzyko rozwoju marskości i raka wątrobowokomórkowego, szczególnie u mężczyzn [71,72]. Samoistna serokonwersja w anty-HBe występuje w 2–15%, częściej u osób starszych, z podwyższoną aktywnością ALT, zakażonych genotypem A i B [73,74].

Faza trzecia to nieaktywne nosicielstwo HBsAg. Obecne są anty-HBe, liczba kopii HBV-DNA jest na ogół <10⁵ IU/mL, a aktywność ALT jest w normie lub nieznacznie podwyższona [75]. Zmiany histopatologiczne zależą od częstości i „głębokości” uszkodzenia hepatocytów w okresie poprzednim; stąd możliwość różnie nasilonego włóknienia lub mało aktywnej marskości, lecz u znacznej części chorych zapalenie, jak i włóknienie są minimalne [75]. Istnieje ryzyko [62] rozwoju marskości (oceniane na 8%) i raka wątrobowo-komórkowego (na 2%).

Możliwa jest reaktywacja zakażenia, co określa się jako fazę czwartą [76], występującą maksymalnie u ok. 25% osób/rok [73,77,78]. U ok. 0,5% może dochodzić do niewydolności wątroby [79]. Zaostrzenie charakteryzuje: dodatnie anty-HBe, wykrywalny HBV-DNA (czasami – rzadko – powyżej 10⁶⁻⁹ IU/mL), zwiększona aktywność ALT oraz wątrobowe zmiany martwiczo-zapalne [80]. Okresy zaostrzeń są przeplatane „wstawkami” remisji, co jest najważniejszą cechą tej fazy zakażenia [63].

Wyrazem uzyskania immunologicznej kontroli nad wirusem jest serokonwersja w anty-HBs, co dotyczy od ok. 0,5% pacjentów/rok [63], do 2,1%/rok [81]. Wyższy odsetek dotyczy obserwacji prowadzonych przez średnio 23 lata.

Zakażenie utajone

Utajone zakażenie HBV to wykrywanie w surowicy i lub tylko w wątrobie HBV DNA bez obecności HBsAg (w ok. 20% przypadków), lub z dodatnimi wynikami w kierunku markerów zakażenia wirusem B zapalenia wątroby po ekspozycji na HBV [82,83]. Ta forma zakażenia HBV stwarza potencjalne ryzyko pogorszenia funkcji wątroby, aż do dekompensacji zakażenia na skutek wznowy nasilonej replikacji na matrycy cccDNA HBV pod wpływem czynników immunosupresorowych [84]. W zakażeniu utajonym występuje silna odpowiedź typu komórkowego; jej wyrazem jest obecność w surowicy przeciwciał anty-HBc [12,22]. W Polsce u pierwszorazowych krwiodawców, wykrywano HBV DNA w proporcji 1:11 900 (0,008%) z wartością HBV DNA od, średnio, 11,6 do 4,6×10⁴ [85].

U zakażonych latentnie wyodrębniono [83] dwa profile odpowiedzi limfocytów T u osób z dodatnimi lub ujemnymi anty-HBc. Pierwszy, to obecność limfocytów swoistych dla anty-HBc T CD4+, także u pacjentów bez przeciwciał anty-HBc, a drugi – przewaga pamięciowych limfocytów T swoistych



dla HBcAg u osób anty-HBc-dodatnich, zarówno z wykrywalnym, jak i niewykrywalnym w wątrobie HBV DNA. Sugeruje to różne mechanizmy kontroli replikacji HBV u osób anty-HBc seropozytywnych i seronegatywnych.

Zakończenie

Zakażenie HBV jest procesem bardzo złożonym, w którym odgrywają rolę zarówno dość unikalne własności wirusa, jak i cechy osobnicze. Poznanie patogenety tej infekcji jest podstawą do formułowania nowych propozycji terapeutycznych.

Piśmiennictwo:

1. Lavanchy D: Hepatitis B virus epidemiology, disease burden, treatment, and current and emerging prevention and control. *J Viral Hepatol*, 2004; 11: 97–107
2. Kann M, Gerlich WH: Replication of hepatitis B virus, w: *The molecular medicine of hepatitis*. TJ Harrison, i Zuckerman A (red.), John Wiley&Sons, New York, 1997; 63–77
3. Ratnam D, Visvanathan K, Sievert W: TLR agonist induced IFN- γ responses by NK and NKT cells in chronic Hepatitis B infection. *Hepatology*, 2009; 50(Suppl.): Abstr 1452
4. Beutler B, Hoebe K, Du X i wsp.: How we detect microbes and respond to them: the Toll-like receptors and their transducers. *J Leukoc Biol*, 2003; 74: 479–85
5. Doherty DG, O'Farrelly C: Innate and adaptive lymphoid cells In the human liver. *Immunol Rev*, 2000; 174: 5–20
6. Zhang Y, Lian JQ, Huang CX i wsp.: Circulating Toll-like receptor (TLR) 2, TLR4 and CD4+CD25+CD127low/- regulatory cells correlates with hepatitis B virus infection. *Hepatology Internat*, 2009; 3: 111, Abstr PE101
7. Visvanathan K, Skinner N, Thompson AJ i wsp.: Rapid improvement of innate immune responses and monocyte toll-like receptor-2 (TLR2) expression during lamivudine therapy for chronic hepatitis B (CHB). *Hepatology*, 2006; 44(Suppl.1): 537A, Abstr 940
8. Zou ZS, Zhang Z, Li BS i wsp.: Dendritic cell abnormality actively involved in the pathogenesis of acute-on-chronic hepatitis B liver failure. *Hepatology Internat*, 2009; 3: 92, Abstr PE022
9. Sheng H, Xie S, An BY i wsp.: TLR9 expression and functional impairment of plasmacytoid dendritic cells in patients with chronic hepatitis B. *Hepatology*, 2006; 44(Suppl.1): 537A, Abstr 942
10. Waltman A, Biesta P, Op den Brouw ML, Janssen HL: Hepatitis B virus lacks immune activating capacity, but actively inhibits plasmacytoid dendritic cell function via interference with mTOR- induced IFN α production. *Hepatology* 2009; 50(Suppl.), 355A, Abstr. 111
11. Gujar SA, Michalak TI: Primary occult hepadnavirus infection induces both virus-specific and generalized T cell responses in the absence of virus-specific humoral immunity. *Hepatology*, 2006; 44(Suppl.1): 536A, Abstr 938
12. Guidotti LG, Rochford R, Chung J i wsp.: Viral clearance without destruction of infected cells during acute HBV infection. *Science*, 1999; 284: 825–29
13. Wieland SF, Spangenberg HC, Thimme R i wsp.: Expansion and contraction of the hepatitis B virus transcriptional template in infected chimpanzees. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004; 101: 2129–34
14. Hodgson PD, Michalak TI: Augmented hepatic interferon gamma expression and T-cell influx characterize acute hepatitis progressing to recovery and residual lifelong virus persistence in experimental adult woodchuck hepatitis virus infection. *Hepatology*, 2001; 34: 1049–59
15. Kakimi K, Lane TE, Wieland S i wsp.: Blocking chemokine responsive to gamma-2/interferon (IFN)-gamma inducible protein and monokine induced by IFN-gamma activity *in vivo* reduces the pathogenic but not the antiviral potential of hepatitis B virus-specific cytotoxic T lymphocytes. *J Exp Med*, 2001; 194: 1755–66
16. Morita M, Watanabe Y, Akaike T: Protective effect of hepatocyte growth factor on interferon-gamma -induced cytotoxicity in mouse hepatocytes. *Hepatology* 1995; 21: 1585–93
17. Bertoletti A, Kennedy P, Gehring AJ: Role of the immune response in hepatitis B, W: *Liver immunology: principles and practice*, Gershwin ME, Vierling JM, Manns P (red.), Humana Press Inc., Totowa, NJ, 2007; 179–91
18. Baron JL, Gardiner L, Nishimura S i wsp.: Activation of a nonclassical NKT cell subset in a transgenic mouse model of hepatitis B virus infection. *Immunity*, 2002; 16: 583–94
19. Trobonjaca Z, Leithauser F, Moller P i wsp.: Activating immunity in the liver. I. Liver dendritic cells (but not hepatocytes) are potent activators of IFN-gamma release by liver NKT cells. *J Immunol*, 2001; 167: 1413–22
20. Webster G, Reignat S, Maini M i wsp.: Incubation phase of acute hepatitis B in man: dynamic of cellular immune mechanism. *Hepatology*, 2000; 32: 1117–24
21. Kondo T, Suda T, Fukuyama H i wsp.: Essential roles of the Fas ligand in the development of hepatitis. *Nat Med*, 1997; 3: 387–88
22. Chisari FV, Ferrari C: Hepatitis B virus immunopathology. *Springer Semin Immunopathol* 1995; 17: 261–81
23. Sprengers D, van der Molen RG, Kusters JG i wsp.: Analysis of intrahepatic HBV-specific cytotoxic T-cells during and after acute HBV infection in humans. *J Hepatol*, 2006; 45: 182–89
24. Ferrari C, Penna A, Bertoletti A i wsp.: Cellular immune response to hepatitis B virus encoded antigens in acute and chronic hepatitis B virus infection. *J Immunol*, 1990: 145: 3442–49
25. Penna A, Artini M, Cavalli A i wsp.: Long-lasting memory T-cell responses following self-limited acute hepatitis B. *J Clin Invest*, 1996; 98: 1185–94
26. Lau GKK, Liang R, Chiu EKW i wsp.: Hepatic events after bone marrow transplantation in patients with hepatitis B infection: a case controlled study. *Bone Marrow Transplant*, 1997; 19: 795–99
27. Alberti A, Diana S, Sculard GH i wsp.: Detecion of a new antibody system reacting with Dane particles in hepatitis B virus infection. *Brit Med J*, 1978: 1056–58
28. Lok SF, McMahon BJ: Chronic hepatitis B: update 2009. *Hepatology*, 2009; 50: 1–36
29. Bocher W, Herzog-Hauff S, Schlaak J i wsp.: Kinetics of hepatitis B surface antigen specific immune responses in acute and chronic hepatitis B or after HBs vaccination: stimulation of the *in vitro* antibody response by interferon gamma. *Hepatology*, 1998; 29: 238–44
30. Guidotti LG, Ishikawa T, Hobbs MV i wsp.: Intracellular inactivation of the hepatitis B virus by cytotoxic T lymphocytes. *Immunity*, 1996; 4: 25–36
31. Mason W, Litwin S, Summers J, Jilbert AR: The importance of cell death in recovery from hepatitis hepadnavirus infections, w: *Framing the knowledge of therapeutics for viral hepatitis*, RF Schinazi RF, Schiff ER (red.), IHK Press, College Park GA, 2006; 79–96
32. Molen [van der] RG, Sprengers D, Biesta PJ: Adefovir treatment of chronic hepatitis B patients recovers circulating numbers and function of myeloid dendritic cells. *Hepatology*, 2005; 42(Suppl.1): 707A
33. Boni C, Penna A, Ogg GS i wsp.: Lamivudine treatment can overcome cytotoxic T-cell hyporesponsiveness in chronic hepatitis B: new perspectives for immune therapy. *Hepatology*, 2001; 33: 963–71
34. Shimada N, Yamamoto K, Kuroda Mj i wsp.: HBcAg-specific CD8T cells play an important role in virus supression, and acute flare-up is associated with expansion of activated memory T cells. *J Clin Immunol*, 2003; 23: 223–32
35. Webster GJ, Reignat S, Brown D i wsp: Longitudinal analysis of CD8+ T cells specific for structural and nonstructural hepatitis B virus proteins in patients with chronic hepatitis B: implications for immunotherapy. *J Virol*, 2004; 78: 5707–19
36. Urbani S, Boni C, Amadei B: Acute phase HBV-specific T cell responses associated with HBV persistence after HBV/HCV coinfection. *Hepatology*, 2005; 41: 826–31
37. Crispe IN, Dao T, Klugewitz K i wsp.: The liver as a site of T-cell apoptosis: graveyard, or killing field? *Immunol Rev*, 2000; 174: 47–62
38. Rossol S, Marinos G, Carucci P i wsp.: Interleukin-12 induction of Th1 cytokines is important for viral clearance in chronic hepatitis B. *J Clin Invest*, 1997; 99: 3025–33
39. Hotchkiss RS, Strasser A, Mc Dunn JE, Swanson PE: Cell death. *New Engl J Med*, 2009; 361: 1570–83
40. Strasser A: The role of BH3-only proteins in the immune system. *Nat Rev Immunol*, 2005; 5: 189–200

41. Ando K, Guidotti LG, Cerny A i wsp.: CTL access to tissue antigen is restricted *in vivo*. *J Immunol*, 1994; 153: 482–88
42. Farnik H, Hofmann W, Lange CM: Apoptotic activity during treatment of patients with chronic hepatitis B. *Hepatology*, 2009; 50(Suppl.): Abstr 401
43. Takkenberg B, Zaaijer H, Weegink C i wsp.: Baseline HBsAg level predict HBsAg loss in chronic hepatitis B patients treated with a combination of peginterferon alfa-2a and adefovir: an interim analysis. *J Hepatol*, 2009; 50(Suppl.1): Abstract 15
44. Manesis EK, Papatheodoridis GV, Tiniakos D: Serum HBsAg levels reflect intracellular HBsAg, but not cccDNA or total liver HBV DNA in patients with HBeAg-negative chronic hepatitis B. *Hepatology*, 2009; 50(Suppl.): Abstract 1446
45. Summers J, Mason WC: Replication of the genome of a hepatitis B-like virus by reverse transcription of an RNA intermediate. *Cell*, 1982; 29: 403–15
46. Mason WS, Litwin S, Xu C, Jibert AR: Hepatocyte turnover in transient and chronic hepatitis B virus infections. *J Viral Hepat*, 2007; 14(Suppl.1): 22–28
47. Chan HY, Wong VWS, Chim AML i wsp.: A study of serum and intrahepatic HBV DNA on different combination treatment regimes of peginterferon alpha-2b and lamivudine for chronic hepatitis B. *Hepatology*, 2006; 44(Suppl.1): 554A, Abstr 983
48. Hadziyannis SJ, Laras A, Costamena A i wsp: HBV cccDNA, pregenomic RNA and total HBV DNA levels in the liver of chronic hepatitis B patients 4–5 years from start of effective long term adefovir dipivoxil treatment. *Hepatology*, 2006; 44(Suppl.1): 552A, Abstr 977
49. Marion PL, Salazar FH, Winters MA, Colonno RJ: Potent efficacy of entecavir (BMS-200475) in a duck model of hepatitis B virus replication. *Antimicrob Agents Chemother*, 2002; 46: 82–88
50. Akahane Y, Yamanaka, Suzuki H i wsp.: Chronic active hepatitis with hepatitis B virus DNA and antibody against e antigen in the serum. Disturbed synthesis and secretion of e antigen from hepatocytes due to point mutation in the precore region. *Gastroenterology*, 1990; 99: 1113–20
51. Bonvin M, Greeve J: Hepatitis B: modern concepts in pathogenesis – APOBEC3 cytidine desaminases as effectors in innate immunity against the hepatitis B virus. *Cur Opin Infect Dis*, 2008; 21: 298–303
52. Bonvin M, Achermann F, Greeve J i wsp.: Interferon-inducible expression of APOBEC3 editing enzymes in human hepatocytes and inhibition of hepatitis B virus replication. *Hepatology*, 2006; 43: 1364–74
53. Op den Brouw ML, Van Roosmalen MH, Kusters JG: Functional impairment of mDC in chronic HBV patients: the role of HBV proteins. *Hepatology*, 2005; 42(Suppl.1): 712A
54. O'Garra A, Vieira P i wsp.: IL-10-producing and naturally occurring CD4+ Tregs: limiting collateral damage. *J Clin Invest*, 2004; 114: 1372–78
55. Choileain NN, MacCommara M, Zhang Y i wsp.: Enhanced regulatory T cell activity is an element of the host response to injury. *J Immunol*, 2006; 176: 225–36
56. Xing T, Li L, Cao H i wsp.: Role of CD4+CD25+ regulatory T cells in the pathogenesis of spontaneous hepatitis flare of chronic hepatitis B virus infection. *Hepatology*, 2006; 44(Suppl.1): 544A, Abstr 957
57. Kondo Y, Ueno Y, Ninomiya M: Stress – related proteins derived from HBV – infected – hepatocytes enhance the secretory functions of regulatory T cells. *Hepatology*, 2009; 50(Suppl.): Abstr 1451
58. Sprengers D, Stoop JN, Binda RS i wsp.: Induction of CD4+ CD25+ regulatory T-cells is associated with non-response to pegylated interferon therapy for chronic hepatitis B virus infection. *Hepatology*, 2006; 44(Suppl.1): 559A, Abstr 996
59. Hui CK, Cheung WW, Zhang HY i wsp.: Kinetics and risk of de novo hepatitis B infection in HBsAg-negative patients undergoing cytotoxic therapy. *Gastroenterology*, 2006; 131: 59–68
60. Stoop JN, van der Molen RG, Baan CC i wsp: Regulatory T cells contribute to the impaired immune response in patients with chronic hepatitis B virus infection. *Hepatology*, 2005; 41: 771–78
61. Molen [van der] RG, Sprengers D, Binda RS i wsp: Functional impairment of myeloid and plasmacytoid dendritic cells of chronic hepatitis B patients. *Hepatology*, 2004; 40: 738–46
62. Hsu YS, Chien RN, Yeh CT i wsp.: Long-term outcome after spontaneous HBeAg seroconversion in patients with chronic hepatitis B. *Hepatology*, 2002; 35: 1522–27
63. Yim HJ, AS-F Lok: Natural history of chronic hepatitis B virus infection: what we knew in 1981 and what we know in 2005. *Hepatology*, 2006; 43: S173–81
64. Lai CL, Yuen MF: The natural history of chronic hepatitis B. *J Viral Hepat*, 2007; 14(Suppl.): 6–10
65. Liaw YF, Chu C-M: Hepatitis B virus infection. *Lancet*, 2009; 373: 582–92
66. Milich D, Jones J, Hughes J i wsp.: Is a function of the secreted hepatitis B e antigen to induce immunotolerance *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1990; 87: 6599–603
67. Chu CJ, Keeffe FB, Han SH: Prevalence of HBV precore/core promoter variants in the United States. *Hepatology*, 2003; 38: 619–28
68. Chu CM, Liaw YF: Intrahepatic distribution of hepatitis B surface and core antigens in chronic hepatitis B virus infection. Hepatocyte with cytoplasmic/membranous hepatitis B core antigen as a possible target for immune hepatocytolysis. *Gastroenterology*, 1987; 92: 220–25
69. Tsai SL, Chen PJ, Lai MY i wsp.: Acute exacerbations of chronic type B hepatitis are accompanied by increased T-cell response to hepatitis B core and e antigens. Implications for hepatitis B e antigen seroconversion. *J Clin Invest*, 1992; 89: 87–96
70. Liaw YF, Chu CM, Su JJ i wsp.: Clinical and histological events preceding hepatitis B e antigen seroconversion in chronic type B hepatitis. *Gastroenterology*, 1983; 84: 216–19
71. McMahon BJ, Holck P, Bulkow L i wsp: Serologic and clinical outcomes of 1536 Alaska Natives chronically infected with hepatitis B virus. *Ann Intern Med*, 2001; 135: 759–68
72. Liaw YF, Tai DI, Chu CM, Chen TJ: The development of cirrhosis in patients with chronic type B hepatitis: a prospective study. *Hepatology*, 1988; 8: 493–96
73. Liaw YF: Hepatitis flares and hepatitis B e antigen seroconversion: implication in anti-hepatitis B virus therapy. *J Gastroenterol Hepatol*, 2003; 18: 246–52
74. Kao JH: Role of viral factors in the natural course and therapy of chronic hepatitis B. *Hepatol Int* 2007; 1: 415–30
75. Manno M, Camma M, Schepis F i wsp: Natural history of chronic HBV carriers in northern Italy: morbidity and mortality after 30 years. *Gastroenterology*, 2004; 127: 756–76
76. Lok AS, Lai CL, Wu PC i wsp: Spontaneous hepatitis B e antigen to antibody seroconversion and reversion in Chinese patients with chronic hepatitis B virus infection. *Gastroenterology*, 1987; 92: 1839–43
77. Papatheodoridis GV, Manesis E, Hadziyannis SJ: The long-term outcome of interferon-alpha treated and untreated patients with HBeAg-negative chronic hepatitis B. *J Hepatol*, 2001; 34: 306–13
78. Yuen MF, Yuan HJ, Wong DK i wsp.: Prognostic determinants for chronic hepatitis B in Asians: therapeutic implications. *Gut*, 2005; 54: 1610–61
79. Chu CM, Liaw YF: Genotype hepatitis B virus infection is associated with a higher risk of reactivation of hepatitis B and progression to cirrhosis than genotype B: a longitudinal study of hepatitis B e antigen-positive patients with normal aminotransferase levels at baseline. *J Hepatol*, 2005; 43: 411–17
80. Hadziyannis SJ, Vassilopoulos D: Hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B. *Hepatology*, 2001; 34: 617–24
81. Fattovich G, Olivari N, Pasino M i wsp.: Long-term outcome of chronic hepatitis B in Caucasian patients: mortality after 25 years. *Gut*, 2008; 57: 84–90
82. Craxi A, Yurdaydm C: From viral pathobiology to the treatment of hepatitis B virus infection. EASL monothematic conference (Istanbul, Turkey, October 6–8, 2005). *J Hepatol*, 2006; 44: 1186–95
83. Zerbini A, Pilli M, Boni C i wsp.: The characteristics of the cell-mediated immune response identify different profiles of occult hepatitis B virus infection. *Gastroenterology*, 2008; 134: 1470–81
84. Rehermann B, Ferrari C, Pasquinelli C, Chisari FV: The hepatitis B virus persists for decades after patients' recovery from acute maintenance of a cytotoxic T-lymphocyte response. *Nat Med*, 1996; 2: 1104–8
85. Brojer E, Grabarczyk P, Liszewski G i wsp.: Characterization of HBV DNA+/HBsAg- blood donors in Poland identified by triplex NAT. *Hepatology*, 2006; 44: 1666–74

