



Jacek Juszczuk

HEPATITIS C

PATOGENEZA I TERAPIA

Jacek Juszczak

Hepatitis C: patogeneza i terapia

©Copyright by Termedia Wydawnictwa Medyczne, Poznań 2009

termedia
wydawnictwa
medyczne

Wszystkie prawa zastrzeżone.

Żaden z fragmentów książki nie może być publikowany w jakiegokolwiek formie bez wcześniejszej pisemnej zgody wydawcy.

Dotyczy to także fotokopii i mikrofilmów oraz nagrywania, a także rozpowszechniania za pośrednictwem nośników elektronicznych.

Autorem fotografii zamieszczonych w książce jest prof. dr hab. n. med. Jacek Juszczak.

Termedia Wydawnictwa Medyczne
ul. Wenedów 9/1
61-614 Poznań
tel./faks +48 61 822 77 81
e-mail: termedia@termedia.pl
<http://www.termedia.pl>

Termedia Wydawnictwa Medyczne
Poznań 2009
Wydanie I

Projekt okładki: Olga Reszelska
Skład i łamanie komputerowe: Andrzej Kasperczak
Redakcja: Małgorzata Kasperczakowa
Korekta: Agnieszka Kula

Druk: Zakład Poligraficzny *Moś i Luczak* sp.j., ul. Piwna 1, 61-065 Poznań

ISBN: 978-83-89825-29-2

Wydawca dołożył wszelkich starań, aby cytowane w podręczniku nazwy leków, ich dawki oraz inne informacje były prawidłowe. Wydawca ani autor nie ponoszą odpowiedzialności za konsekwencje wykorzystania informacji zawartych w niniejszej publikacji. Każdy produkt, o którym mowa w książce, powinien być stosowany zgodnie z odpowiednimi informacjami podanymi przez producenta. Ostateczną odpowiedzialność ponosi lekarz prowadzący.

Spis treści

Rozdział 1 Wprowadzenie	5
Rozdział 2 Wirus C zapalenia wątroby	9
Rozdział 3 Patogeneza zakażenia HCV	13
Rozdział 4 Skutki zakażenia HCV: dynamika włóknienia wątrobowego	37
Rozdział 5 Przeciwwirusowe leczenie przewlekłych zapaleń wątroby typu C	41
Rozdział 6 Leczenie ostrego wirusowego zapalenia wątroby typu C	57
Rozdział 7 Czynniki wpływające na efektywność terapii a jej indywidualizacja	63
Rozdział 8 Rybawiryna: właściwości i miejsce w leczeniu zakażeń HCV	73
Rozdział 9 Niepożądane objawy związane z leczeniem przeciwwirusowym	77
Rozdział 10 Perspektywy leczenia przeciwwirusowego przewlekłych zakażeń HCV	79

Aneks	
Standardy leczenia wirusowych zapaleń wątroby typu C Polskiej Grupy Ekspertów HCV (XIII Warsztaty Hepatologiczne, czerwiec 2008 r.)	91
Piśmiennictwo	95
Streszczenie	119

Rozdział 1

Wprowadzenie

Po wielu latach gromadzenia wiedzy na temat zakażenia HCV obserwacje empiryczne, kliniczne, laboratoryjne i eksperymentalne pozwoliły bliżej poznać ogólnobiologiczne cechy tworzące obraz heterogenności przebiegu tej infekcji. Niemniej patogenеза zakażenia wirusem C zapalenia wątroby nie jest w pełni wyjaśniona, chociaż w ostatnich latach dokonał się na tym polu bardzo znaczący postęp. Niezwykle istotne znaczenie ma tutaj opracowanie nowych technik genetycznych umożliwiających śledzenie praktycznie wszystkich etapów cyklu życiowego HCV. Zwrócono uwagę na znaczenie sprawnego, harmonijnego funkcjonowania mechanizmów zarówno odpowiedzi wrodzonej (znaczenie komórek dendrytycznych), jak i nabytej (komórki T), a przede wszystkim kooperacji obu rodzajów układów odpornościowych. Szczególnie rozwojowe wydają się badania nad rolą komórkowych regulatorów ekspresji HCV-RNA. Wszystkie te osiągnięcia bardzo dobrze rokują dla opracowania zupełnie nowych metod terapeutycznych, które znajdują się już w różnych fazach badań klinicznych, przedklinicznych lub na jeszcze wcześniejszych etapach.

Czerpiąc z doświadczenia terapeutycznego zdobytego w ostatnich latach, wiemy także, że odpowiedź na leczenie zakażonych w okresie przewlekłym jest zróżnicowana. W uproszczeniu pacjentów tych możemy podzielić na dwie podgrupy – odpowiadających i nieodpowiadających. Tak nakreślone zróżnicowanie musi być podstawą pytania o jego przyczyny. Czynnikiem zwiększającym lub, *vice versa*, zmniejszającym szanse na uzyskanie odpowiedzi wirusologicznej pod wpływem leczenia przeciw-wirusowego poświęcono ostatnio bardzo wiele analiz.

Opracowanie to nie jest pełną monografią na temat wirusa C i skutków jego zakażenia, chociażby dlatego, że nie zawiera danych epidemiologicznych, analizy przebiegu klinicznego (w tym dokładnego przedstawienia

pozawątrobowej lokalizacji zmian), zagadnień pediatrycznych czy pełnych informacji dotyczących współzakażeń HBV i HIV. Jest natomiast zbiorem informacji na temat samego wirusa C, patogeny zakażenia przezeń wywołwanego oraz aktualnie stosowanych metod leczenia przeciwirusowego zarówno w ostrym, jak i w przewlekłym okresie choroby. Przedstawiono także perspektywy leczenia wynikające z podstaw patogenetycznych zakażenia, co często prowadzi do zupełnie nowatorskich propozycji, nierzadko będących już w różnych fazach zaawansowania w praktyce.

Autor, poza bieżącym piśmiennictwem, wykorzystał w opracowaniu prezentowanego materiału kilka własnych publikacji – prac pogładowych oraz sprawozdań ze zjazdów międzynarodowych, jak również większych prac wydanych w formie osobnych publikacji (Juszczak, 2003, 2006, 2007a, 2007b, 2008a, 2008b). Osiągnięcia polskich ośrodków naukowych w zakresie badań na zakażeniu HCV zostały już poprzednio przedstawione w odrębnym opracowaniu (Juszczak, 2005).

Wirusowe zapalenie wątroby typu C jest bardzo poważnym problemem medycznym. Na świecie zakażonych HCV jest od 170 do 200 mln ludzi. W latach 1995–2005 w 24 krajach Unii Europejskiej zarejestrowano prawie 250 000 przypadków (a tylko w roku 2005 nieomal 29 500) ze stałą tendencją wzrostową, przy średniej nosicielstwa 1,0%, z bardzo dużym przedziałem zmienności tej wartości w różnych krajach: od 0,1% do 6,0% (Rantala i de Laar, 2008). Najczęściej zakażenie HCV jest rozpoznawane w Europie w grupie wiekowej 25–44 lata oraz 15–24 lata, dwukrotnie częściej u mężczyzn (Rantala i de Laar, 2008). Polska Grupa Ekspertów szacuje, iż w naszym kraju liczba zakażonych HCV wynosi ok. 750 000 (zakażenie występuje u ok. 1,5% populacji). Przeważa zakażenie genotypem 1 – ok. 75% – podobnie jak w innych krajach europejskich z odsetkami od 68 do 82% (Tyczyno, 2007; Rantala i de Laar, 2008). Genotypy 1b i 2 są związane z zakażeniami nozokomialnymi oraz z przetoczeniami krwi, przede wszystkim przeprowadzonymi przed rokiem 1991, natomiast genotypy 1a, 3/3a i 4 dominują wśród zakażonych poprzez stosowanie dożylnych środków uzależniających (Rantala i de Laar, 2008). Pomimo bardzo znaczącej poprawy bezpieczeństwa przetaczania krwi oraz jej pochodnych, higieny (w tym coraz wyraźniej szpitalnej) i innych działań zapobiegawczych, epidemiolodzy zwracają uwagę na znaczną liczbę nierozpoznanych przypadków, jak również nowe zakażenia. Podkreśla się, że zakażenie HCV jest względnie rzadkie na drodze kontaktów seksualnych oraz jako infekcja okołoporodowa, natomiast w 10–54% przypadkach droga zakażenia nie jest znana (Esteban i wsp., 2008). W odróżnieniu od wirusowego zapalenia wątroby typu B, przeciwko HCV nie ma szczepionki,

a prace nad nią są utrudnione z powodu biologicznych właściwości wirusa charakteryzującego się bardzo dużą zmiennością genetyczną.

Zakażenie HCV jest przyczyną więcej aniżeli połowy wszystkich przypadków raka wątrobowokomórkowego oraz przeszło 70% transplantacji wątroby w związku z krańcową niewydolnością wątroby związaną ze skutkami zakażenia tym wirusem w krajach rozwiniętych (Lauer i Walker, 2001). W Polsce w roku 2005 z powodu marskości o tej etiologii dokonano 38 tego rodzaju operacji. Wśród wszystkich (212) przeprowadzonych w tym okresie transplantacji była to najczęstsza procedura (Małkowski i wsp., 2007). Konsekwencje zakażenia HCV będą narastały jako problem medyczny w ciągu co najmniej następnych 30 lat (Sypsa i wsp., 2004).

W piśmiennictwie ukazuje się co roku bardzo duża liczba prac poświęconych różnym aspektom zakażenia HCV, a referaty przedstawiane na różnego rodzaju kongresach i sympozjach liczone są więcej niż w setkach. Dlatego nie cierpimy na brak informacji. Pisząc na ten temat, przeżywamy raczej rozterki związane z wyborem rzeczy istotnych. Niejednokrotnie jednak jest i tak, że bardzo tymczasowe, niewielkie objętościowo doniesienie okazuje się po niedługim czasie bardzo znaczące, uruchamiając całe serie ważnych badań i – w konsekwencji – publikacji ich wyników, wskazujących na dalsze kierunki badawcze.

Piszący na początku roku 2009 na temat wirusowego zapalenia wątroby typu C dostrzega nadchodzący przełom w terapii tej trudnej infekcji. Obecny standard terapeutyczny (szczegóły i modyfikacje pozostawiamy na razie na boku) polega na stosowaniu przede wszystkim pegylowanych postaci interferonu $\alpha 2$ z rybawiryną. W opracowaniach (Thompson i wsp., 2009) podsumowujących wyniki terapii obejmujące obecnie już dziesiątki tysięcy pacjentów podkreśla się, że rozkład efektów i braku tychże statystycznie przedstawia się tak: sukces terapeutyczny, a więc trwały efekt wirusowy, dotyczy średnio 40% leczonych, nawrotów wirerii doświadcza 20–30%, nie odpowiada na leczenie 20% i taki sam odsetek chorych przerywa leczenie z powodu objawów niepożądanych (ta wartość wydaje się zawyżona). Takie proporcje nie mogą zadowalać – stąd poszukiwania nowych leków. Obecnie prowadzonych jest przeszło 50 badań klinicznych dotyczących tego zagadnienia (Thompson i wsp., 2009).

Uważa się, że nie można wykluczyć zarejestrowania w ciągu najbliższych pięciu lat pierwszych preparatów o bezpośrednim działaniu przeciw-wirusowym w połączeniu z tak powszechnie dziś stosowanym leczeniem standardowym. Jest to więc przewidywanie terapii typu trójlekowego, która może zwiększyć średnie odsetki sukcesu leczniczego do 60%, zmniejszyć odsetek nawrotów do 5–10% i brak odpowiedzi na terapię do 10%;

nie można jednak wykluczyć 5-proc. zwiększenia się puli chorych, u których trzeba będzie przerywać leczenie, ponieważ potrójna terapia niesie za sobą zwiększenie takiego ryzyka. Realna jest także możliwość skrócenia czasu leczenia. Należy również przewidywać udowodnienie efektywności terapii przy użyciu zupełnie nowych komponentów, niekoniecznie w skojarzeniu z lekami dziś stosowanymi. Tu jednak rysuje się problem doskonale znany z zakażeń HIV oraz HBV. Jest to zjawisko oporności wirusa – nieuniknione przy stosowaniu leków wprost interweniujących w mechanizm replikacji wirusa.

Ze względu na te liczne okoliczności i wątki monografia ta nie ma charakteru systematycznego wykładu całości zagadnienia. Skupia się bardziej na opisie podstaw patogenezy zakażenia, dotychczasowych doświadczeń terapeutycznych z próbą wyjaśnienia mechanizmów sukcesu leczenia lub jego braku, stara się także wskazać perspektywy na przyszłość.

Rozdział 2

Wirus C zapalenia wątroby

HCV jest wirusem wyposażonym w jednoniciowy RNA o dodatniej polaryzacji, zbudowanym z przeszło 9000 nukleotydów, sklasyfikowanym oddzielnie wewnątrz rodziny *Flaviviridae* (Bartenschlager i Lohmann, 2000). Posiada otoczkę glikoproteinową pochodzącą od komórki gospodarza (Wakita i wsp., 2005). Ma średnicę od 30 do 60 nm – średnio 50 nm (Wakita i wsp., 2005). W końcu N otoczki E2 znajduje się region o wysoko zmiennej strukturze, HVR1, ściśle związany z omijaniem odpowiedzi odpornościowej organizmu (Bartenschlager i Lohmann, 2000; Wakita i wsp., 2005).

Cząstki HCV występujące w plazmie są związane w kompleksy z LDL i VLDL; te ostatnie stanowią istotny czynnik procesu wytwarzania wirusa (Andre i wsp., 2002). Nie jest dokładnie znany mechanizm zakażenia komórek przez HCV. To proces kompleksowy, wymagający współdziałania licznych części ze strony wirusa oraz komórki wątrobowej lub innej permissywnej (np. mononukleara krwi obwodowej). Wymienia się tu: glikozaminoglikany, lipazę lipoproteinową, receptor LDL, receptor klasy B typu I – SR-BI oraz, pierwszą spośród nich zidentyfikowaną i najlepiej poznaną, cząsteczkę CD81 wchodzącą w interakcje z glikoproteiną wirusową E2 (Helle i Dubuisson, 2008). Ostatnio do pełniących takie niezbędne funkcje receptorowe zaliczono jeszcze jeden element, należący do struktury łącz komórek wątrobowych: białka z grupy kładyn (Hahn i wsp., 2006).

HCV namnaża się przede wszystkim w komórkach wątrobowych (hepatocytach), chociaż szczegóły procesu nie są do końca poznane (Pawlotsky i wsp., 2007). Po wnikięciu wirusa do cytoplazmy komórki zostaje uwolniony genomowy RNA o dodatniej polaryzacji. Replikacja przebiega w dwóch fazach, obu katalizowanych przez RNA-zależną polimerazę RNA (NS5B). W pierwszej dodatnio spolaryzowana nić RNA HCV jest matrycą do syntezy ujemnej nici RNA HCV. W drugiej nić o polaryzacji

ujemnej służy jako matryca do wytwarzania dużej liczby nici spolaryzowanych dodatnio, których jest ok. 10-krotnie więcej aniżeli spolaryzowanych ujemnie. Są one następnie wykorzystywane do translacji w poliproteinę, wytwarzania nowych produktów pośrednich dla replikacji i pakowania wirusa w ostateczną, w pełni dojrzałą strukturę wirionu, w postaci której opuści on komórkę (Bartenschlager i wsp., 2004).

Translacja genomu HCV przebiega pod kontrolą IRES (ang. *internal ribosome entry site*). W procesie powstawania poliproteiny uczestniczą komórkowe eukariotyczne czynniki inicjujące eIF 2 i 3 (ang. *eukaryotic initiation factors*) oraz białka gospodarza (Otto i Puglisi, 2004). Otwarta ramka odczytu HCV składa się z 9024–9111 nukleotydów, o liczbie zależnej od genotypu (Pawlotsky i wsp., 2007). Znanych jest 6 genotypów HCV (oznaczonych liczbami arabskimi od 1 do 6) i więcej niż 100 podtypów (do „numeru” genotypu dodawane są litery, np. 1a itd.) Genotypy różnią się w 31–34% sekwencjami nukleotydów, natomiast podtypy w 20–23% (Bartenschlager i Lohmann, 2000). Zróżnicowanie to ma bardzo duże znaczenie praktyczne. Jest związane z odpowiedzią na leczenie przeciwwirusowe z gorszymi wynikami dla genotypów 1. i 4. (Seeff i wsp., 2000). Stanowi również najpoważniejszą przeszkodę w konstrukcji szczepionki. Nie udowodniono bezpośredniego związku pomiędzy zakażeniem określonym genotypem a ryzykiem rozwoju marskości. Natomiast genotyp 3. ma związek ze stłuszczeniem wątroby (Rubbia-Brandt i wsp., 2000).

Poliproteina HCV ulega rozszczepieniu do 10 różnych produktów (Bartenschlager i Lohmann, 2000). Są to białka strukturalne (S) i niestrukturalne (NS). Oznaczono je pierwszymi literami słów z języka angielskiego: C (ang. *core* – ‘rdzeń’), E (ang. *envelope* – ‘otoczka’) E1, E2, p (ang. *protein* – ‘białko’) p7 i NS (ang. *non-structural* – ‘niestrukturalne’) NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A i NS5B.

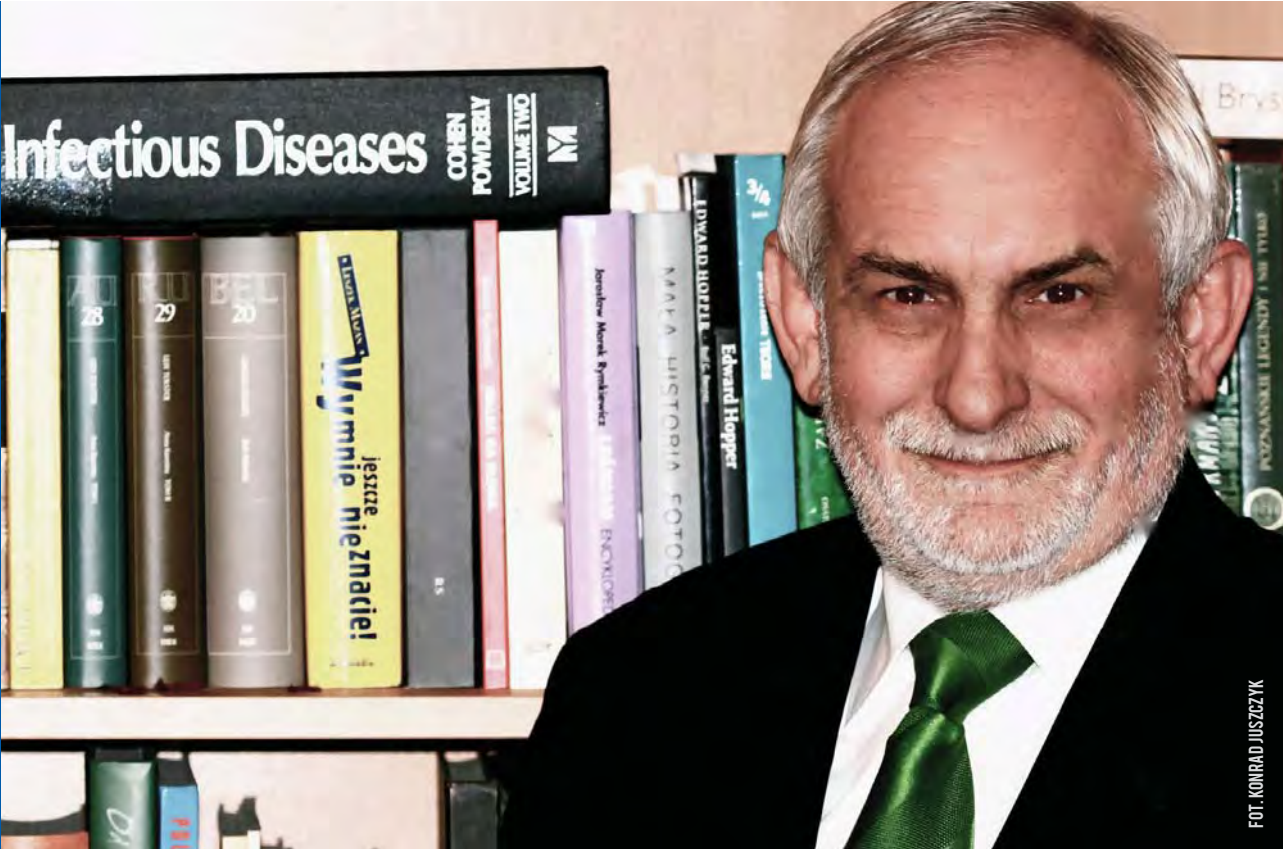
Znane są następujące funkcje ww. białek (Bartenschlager i Lohmann, 2000):

- rdzeń: białko nukleokapsydu;
- E1: białko otoczki;
- E2: białko otoczki, wchodzi w interakcje z CD81;
- P7: funkcja nieznana, kationowy kanał jonowy?;
- NS2: proteaza, autokatalityczne rozcinanie poliproteiny prekursorowej;
- NS3: proteaza serynowa, RNA-helikaza; ma liczne funkcje jako NTP-aza aktywowana przez RNA oraz czynnik uczestniczący w formowaniu drugorzędowej struktury RNA (Gwack i wsp., 1997);
- NS4A: tworzy kompleks z NS3, kofaktor dla proteazy NS3;

- NS4B: m.in. służy jako element „zakotwiczący” kompleks replikacyjny do błon siatki endoplazmatycznej komórki, będąc integralną składową tej struktury; jest także modulatorem aktywności NS5B HCV (Gretton i wsp., 2005);
- NS5A: ma budowę metaloproteiny cynkowej o dużym znaczeniu w replikacji wirusa. W końcu N zawiera krótkie fragmenty aminokwasowe niezbędne do złożenia oraz umieszczenia kompleksu replikacyjnego w obszarze błon okołojądrowych (Penin i wsp., 2004); dokładne funkcje w tym zakresie nie są jednak znane. Zawiera sekwencje wrażliwości na interferon (ISDR); wchodzi w interakcje z kinazą białkową (PKR);
- NS5B: RNA-zależna polimeraza RNA. W badaniach jej struktury krystalicznej wykryto, iż ma klasyczną budowę typu „palcę, dłoń i kciuk” (Bressanelli i wsp., 1999 i inni); interakcje pomiędzy „palcami” a „kciukiem” mają kluczowe znaczenie dla syntezy dodatniej i ujemnej nici HCV-RNA (Lesburg i wsp., 1999). Wiąże cyklofilinę B, cis-transizomerazę regulującą replikację HCV przez modulację zdolności wiązania się RNA z innymi strukturami (Nakagawa i wsp., 2005).

W zakażeniu przewlekłym w 1 ml krwi znajduje się od 10^5 do 10^9 cząstek, a w ciągu dnia powstaje 10^{12} cząstek wirusowych (Neumann i wsp., 1998). Wartości te mogą być wyższe (Bartenschlager i Lohmann, 2000). Za dawkę zakażającą uważa się równoważnik 100 cząstek HCV. Pomimo tak wysokich wartości wirerii występowanie HCV w płynach ustrojowych i w tkankach jest mniejsze. Bardzo duże ilości HCV-RNA znajdują się w wątrobie w warunkach immunosupresji. Wykazano to u szympanów oraz po transplantacji wątroby w związku z zakażeniem HCV (Bartenschlager i Lohmann, 2000).

HCV wykrywa się także w innych komórkach. Wykazuje on również tropizm do komórek jednojądrzastych krwi obwodowej. Sekwencje HCV-RNA wykryto w mononuklearach u 50% do 80% osób (Bartenschlager i Lohmann, 2000), jak również w innych komórkach, w tym ośrodkowego układu nerwowego (Laskus i wsp., 2002). Replikatywne formy HCV-RNA w mononuklearach mają znaczenie jako rezerwuuar infekcji u chorych leczonych przeciwwirusowo, w transfuzjologii i w transplantologii. Ostatnio wykazano zróżnicowanie profilu cytokin u osób z utajonym zakażeniem HCV w mononuklearach w porównaniu z zapaleniem aktywnym (Pham i wsp., 2008).



FOT. KONRAD JUSZCZYK

Profesor zwyczajny medycyny **Jacek Juszczyk**, Wielkopolein, przez wiele lat szef Katedry i Kliniki Chorób Zakaźnych Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, jest absolwentem tejże *Alma Mater*. Odbił liczne staże specjalizacyjne w kilku krajach europejskich. Członek honorowy trzech towarzystw naukowych i zwyczajny – pięciu. Przewodniczący i/lub członek Komitetów/Komisji Polskiej Akademii Nauk. Były specjalista krajowy i wojewódzki ds. chorób zakaźnych. Laureat licznych nagród towarzystw naukowych, ministerialnych, uczelnianych i regionalnych za pracę naukową, dydaktyczną i społeczną. Odznaczony m.in. Krzyżem Komandorskim Orderu Odrodzenia Polski. Autor kilkuset artykułów z zakresu medycyny. Przez wiele lat czynny jako krytyk sztuki – z równoważną liczbą publikacji. Jest autorem (lub współautorem) następujących książek (w wyborze, chronologicznie), których powstawanie, praca nad nimi oraz ich odbiór dały mu szczególną satysfakcję: „Dzieje Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Poznańskiego i Akademii Medycznej 1919–1979”, Poznań, 1979, 1989 (wspólnie z J. Hasikiem); „Diagnostyka różnicowa chorób zakaźnych”, Warszawa, 1989, 1996, 1998 (wspólnie z A. Gładyszem); „AIDS: epidemiologia, patogeneza, klinika, leczenie, zapobieganie, poradnictwo”, Wrocław, 1992 (wspólnie z A. Gładyszem); „Zakażenia przenoszone przez krew i preparaty krwiopochodne”, Warszawa, 1996; „Leczenie chorób wątroby”, Wrocław, 1996 (wspólnie z A. Gładyszem); „Leczenie chorób wirusowych”, Wrocław, 2000; „HIV/AIDS”, Poznań, 2006 (red. wspólnie z W. Halotą), „Posocznica”, Gdańsk, 2006 (wspólnie z A. Sametem), „Choroby zakaźne i pasożytnicze”, Lublin, 2007 (red. wspólnie z J. Cianciarą).