

# Czy istnieje związek między allelami HLA B a przebiegiem zakażenia wirusem zapalenia wątroby typu C u dzieci i młodzieży oraz skutecznością jego leczenia?

Does a relationship of HLA B alleles with course of hepatitis C virus infection in children and youth and efficacy of its treatment exist?

Ewa Łoś-Rycharska<sup>1</sup>, Mieczysława Czerwionka-Szaflarska<sup>1</sup>, Anna Szaflarska-Popławska<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Katedra i Klinika Pediatrii, Alergologii i Gastroenterologii Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu

<sup>2</sup>Zakład Endoskopii i Badań Czynnościowych Przewodu Pokarmowego Wieku Rozwojowego Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu

Przegląd Gastroenterologiczny 2011; 6 (3): 160–169

DOI: 10.5114/pg.2011.22801

**Słowa kluczowe:** HLA B, HCV, dzieci, młodzież, terapia antywirusowa.

**Key words:** HLA B, HCV, children, youth, antiviral therapy.

**Adres do korespondencji:** dr n. med. Ewa Łoś-Rycharska, Katedra i Klinika Pediatrii, Alergologii i Gastroenterologii, Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera, ul. Skłodowskiej-Curie 9, 85-659 Bydgoszcz, tel. +48 52 585 48 50, faks +48 52 585 40 86, e-mail: klped@cm.umk.pl

## Streszczenie

**Wstęp:** Przebieg zakażenia wirusem zapalenia wątroby typu C (HCV) i rokowanie co do jego leczenia zależy nie tylko od czynników wirusowych (np. genotyp), ale także od czynników leżących po stronie gospodarza, takich jak jego uwarunkowania genetyczne. Szczególną rolę przypisuje się układowi genów dla antygenów zgodności tkankowej.

**Cel:** Ocena związku alleli HLA B z aktywnością aminotransferazy alaninowej (ALT) jako wykładnikiem przebiegu zakażenia HCV, a także próba oceny związku skuteczności leczenia przeciwwirusowego z tymi allelami.

**Materiał i metody:** Badaniem objęto 61 osób z przewlekłym wirusowym zapaleniem wątroby typu C w wieku 5–18 lat, w tym 51 leczonych (42 interferonem  $\alpha$  i rybawiryną) i 10 nieleczonych. Wśród pacjentów, którzy przebyli terapię przeciwwirusową, 31 nie odpowiedziało na leczenie, a u 20 uzyskano trwałą eliminację wirusa. U wszystkich chorych przeprowadzono typowanie HLA (technika genetyczna PCR-SSP na poziomie niskiej, a następnie wysokiej rozdzielczości). Porównywano częstość występowania poszczególnych alleli między pacjentami z prawidłową oraz podwyższoną aktywnością ALT, a także między pacjentami w różny sposób odpowiadającymi na leczenie.

**Wyniki:** Analizując wpływ alleli HLA na aktywność ALT w przebiegu zakażenia HCV, nie stwierdzono istotnych zależności. Analizując wczesną i trwałą odpowiedź wirusologiczną oraz biochemiczną na leczenie w aspekcie rozkła-

## Abstract

**Introduction:** The course of HCV infection and prognosis for its treatment depend not only on virus factors (e.g. genotype) but also of host lying, as genetic conditions. A particular role is attributed to major histocompatibility complex genes.

**Aim:** To estimate the relationship of HLA B alleles with alanine transferase activity (ALT) as expression of the course of infection and attempt to estimate the relationship of the alleles with efficiency of antiviral treatment.

**Material and methods:** The study included 61 patients with persistent viral hepatitis type C, aged 5-18 years, 51 treated (42 with interferon and ribavirin) and 10 not treated. Among treated patients, 31 did not respond and in 20 a sustained virological response was obtained. In all patients HLA typing was performed (HLA PCR-SSP method, low and next high resolutions). Frequency of particular HLA B alleles was compared among groups of patients (with correct and increased ALT activity, responders and non-responders for antiviral treatment).

**Results:** In the analysis of the influence of HLA B alleles on ALT activity in the course of HCV infection a significant dependence was not ascertained. Analysing early and sustained response to antiviral treatment significant dependence was not ascertained either.

**Conclusions:** The results do not confirm associations between HLA B alleles and ALT activity in the course of HCV infection nor between these alleles and efficiency of anti-

du alleli HLA B, także nie odnotowano statystycznie istotnych zależności.

**Wnioski:** Uzyskane wyniki nie pozwalają na potwierdzenie związku poszczególnych alleli HLA B z aktywnością ALT w przebiegu zakażenia HCV i ze skutecznością leczenia tego zakażenia. Ze względu na mnogość znanych alleli HLA B\* wobec pojawiających się nieznacznych różnic konieczne jest przeprowadzenie badań w większej grupie pacjentów.

## Wstęp

Zakażenie wirusem zapalenia wątroby typu C (*hepatitis C virus* – HCV) jest wciąż znaczącym problemem medycznym. Pomimo prowadzonych od lat badań nie udało się opracować szczepionki zapobiegającej zakażeniom. Nie ma też leków, które gwarantowałyby wszystkim pacjentom skuteczną terapię. Nie u wszystkich osób zakażonych HCV dochodzi do przewlekłego zapalenia i włóknienia wątroby czy nowotworzenia w konsekwencji zakażenia. Przebieg zakażenia i rokowanie co do leczenia zależy od wielu czynników leżących zarówno po stronie wirusa, np. jego genotyp, jak i po stronie gospodarza. Za wpływające na przebieg zakażenia uważa się m.in. cechy genetyczne pacjenta, szczególnie układ genów dla antygenów zgodności tkankowej – główny układ zgodności tkankowej (*major histocompatibility complex* – MHC), ludzkie antygeny leukocytarne (*human leucocyte antigens* – HLA) [1–7]. Skuteczność podejmowanej terapii także być może ma związek z układem genów dla HLA [8–10].

W wielu badaniach brano pod uwagę antygeny zgodności tkankowej klasy I [1, 8, 11–13] i II [1, 14] jako mające wpływ na podatność na zakażenie [1, 11, 13], prawdopodobieństwo jego przejścia w stan przewlekły [2–4, 7, 14, 15], progresję i dynamikę uszkodzenia wątroby [5, 6, 12, 13], występowanie powikłań pozawątrobowych [16], a także skuteczność terapii [8–10, 17]. Takie związki potwierdzono w wielu badaniach [1–11, 13–15, 17]. Wykazano nawet powiązania układu HLA z ryzykiem transmisji wertykalnej wirusa [18]. Niemniej jednak ze względu na znaczną liczbę znanych alleli HLA, trudno jest jednoznacznie wskazać te o niewątpliwie ochronnym znaczeniu lub te, których obecność bezwzględnie pogarsza rokowanie odnośnie do przebiegu zakażenia HCV i skuteczności leczenia. Wśród czynników, które prawdopodobnie wpływają na opisywane korelacje alleli HLA B z przebiegiem zakażenia HCV czy też z efektywnością stosowanej terapii przeciw-wirusowej, wymienia się: obszar geograficzny, z którego wywodzą się pacjenci (odmienny skład rasowy różnych społeczeństw i różne determinanty genetyczne u osób różnych ras, odmienność występujących w różnych rejonach świata odmian genetycznych wirusa), w mniejszym stopniu płeć czy wiek pacjentów [3, 9, 17]. Za czynnik

ral treatment. Due to the fact that multiplicity of HLA B alleles exists, considering some indispensable insignificant differences, it is necessary to perform a study on a larger group of patients.

wpływający najsilniej na wyniki badań dotyczących zależności między układem HLA gospodarza a przebiegiem zakażenia HCV uważa się genotyp wirusa [2, 3, 11].

## Cel

Celem niniejszych badań była ocena związku alleli HLA B z aktywnością aminotransferazy alaninowej (ALT) jako wykładnikiem przebiegu zakażenia HCV oraz ze skutecznością leczenia przeciwwirusowego.

## Materiał i metody

Badaniem objęto 61 osób, w tym 51 leczonych z powodu zakażenia HCV (w latach 1994–2006) i 10 nieleczonych (do momentu przeprowadzania niniejszego badania do takiego leczenia się nie kwalifikowali). W grupie pacjentów leczonych 9 podano tylko interferon  $\alpha$  w latach 90. ubiegłego wieku, a 42 interferon  $\alpha$  i rybawiryne (w jednym przypadku terapia pegylowanym interferonem i rybawiryne), w tym u 36 pacjentów była to pierwsza terapia, a u 6 ponowna. Czas, który upłynął od zakończenia leczenia, wynosił średnio 3,29 roku (zakres od pół roku do 10 lat), u 18 pacjentów (35,29%) był krótszy niż 2 lata, a u 33 (64,71%) – dłuższy. Zasady kwalifikacji do terapii były zgodne z obowiązującymi wytycznymi i obejmowały: utrzymywanie się wiremii przynajmniej przez 6 mies., zwiększenie aktywności ALT co najmniej 1,5 raza ponad normę, zmiany zapalne w badaniu histopatologicznym bioptatu wątroby oraz brak przeciwwskazań do leczenia.

Średnia wieku wszystkich badanych wynosiła 13,77 roku (zakres 5–18 lat), leczonych – 13,37 roku (zakres 5–18 lat). Większość stanowili chłopcy (36 pacjentów – 59,02%), mniejszość – dziewczęta (25, 40,98%), podobnie jak w grupie pacjentów leczonych (odpowiednio chłopcy – 28, tj. 54,90%, dziewczęta – 23, tj. 45,10%).

U 54 pacjentów oznaczono genotyp HCV (w pozostałej grupie wyniki tego badania nie były dostępne lub go nie wykonywano – dotyczy to zwłaszcza osób leczonych najwcześniej i wg starych zasad, które wyeliminowały wirus). Przeważał genotyp 1 (ponad 81%). Rozkład genotypów przedstawiono w tabeli I.

Pacjentów podzielono na grupy w zależności od rodzaju odpowiedzi wirusologicznej, jaką uzyskano

**Tabela I.** Genotypy HCV wśród badanych pacjentów**Table I.** HCV genotype in examined patients

Genotyp	Wszyscy pacjenci	Nieleczeni	Leczeni	Nieodpowiadający	Trwała odpowiedź	Łącznie
1	15	7	8	7	1	genotyp 1 44 (81,48%)
1a/1b	1	0	1	0	1	
1a	17	2	15	11	4	
1b	11	0	11	7	4	
3	1	0	1	0	1	inne genotypy 10 (18,52%)
3a	2	0	2	2	0	
4	2	0	2	2	0	
4c/4d	5	0	5	2	3	

w efekcie leczenia. Pierwszą grupę stanowiły osoby, u których nie uzyskano trwałej odpowiedzi na terapię (31 osób – 60,78% leczonych), natomiast drugą – pacjenci, którzy w wyniku leczenia uzyskali trwałą odpowiedź wirusologiczną (20 pacjentów – 39,22% leczonych). W pierwszej grupie u 5 pacjentów uzyskano początkowo odpowiedź wirusologiczną (redukcja poziomu wirerii lub ujemny wynik HCV-RNA w trakcie leczenia i bezpośrednio po terapii), która jednak nie była trwałą. W drugiej grupie 2 pacjentów wyeliminowało wirus dopiero po zakończeniu terapii.

Pacjentów podzielono także w zależności od rodzaju odpowiedzi biochemicznej po leczeniu na grupę z wczesną (bezpośrednio po terapii) oraz trwałą (w momencie wykonywania niniejszych badań) odpowiedzią biochemiczną. Za dobrą odpowiedź przyjęto unormowanie się aktywności ALAT ( $\leq 40$  U/l). Pełna informacja o wynikach badań biochemicznych nie była dostępna u części pacjentów. Liczebność grup o różnej odpowiedzi biochemicznej przedstawiono w tabeli II.

Na badania uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu przy *Collegium Medicum* im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy. W przypadku dzieci z przewlekłym wirusowym zapaleniem wątroby typu C badania rozpoczęto po uzyskaniu zgody rodziców lub opiekunów, a powyżej 12. roku życia – także ich samych. W czasie kontrolnej wizyty w Poradni Przyklinicznej, podczas pobierania krwi w celu wykonania rutynowych badań laboratoryjnych pobierano dodatkowo 4 ml krwi do oznaczenia układu HLA. Typowanie HLA wykonywano techniką genetyczną PCR-SSP przy

**Tabela II.** Odpowiedź biochemiczna**Table II.** Biochemical response

Odpowiedź biochemiczna	Dobra	Zła
wczesna (n)	27	11
trwała (n)	34	16

n – liczba

użyciu testów Olerup na poziomie niskiej, a następnie wysokiej rozdzielczości.

Przeanalizowano dokumentację medyczną pacjentów, ze szczególnym uwzględnieniem wyników badań molekularnych i biochemicznych. Porównywano częstości występowania poszczególnych alleli HLA B między grupami.

Analizując związek alleli HLA B z aktywnością ALT w przebiegu zakażenia HCV, porównywano również częstość występowania poszczególnych alleli pomiędzy pacjentami z prawidłową oraz podwyższoną aktywnością tego enzymu. Analizę przeprowadzono w całej grupie pacjentów wirusologicznych (osoby dotąd nieleczone oraz te spośród leczonych, które nie odpowiedziały na leczenie), a ponadto w podgrupie pacjentów nieleczonych i osobno leczonych nieskutecznie.

Analizując skuteczność terapii, badano związek alleli HLA B z wczesną (redukcja o przynajmniej 2 log wartości wirerii po 12 tyg. leczenia w przypadku pacjentów stosujących leczenie skojarzone oraz brak wirerii po zakończeniu terapii) i trwałą odpowiedź wirusologiczną (eliminacja HCV-RNA utrzymująca się minimum przez 6 mies. po leczeniu – do czasu przeprowadzania niniejszej analizy), porównano częstość występowania poszczególnych alleli HLA B pomiędzy pacjentami z różną odpowiedzią na terapię. W analogiczny sposób autorzy przeanalizowali związek alleli HLA B z odpowiedzią biochemiczną. Z uwagi na różne schematy leczenia stosowane przez lata, aby wyeliminować błąd związany z wpływem terapii na wyniki, wyodrębniono grupę pacjentów otrzymujących terapię skojarzoną i w tej grupie przeprowadzono osobno pełną analizę.

Wszystkie porównania przeprowadzono 2-krotnie: dla układu alleli, które rzeczywiście oznaczono, oraz dla układu alleli uzupełnionego przez allele domniemane (gdy nie można oznaczyć u pacjenta obecności dwóch alleli, zachodzi duże prawdopodobieństwo, że allele pochodzące od obojga rodziców są takie same).

Do przeprowadzenia analizy istotności statystycznej zastosowano test  $\chi^2$  największej wiarygodności ( $\chi^2$ NW). Ze względu na duży rozmiar stworzonych tabel wielodzielczych, oprócz analizy zbiorowej przeprowadzonej dla tych tabel, dla każdego allela wykonano obliczenia indywidualne dotyczące istotności statystycznej różnic w częstości występowania pomiędzy porównywanymi grupami [zastosowano test  $\chi^2$  z poprawką Yatesa dla małych grup ( $\chi^2$ Y)]. Za istotne statystycznie przyjęto takie różnice, gdzie wartość  $p$  była mniejsza od 0,05.

Z uwagi na małe liczebności poszczególnych alleli, zwłaszcza oznaczanych na poziomie wysokiej rozdzielczości, dla zwiększenia przejrzystości tabel usunięto informacje dotyczące alleli występujących rzadko (z wyjątkiem kilku porównań, w których zaznaczyły się różnice), zwłaszcza że nie obserwowano żadnych istotnych statystycznie różnic. W tabelach w nawiasach kwadratowych przedstawiono dane uzyskane po uwzględnieniu alleli domniemanych.

## Wyniki

Częstość występowania poszczególnych alleli HLA B przedstawiono w tabeli III. Liczbę alleli pozwalającą na stawianie hipotez dotyczących ich znaczenia w przebiegu zakażenia HCV lub jego leczenia uzyskano tylko dla pojedynczych z nich – HLA B\*07, HLA B\*08, HLA B\*13, HLA B\*18, HLA B\*44, ewentualnie HLA B\*27 i HLA B\*35.

Analizując wpływ alleli HLA na aktywność ALT, będącą wskaźnikiem klinicznym przebiegu zakażenia HCV, nie stwierdzono istotnych zależności – ani w analizie zbiorczej wszystkich obecnie zakażonych pacjentów, ani w analizie podgrup – osób dotąd nieleczonych oraz leczonych nieskutecznie. Szczegółowe wyniki tych analiz przedstawiono w tabeli IV.

Analizując wczesną oraz trwałą odpowiedź wirusologiczną na leczenie w aspekcie rozkładu alleli HLA B\* w całej grupie pacjentów leczonych, nie stwierdzono statystycznie istotnych zależności eliminacji wirerii od alleli HLA, zarówno w analizie zbiorczej, jak i przeprowadzonej indywidualnie dla każdego z alleli oznaczonych na poziomie niskiej i wysokiej rozdzielczości. W grupie pacjentów, którzy przebyli terapię skojarzoną interferonem  $\alpha$  i rybawiryną, także nie odnotowano statystycznie istotnych zależności wczesnej i odległej odpowiedzi wirusologicznej od układu alleli HLA B\*, zarówno badanych na poziomie niskiej, jak i wysokiej rozdzielczości, także po uwzględnieniu alleli domniemanych. Wyniki tej analizy przedstawiono w tabeli V.

Nie stwierdzono także zależności rozkładu alleli HLA B\* oraz wczesnej i późnej odpowiedzi biochemicznej na leczenie przeciwwirusowe, zarówno w analizie obejmującej wszystkich leczonych, jak i w analizie dotyczącej

wyłącznie pacjentów poddanych terapii skojarzonej. Wyniki tej analizy przedstawiono w tabeli VI.

## Omówienie

Układ HLA cechuje się znacznym zróżnicowaniem osobniczym. Locus HLA B charakteryzuje się znaczną liczbą znanych alleli. Część z nich występuje częściej, jednak w badaniach własnych, w materiale obejmującym 61 pacjentów, najliczniej pojawiających się alleli HLA B\* było stosunkowo niewiele. Prawdopodobnie z tej przyczyny nie udało się potwierdzić znanych z piśmiennictwa związków zmienności HLA B\* z przebiegiem zakażenia HCV czy też ze skutecznością leczenia. W materiale własnym, u osób zakażonych HCV najliczniej reprezentowane były allele HLA B\*07, HLA B\*08, HLA B\*13, HLA B\*18, HLA B\*44, nieco rzadziej także HLA B\*27 i HLA B\*35. W badaniach dotyczących częstości występowania poszczególnych alleli HLA w populacji polskich krwiodawców HLA B\* najczęściej reprezentowane były przez HLA B\*0702, HLA B\*0801, HLA B\*1801, HLA B\*5101, nieco rzadziej HLA B\*1501, HLA B\*2705, HLA B\*3501, HLA B\*4403, HLA B\*3801, HLA B\*4001, HLA B\*1302 [19]. Grupa alleli najczęściej występujących w badaniach własnych zgadza się z allelami pojawiającymi się najliczniej w populacji zdrowych osób. W innych polskich badaniach obejmujących osoby zdrowe, w których określano częstości poszczególnych fenotypów HLA B, stwierdzono, że najliczniej występują fenotypy HLA B7, HLA B44, HLA B8, HLA B27 i HLA B35 [20]. W tym przypadku wyniki zgadzają się z obserwacjami uzyskanymi w badaniach własnych tylko częściowo. Badania te wykonano jednak wcześniej i określano w nich fenotyp, a nie genotyp, z czym może się wiązać obserwowana różnica.

Vejbaysa i wsp. nie wykazali żadnych różnic w zakresie HLA A i HLA B pomiędzy pacjentami z przetrwałym zakażeniem HCV oraz tymi, którzy wyeliminowali wirusa, chociaż odnotowali takie różnice dla antygenów klasy II [14]. Zespół ten swoimi badaniami objął ok. 100 pacjentów, więc grupę nieco większą od analizowanej w badaniach własnych. Być może jednak grupa ta była zbyt mała, aby wychwycić różnice dotyczące częstości występowania poszczególnych alleli HLA B w stosunku do osób zdrowych.

Inne badania potwierdzają związek alleli HLA B z podatnością na zakażenie HCV. Tripathy i wsp. stwierdzili, że zakażeniu sprzyja obecność HLA B\*15 oraz HLA B\*55 [1]. W materiale własnym te allele występowały rzadko. McKiernan i wsp. postulowali związek HLA B\*08 z tendencją do przewlekania się zakażenia HCV (genotyp 1b) [21]. Jest to allel występujący dość często w grupie analizowanych w badaniach własnych pacjentów z przewlekłym zakażeniem HCV, co może ilu-

Tabela III. Częstość występowania poszczególnych alleli HLA B [w nawiasach kwadratowych – allele domniemane]  
 Table III. Frequency of particular HLA B alleles [in square brackets – supposed alleles]

Allele HLA B*	Liczba alleli – niska rozdzielczość		Allele HLA B*		Liczba alleli – wysoka rozdzielczość		
	u pacjentów leczonych którzy wylimino- wali wirus	u wszystkich leczonych	u pacjentów nieleczonych	razem	u pacjentów leczonych po niesku- tecznym leczeniu	u pacjentów nieleczonych	razem
–	1 [0]	1 [0]	1 [0]	2 [0]	1 [0]	1 [0]	2 [0]
07	5	8	13	4	17	17	15
	0	0	0	0	0	0	0
08	3	10	13	0	13	13	13
13	5	3	8	1	9	8	9
14	0	2	2	0	2	1	1
	0	0	0	0	0	0	0
15	0	3	3	0	3	3	3
18	4	7	11	2	13	10	12
	0	0	0	0	0	0	0
27	3	2 [3]	5 [6]	1	6 [7]	1	2
	0	0	0	0	0	0	0
35	3	3	6	1 [2]	7 [8]	4 [5]	6
	0	0	0	0	0	0	0
37	1	0	1	0	1	1	1
38	2	1	3	2	5	2	4
	0	0	0	0	0	0	0
39	0	1	1	1	2	1	1
	0	0	0	0	0	0	0
40	3	2	5	1	6	3	3
	0	0	0	0	0	0	0
41	1	1	2	0	2	2	2
44	4	6	10	3	13	4	5
	0	0	0	0	0	0	0
4402	1	1	2	0	2	4	2
4403	1	1	2	0	2	4	6
4405	1	1	2	0	2	1	1
4427	1	1	2	0	2	1	1

Tabela III. cd.  
Table III. cont.

Allele HLA B*	Liczba alleli – niska rozdzielczość		Allele HLA B*		Liczba alleli – wysoka rozdzielczość		razem
	u pacjentów leczonych	u pacjentów nieleczonych	którzy wylimino- wali wirus	u pacjentów leczonych	u pacjentów nieleczonych	razem	
47	1	2	1	1	1	2	2
48	0	1	0	1	1	1	1
51	1	6	1	5	6	6	6
52	2	3	1	1	1	1	2
55	0	0	0	0	0	0	1
56	1	3	1	2	3	3	3
57	1	3	1	2	3	3	3
ogół	40	62	102	20	122	40	122
						62	102
						20	20
						102	122

Tabela IV. Aktywność ALT [w nawiasach kwadratowych – allele domniemane]  
Table IV. ALT activity [in square brackets – supposed alleles]

Allele HLA B*	Wszyscy pacjenci zakażeni HCV		Nieleżeni		Po nieskutecznym leczeniu		analiza statystyczna indywidualna
	aktywność ALT norma N (%)	liczba alleli w grupie	aktywność ALT norma N (%)	liczba alleli w grupie	aktywność ALT norma N (%)	liczba alleli w grupie	
07	4 (14,29%)	8 (15,38%)	2 (33,33%)	2 (14,29%)	2 (9,09%)	6 (15,79%)	$p = 0,73$
08	5 (17,86%)	4 (7,69%)	1 (16,67%)	1 (7,14%)	5 (22,73%)	4 (10,53%)	$p = 0,37$
18	4 (14,29%)	5 (9,62%)	1 (16,67%)	1 (7,14%)	3 (13,64%)	4 (10,53%)	$p = 0,96$
35	0 (0,00%)	4 (7,69%)	0 (0,00%)	1 (7,14%)	0 (0,00%)	3 (7,89%)	$p = 0,46$
		[5 (9,62%)]		[2 (14,29%)]			[ $p = 0,87$ ]
44	2 (7,14%)	7 (13,46%)	0 (0,00%)	3 (21,43%)	2 (9,09%)	4 (10,53%)	$p = 0,79$
51	2 (7,14%)	3 (5,77%)	–	–	2 (9,09%)	3 (7,89%)	$p = 0,75$
ogół (uwzględ- niono allele niewyszczegól- nione w tabeli)	28	52	6	14	22	38	analiza statystyczna zbiorowa $p = 0,34$ [ $p = 0,27$ ]
		80	6	20	22	60	analiza statystyczna zbiorowa $p = 0,48$ [ $p = 0,48$ ]

**Tabela V.** Odpowiedź wirusologiczna na leczenie [w nawiasach kwadratowych podano dane z uwzględnieniem alleli domniemanych]  
**Table V.** *Virological response to the treatment [in square brackets – supposed alleles]*

Rodzaj terapii	Allele HLA B*	Liczba alleli w grupie	Wczesna odpowiedź wirusologiczna		Odległa odpowiedź wirusologiczna			
			brak N (%)	dobra N (%)	brak N (%)	dobra N (%)		
wszystkie	07	13	7 (12,50%)	6 (13,04%)	8 (12,90%)	5 (12,50%)	$p = 0,81$	
	08	13	8 (14,29%)	5 (10,87%)	10 (16,13%)	3 (7,50%)	$p = 0,33$	
	13	8	4 (7,14%)	4 (8,70%)	3 (4,84%)	5 (12,50%)	$p = 0,3$	
	18	11	6 (10,71%)	5 (10,87%)	7 (11,29%)	4 (10,00%)	$p = 0,9$	
	27	5 [6]	2 (3,57%) [3 (5,36%)]	3 (6,52%)	2 (3,23%) [3 (4,84%)]	3 (7,50%)	$p = 0,61$ [ $p = 0,9$ ]	
	35	6	3 (5,36%)	3 (6,52%)	3 (4,84%)	3 (7,50%)	$p = 0,9$	
	40	5	2 (3,57%)	3 (6,52%)	2 (3,23%)	3 (7,50%)	$p = 0,61$	
	44	10	6 (10,71%)	4 (8,70%)	6 (9,68%)	4 (10,00%)	$p = 0,77$	
	51	6	5 (8,93%)	1 (2,17%)	5 (8,06%)	1 (2,50%)	$p = 0,46$	
	ogół (uwzględniono allele niewyszczególnione w tabeli)	102	56	46	62	40	analiza statystyczna zbiorowa $p = 0,62$ [ $p = 0,67$ ]	analiza statystyczna zbiorowa $p = 0,54$ [ $p = 0,58$ ]
skojarzona	07	10	6 (12,00%)	4 (11,76%)	7 (12,96%)	3 (10,00%)	$\chi^2 Y = 0,00$ , $p = 0,96$	
	08	11	7 (14,00%)	4 (11,76%)	9 (16,67%)	2 (6,67%)	$\chi^2 Y = 0,93$ , $p = 0,33$	
	13	6	4 (8,00%)	2 (5,88%)	3 (5,56%)	3 (10,00%)	$\chi^2 Y = 0,1$ , $p = 0,75$	
	18	11	6 (12,00%)	5 (14,71%)	7 (12,96%)	4 (13,33%)	$\chi^2 Y = 0,08$ , $p = 0,77$	
	35	6	3 (6,00%)	3 (8,82%)	3 (5,56%)	3 (10,00%)	$\chi^2 Y = 0,1$ , $p = 0,75$	
	40	4	1 (2,00%)	3 (8,82%)	1 (1,85%)	3 (10,00%)	$\chi^2 Y = 1,31$ , $p = 0,25$	
	44	7	5 (10,00%)	2 (5,88%)	5 (9,26%)	2 (6,67%)	$\chi^2 Y = 0,00$ , $p = 1,0$	
	51	5	4 (8,00%)	1 (2,94%)	4 (7,41%)	1 (3,33%)	$\chi^2 Y = 0,08$ , $p = 0,78$	
	ogół (uwzględniono allele niewyszczególnione w tabeli)	84	50	34	54	30	analiza statystyczna zbiorowa $p = 0,49$ [ $p = 0,49$ ]	analiza statystyczna zbiorowa $p = 0,4$ [ $p = 0,38$ ]

**Tabela VI.** Odpowiedź biochemiczna na leczenie [w nawiasach kwadratowych podano dane z uwzględnieniem alleli domniemyanych]  
**Table VI.** Biochemical response to the treatment [in square brackets – supposed alleles]

Rodzaj terapii	Allele HLA B*	Aktywność ALT bezpośrednio po zakończeniu leczenia			Aktywność ALT w czasie odległym (> 6 mies.) od zakończenia leczenia		
		norma N (%)	podwyższona N (%)	analiza statystyczna indywidualna	norma N (%)	podwyższona N (%)	analiza statystyczna indywidualna
wszystkie	07	8 (16,00%)	3 (10,71%)	$p = 0,76$	6 (10,34%)	7 (16,67%)	$p = 0,53$
	0702	8 (16,00%)	1 (3,57%)	$p = 0,17$	5 (8,62%)	6 (14,29%)	$p = 0,57$
	08	3 (6,00%)	4 (14,29%)	$p = 0,41$	7 (12,07%)	5 (11,90%)	$p = 0,77$
	13	6 (12,00%)	2 (7,14%)	$p = 0,77$	7 (12,07%)	1 (2,38%)	$p = 0,16$
	18	5 (10,00%)	2 (7,14%)	$p = 0,99$	6 (10,34%)	5 (11,90%)	$p = 0,94$
	35	3 (6,00%)	2 (7,14%)	$p = 0,78$	3 (5,17%)	3 (7,14%)	$p = 0,99$
	40	2 (4,00%)	2 (7,14%)	$p = 0,95$	4 (6,90%)	1 (2,38%)	$p = 0,58$
	44	7 (14,00%)	3 (10,71%)	$p = 0,95$	5 (8,62%)	5 (11,90%)	$p = 0,84$
	4403	4 (8,00%)	0 (0,00%)	$p = 0,32$	3 (5,17%)	1 (2,38%)	$p = 0,85$
	51	2 (4,00%)	3 (10,71%)	$p = 0,5$	3 (5,17%)	3 (7,14%)	$p = 0,99$
	ogół (uwzględniono allele niewyszczególnione w tabeli)	50	28	analiza statystyczna zbiorowa $p = 0,95 [p = 0,97]$	58	42	analiza statystyczna zbiorowa $p = 0,28 [p = 0,37]$
skojarzona	07	6 (15,00%)	2 (10,00%)	$\chi^2 Y = 0,02, p = 0,89$	3 (6,82%)	7 (18,42%)	$\chi^2 Y = 1,59, p = 0,21$
	0702	6 (15,00%)	1 (5,00%)	$\chi^2 Y = 0,51, p = 0,48$	3 (6,82%)	6 (15,79%)	$\chi^2 Y = 0,89, p = 0,35$
	08	3 (7,50%)	2 (10,00%)	$\chi^2 Y = 0,03, p = 0,87$	6 (13,64%)	4 (10,53%)	$\chi^2 Y = 0,01, p = 0,93$
	13	4 (10,00%)	2 (10,00%)	$\chi^2 Y = 0,21, p = 0,65$	5 (11,36%)	1 (2,63%)	$\chi^2 Y = 1,19, p = 0,28$
	18	5 (12,50%)	2 (10,00%)	$\chi^2 Y = 0,02, p = 0,89$	6 (13,64%)	5 (13,16%)	$\chi^2 Y = 0,03, p = 0,87$
	35	3 (7,50%)	2 (10,00%)	$\chi^2 Y = 0,03, p = 0,87$	3 (6,82%)	3 (7,89%)	$\chi^2 Y = 0,06, p = 0,81$
	44	6 (15,00%)	1 (5,00%)	$\chi^2 Y = 0,21, p = 0,65$	4 (9,09%)	3 (7,89%)	$\chi^2 Y = 0,04, p = 0,84$
	51	2 (5,00%)	2 (10,00%)	$p = 0,85$	2 (4,55%)	3 (7,89%)	$\chi^2 Y = 0,03, p = 0,87$
	ogół (uwzględniono allele niewyszczególnione w tabeli)	40	20	analiza statystyczna zbiorowa $p = 0,8 [p = 0,75]$	44	38	analiza statystyczna zbiorowa $p = 0,12 [p = 0,14]$



strować ten związek. Odmienne stanowisko reprezentowali Salloum i wsp., którzy stwierdzili, że HLA B\*08 być może ma związek ze spontaniczną eliminacją HCV [2]. Podają, że efekt ten wiąże się z powstawaniem, na drodze ucieczki immunologicznej, mutacji wirusa o zmniejszonej zdolności replikacji. W tym przypadku badania przeprowadzono również w grupie pacjentów zakażonych genotypem 1b HCV. Fanning i wsp. dowiedli, że przetrwała infekcja wiąże się z obecnością HLA B\*44 [4]. Allel ten często obserwowano także w materiale własnym.

Neumann-Haefelin i wsp. stwierdzili, że czynnikiem ochronnym w stosunku do zakażeń wirusowych, nie tylko HCV, lecz także HIV, jest HLA B\*27 [11]. W przypadku wirusa C zapalenia wątroby protekcyjne znaczenie tego antygeny dotyczy jednak tylko zakażeń genotypem 1 wirusa i nie rozciąga się na inne genotypy, różniące się sekwencją aminokwasów w zakresie epitopu rozpoznawanego przez limfocyty T CD8+. Wykazali to McKieran i wsp. w unikatowych badaniach przeprowadzonych w grupie kobiet zakażonych z jednego źródła (genotyp 1b). Stwierdzili także, że spontaniczna eliminacja wirusa jest bardziej prawdopodobna u osób mających allele HLA B\*27 [21]. Ksiao i wsp. podali, że samoistna eliminacja wirusa może mieć związek z obecnością HLA B\*35 [15]. W badaniach własnych zarówno allel HLA B\*27, jak i HLA B\*35 występowały jednak ze średnią częstością.

Chuang i wsp. stwierdzili, że allel HLA B\*57 wiąże się z częstszą samoistną eliminacją wirusa [3]. Ich badania dotyczyły jednak populacji zachodnioafrykańskiej, w której głównym genotypem HCV jest genotyp 2 (ponad 80% zakażonych HCV). Ito i wsp. w ograniczaniu rozprzestrzeniania wirusa dostrzegli potencjalną rolę HLA B\*5603, który może mieć związek z rozpoznawaniem specyficznego regionu NS3 wirusa przez uczulone limfocyty cytotoksyczne [22]. Oba te allele w badaniach własnych dotyczących populacji pacjentów z przewlekłym zakażeniem HCV występowały rzadko, co jest zgodne z wynikami tych obserwacji.

Thio i wsp. analizowali związek układu HLA z prawdopodobieństwem samoistnej eliminacji HCV i potwierdzili jego istnienie – w zakresie HLA B dla HLA B\*57 – większe prawdopodobieństwo samoistnej eliminacji wirusii, a w zakresie haplotypów Cw\*04 B\*35 oraz B\*53 – większe prawdopodobieństwo przetrwania zakażenia [7]. Kondo i wsp. stwierdzili, że u osób zakażonych przewlekłe HCV rzadziej niż u osób zdrowych występują allele HLA B\*51, HLA B\*52, HLA B\*56, HLA B\*61 i HLA B\*70 [13]. W badaniach własnych wszystkie te allele występowały również rzadko lub wcale.

W badaniach własnych nie stwierdzono statystycznie istotnych zależności dotyczących aktywności ALT w przebiegu zakażenia HCV od obecności poszczególnych alleli HLA B. Podobne obserwacje poczynili Kondo

i wsp., którzy również nie zaobserwowali takich związków [13]. W piśmiennictwie pojawiają się jednak doniesienia dotyczące związku poszczególnych alleli HLA B\* z innymi parametrami zakażenia HCV. Wang i wsp. stwierdzili, że układ HLA wpływa na poziom wirusii HCV u zakażonych pacjentów [23]. Wśród alleli HLA B z niskim poziomem wirusii wiąże się allel B\*56, a z wysokim B\*4001. Anis i wsp. podali, że krioglobulinemia występuje częściej u pacjentów zakażonych HCV mających antygen HLA B57 [16].

Wpływ układu HLA na przebieg zakażenia HCV potwierdzili także Lopez-Vazquez i wsp., donosząc o częstszym występowaniu raka wątrobowokomórkowego w następstwie przewlekłego zakażenia HCV u pacjentów z allelem HLA B\*18 niż u osób z mniej nasilonymi zmianami w wątrobie [5]. U pacjentów będących tylko bezobjawowymi nosicielami wirusa allel ten nie występował wcale. Gorsze rokowanie co do przebiegu zakażenia HCV u osób mających antygen HLA B 18 wykazali też Patel i wsp., którzy podali, że w tej grupie obserwuje się bardziej zaawansowane stadia włóknienia wątroby [12]. W badaniach własnych nie stwierdzono istotnych różnic dotyczących częstości występowania HLA B\*18 u pacjentów z podwyższoną i prawidłową aktywnością ALT.

Bondarenko i Baramzina, analizując kliniczne i biochemiczne objawy zakażenia HCV, stwierdzili, że występują one częściej u pacjentów m.in. z antygenami HLA B 35 i HLA B 41. Z kolei osoby z antygenami HLA B 8 i HLA B 35 częściej wykazywały nieadekwatną odpowiedź immunologiczną prowadzącą do progresywnego przewlekłego procesu zapalnego wątroby i do rozwoju marskości [6]. W badaniach własnych zaobserwowano, że allele HLA B\*35 występują częściej u pacjentów z podwyższoną aktywnością ALT, różnice jednak nie były statystycznie istotne.

W badaniach własnych nie stwierdzono wpływu alleli HLA na odpowiedź wirusologiczną uzyskiwaną w efekcie leczenia przeciwwirusowego, także w analizie przeprowadzonej w grupie pacjentów poddanych terapii skojarzonej. Również Vidal-Castiñeria i wsp. badali zależność odpowiedzi na leczenie pegylovanym interferonem  $\alpha$  i rybawiryną w odniesieniu do alleli HLA B i nie odnotowali takiej zależności [8].

Rhodes i wsp. stwierdzili jednak związek HLA z odpowiedzią na leczenie (terapia skojarzona pegylovanym interferonem  $\alpha$  i rybawiryną, pacjenci zakażeni genotypem 1 wirusa) w zakresie HLA B: allel HLA B\*58 występował częściej u pacjentów, którzy uzyskali trwałą odpowiedź wirusologiczną [10]. Tymczasem Tseng i wsp., analizując wyniki leczenia w grupie ponad 100 pacjentów, odnotowali, że z niekorzystnym rokowaniem wiąże się obecność antygeny HLA B60 [9].

Dai i wsp. analizowali skuteczność terapii skojarzonej w grupie ponad 200 pacjentów i wykazali, że czynnikiem dobrym rokowniczo była m.in. obecność allele HLA B\*40, a także haplotypu B40-DRB1\*3, B46-DRB1\*9, a dla pacjentów zakażonych genotypem 1b, lecz z niskim poziomem wirerii lub dla osób zakażonych innym genotypem niż 1b. Korzystnie rokuje obecność HLA B\*46 lub haplotypów B40-DRB1\*3 i B46-DRB1\*9 [17]. Allel HLA B\*40 także w badaniach własnych występował nieco częściej u pacjentów z dobrą odpowiedzią na leczenie, w żadnej z analiz autorzy nie uzyskali jednak zależności istotnych statystycznie.

## Wnioski

Na podstawie uzyskanych wyników badań własnych nie można potwierdzić związku poszczególnych alleli HLA B z aktywnością ALT w przebiegu zakażenia HCV ani ze skutecznością leczenia tego zakażenia. Ze względu jednak na zaznaczające się tendencje potwierdzone wynikami uzyskanymi przez innych badaczy konieczne jest przeprowadzenie badań w większej grupie pacjentów.

## Piśmiennictwo

1. Tripathy AS, Shankarkumar U, Chadha MS, et al. Association of HLA alleles with hepatitis C infection in Maharashtra, western India. *Indian J Med Res* 2009; 130: 550-5.
2. Salloum S, Oniangue-Ndza C, Neumann-Haefelin C, et al. Escape from HLA-B\*08-restricted CD8 T cells by hepatitis C virus is associated with fitness costs. *J Virol* 2008; 82: 11803-12.
3. Chuang WC, Sarkodie F, Brown CJ, et al. Protective effect of HLA-B57 on HCV genotype 2 infection in a West African population. *J Med Virol* 2007; 79: 724-33.
4. Fanning LJ, Kenny-Walsh E, Shanahan F. Persistence of hepatitis C virus in a white population: associations with human leukocyte antigen class I. *Hum Immunol* 2004; 65: 745-51.
5. López-Vázquez A, Rodrigo L, Miña-Blanco A, et al. Extended human leukocyte antigen haplotype EH18.1 influences progression to hepatocellular carcinoma in patients with hepatitis C virus infection. *J Infect Dis* 2004; 189: 957-63.
6. Bondarenko AL, Baramzina SV. Role of HLA phenotype in the formation of chronic hepatitis C virus infection. *Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol* 2002; 2: 55-7.
7. Thio CL, Gao X, Goedert JJ, et al. HLA-Cw\*04 and hepatitis C virus persistence. *J Virol* 2002; 76: 4792-7.
8. Vidal-Castiñeira JR, López-Vázquez A, Díaz-Peña R, et al. Effect of killer immunoglobulin-like receptors in the response to combined treatment in patients with chronic hepatitis C virus infection. *J Virol* 2010; 84: 475-81.
9. Tseng KC, Chang CK, Chou AL, et al. Prognostic effect of human leukocyte antigen class I and II alleles on chronic hepatitis C patients treated by pegylated interferon-alfa plus ribavirin in Taiwan. *Hepatogastroenterology* 2010; 57: 456-61.
10. Rhodes SL, Erlich H, Im KA, et al. Associations between the human MHC and sustained virologic response in the treatment of chronic hepatitis C virus infection. *Genes Immun* 2008; 9: 328-33.
11. Neumann-Haefelin C, Timm J, Schmidt J, et al. Protective effect of human leukocyte antigen B27 in hepatitis C virus infection requires the presence of a genotype-specific immunodominant CD8+ T-cell epitope. *Hepatology* 2010; 51: 54-62.
12. Patel K, Norris S, Lebeck L, et al. HLA class I allelic diversity and progression of fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2006; 43: 241-9.
13. Kondo Y, Kobayashi K, Kobayashi T, et al. Distribution of the HLA class I allele in chronic hepatitis C and its association with serum ALT level in chronic hepatitis C. *Tohoku J Exp Med* 2003; 201: 109-17.
14. Vejbaesya S, Songsivilai S, Tanwandee T, et al. HLA association with hepatitis C virus infection. *Hum Immunol* 2000; 61: 348-53.
15. Ksaa L, Ayed-Jendoubi S, Sfar I, et al. Clearance and persistence of hepatitis C virus in a Tunisian population: association with HLA class I and class II. *Viral Immunol* 2007; 20: 312-9.
16. Anis S, Muzaffar R, Zafar MN, et al. Relationship of HLA antigens and cryoglobulinaemia in hepatitis C virus infected patients. *J Pak Med Assoc* 2007; 57: 300-5.
17. Dai CY, Chuang WL, Hsieh MY, et al. Human leukocyte antigen alleles and the response to pegylated interferon/ribavirin therapy in chronic hepatitis C patients. *Antiviral Res* 2010; 85: 396-402.
18. Bevilacqua E, Fabris A, Floreano P, et al. Genetic factors in mother-to-child transmission of HCV infection. *Virology* 2009; 390: 64-70.
19. Nowak J, Mika-Witkowska R, Polak M, et al. Allele and extended haplotype polymorphism of HLA-A, -C, -B, -DRB1 and -DQB1 loci in Polish population and genetic affinities to other populations. *Tissue Antigens* 2008; 71: 193-205.
20. Kędzierska A, Gieracka-Paźucha D, Flaszka J, et al. Antygeny HLA klasy I w postaci rozpuszczalnej (s-HLA-I) w populacji osób zdrowych. II. sHLA antygenów warunkowanych przez locus B. *Arch Med Sąd Krym* 1997; 47: 273-82.
21. McKiernan SM, Hagan R, Curry M, et al. Distinct MHC class I and II alleles are associated with hepatitis C viral clearance, originating from a single source. *Hepatology* 2004; 40: 108-14.
22. Ito K, Shiraki K, Funatsuki K, et al. Identification of novel hepatitis C virus-specific cytotoxic T lymphocyte epitope in NS3 region. *Hepatol Res* 2006; 36: 294-300.
23. Wang LY, Lin HH, Lee TD, et al. Human leukocyte antigen phenotypes and hepatitis C viral load. *J Clin Virol* 2005; 32: 144-50.