

Pierwotny rak wątroby może rozwinąć się na podłożu przewlekłego zapalenia i marskości wątroby spowodowanych zakażeniami HBV i HCV. Jest on jednym z najgroźniejszych powikłań tych chorób. Proces transformacji nowotworowej komórek wątroby wciąż interesuje badaczy. W pracy przedstawiono poglądy na rolę czynników odpowiedzialnych za jego powstanie w przebiegu zakażenia wirusem HBV, takich jak integracja HBV DNA z DNA komórkowym, HBx Ag i białka p53. Udział wirusa HCV w procesie karcinogenezy jest wciąż nieznany. Ostatnie doniesienia wskazują na rolę białek rdzeniowych i NS3. Nie znaleziono doniesień, w których opisano by jednocześnie wpływ patogenetyczny podwójnej infekcji HBV i HCV.

**Słowa kluczowe:** wirus HCV, wirus HBV, pierwotny rak wątroby, HBx Ag, p53 protein

*Hepatocellular carcinoma is one of the most dangerous complication of chronic inflammatory disease and liver cirrhosis caused by HCV and HBV viruses. The problem of neoplastic transformation is still examined. There is a lot of data about main factors responsible for it such, as integration of HBV DNA with cell's DNA, HBx Ag and p53 protein. Role of HCV virus is still unknown in process of carcinogenesis. Some late reports show the participation of core and NS3 proteins in this process. There is no documentation how double infection of HBV and HCV viruses takes part in transformation of liver cells to hepatocellular carcinoma.*

**Key words:** hepatitis C virus, hepatitis B virus, hepatocellular carcinoma, HBx Ag, p53 protein

# Rola zakażeń wirusami HBV i HCV w rozwoju pierwotnego raka wątroby

## *The role of HBV and HCV infections in neoplastic transformation to hepatocellular carcinoma*

Agnieszka Adamek

Oddział Zakaźny ZOZ Poznań Stare Miasto

### WSTĘP

Pierwotny rak wątroby (prw, *carcinoma hepatocellulare*, HCC) jest najczęstszym pierwotnym złośliwym nowotworem wątroby. Liczbę nowych przypadków rocznie określa się w granicach 500 tys. do 1 mln, zaś liczbę zgonów spowodowanych prw od 250 tys. do 1mln osób rocznie [1, 2].

Problem etiologii prw nie został jeszcze w pełni wyjaśniony.

Do czynników mających wpływ na rozwój tego nowotworu należą m. in.:

- ▶ zakażenia wirusami hepatotropowymi HBV i HCV,
- ▶ przewlekły alkoholizm,
- ▶ substancje powstające w wyniku produkcji przemysłowej, m. in. aminobenzen, aminotoluen, polichlorek winylu,
- ▶ naturalnie występujące substancje chemiczne, np. aflatoksyny w orzeszkach ziemnych, leki, np. estrogeny, androgeny, fenobarbital, diazepam [3].

### HBV a prw

Niewątpliwie spośród wszystkich czynników etiologicznych najczęstszym jest przewlekłe zakażenie wirusem HBV. Stanowi ono ok. 80 proc. przypadków prw. Ryzyko rozwoju prw u nosicieli HBs w stosunku do osób niezakażonych wynosi 100:1 [4]. Występowanie prw na świecie jest zróżnicowane geograficznie i ma udokumentowany związek z częstością nosicielstwa HBs na danym terenie [1]. Liczbę nowych przypadków prw związanych z obecnością HBV ocenia się na 350 tys. nowych przypadków rocznie, z czego 1/3 ma miejsce w Chinach, a kolejna 1/3 w pozostałej części Azji. W Europie liczba ich oceniana jest na 30 tys. rocznie [5].

Do rozwoju prw dochodzi na tle przewlekłego zakażenia HBV. W ponad 90 proc. przypadków z obecnością antygenu HBs wykryto obecność zintegrowanego HBV-DNA z DNA gospodarza [6]. Do połączenia obu materiałów genetycznych dochodzi za pomocą położonych przy 5' końcu genomu

HBV, w obrębie genu X, powtórzonych sekwencji DR1 i DR2. Integracji obu genomów mogą towarzyszyć zmiany w postaciach inwersji, duplikacji, delecji czy translokacji chromosomalnej [7, 8].

Ogata i wsp. wykazali, iż w przypadku komórek nowotworowych zintegrowany HBV DNA występuje w swoich odwracalnych i powtarzanych sekwencjach, które składają się z fragmentów genomu HBV i  $\alpha$ -satelitarnego komórkowego DNA [9].

Integracja HBV DNA z DNA komórkowym może wywołać zmienioną ekspresję onkogenów oraz genów tłumiących guza (*tumor supresor genes*). Mechanizm ten jest cechą charakterystyczną dla zakażeń wirusem WHV zakażającym świstaki, a należącym do *Hepadnaviridae*. Dochodzi w nim do pobudzenia N-myc i c-myc onkogenów poprzez insercję wirusowego DNA [10].

Dotychczas stwierdzono pojedyncze przypadki wykrycia cis-aktywacji genów komórkowych w zakażeniu HBV w wyniku integracji HBV DNA z DNA komórkowym. Miejsca, w których doszło do połączenia obu genomów to geny cykliny A, v-erb-A oraz receptora dla kwasu retinowego [11].

Należy także podkreślić, iż integracja genomów powoduje utratę heterozygotyczności chromosomów, co wywołuje efekt niestabilności genowej, częstego obrazu w procesie karcinogenezy [12, 13].

Właściwości transaktywacyjne dla onkogenów posiada białko X, produkowane przez gen X zintegrowanego, jak również niezintegrowanego HBV DNA [14]. Ma ono zdolność aktywacji czynników transkrypcyjnych, jak NF- $\kappa$ B i AP-1 (składającego się z Jun i Fos). Aktywacja NF- $\kappa$ B następuje niezależnie od kinazy proteinowej C. Zachodzi ona na drodze fosforylacji fragmentu I-KB i jego oddysocjowania z nieaktywnego kompleksu. Proces ten możliwy jest

dzięki aktywności kinazy serynowo-treoni- nowej, którą posiada białko X [15].

Zdolność transaktywacji przy pomocy HBx może być zależna od aktywacji kinazy proteinowej C, której wzrost aktywności zależny jest od endogennego aktywatora – 1,2-diacylglicerolu [16].

Białko HBx wykazuje także podobieństwo do inhibitorów proteazy serynowej typu Kunitz'a. Polega ono na występowaniu analogicznych sekwencji nukleotydów (61-69aa i 132-140aa białka X) [17]. Mutacje tych obszarów powodują zniesienie funkcji transaktywacyjnych białka X. Ostatnio wykazano, iż białko X ma zdolność hamowania aktywności wątrobowych proteaz serynowych TL1 i TL2 [18]. Jest to także jedna z dróg aktywacji transkrypcji poprzez wzrost stężenia proteaz w komórce.

Drugi typ transaktywatora kodowany jest w regionie preS/S genu HBV [19]. Ponieważ region S1 jest zbędny, dochodzi do delecji bądź mutacji sekwencji HBs pomiędzy 219 a 645 nukleotydem [20]. Dochodzi wówczas do powstania M (idlle) HBs transaktywatora, pozostającego na terenie siateczki śródplazmatycznej, który ma zdolność pobudzania ekspresji genów c-fos [21] i c-myc [22].

Ważnym problemem w procesie karcinogenezy jest także rola białka p53 o charakterze supresorowym dla guza. Zapobiega ono niekontrolowanemu wzrostowi komórkowemu [23]. W przypadku utraty tej funkcji dochodzi do replikacji komórek z uszkodzonym DNA, które obumierają bądź ulegają transformacji [24]. W przebiegu prw na podłożu przewlekłego zakażenia HBV dochodzi do połączenia białka X z p53. Wykrycie kompleksów HBx-p53 umożliwia immunoprecypitacja obu tych białek z przeciwciałami [25]. W takich kompleksach dochodzi do inaktywacji białek p53, co prowadzi do braku kontroli replikacji i transkrypcji uszkodzonego komórkowego DNA na poziomie helikaz DNA. Sprzyja to powstawaniu nowych mutacji i transformacji nowotworowej. W okresie wczesnym zakażenia stosunek HBx:p53 jest niski, co może stymulować ekspresję genów HBV i dalszą jego replikację. W okresie przewlekłego zakażenia, kiedy ilość HBx wzrasta i stopniowo wypełnia zainfekowaną komórkę, dochodzi do zahamowania transkrypcji genu p53, co w efekcie daje zmiany fenotypowe zakażonych komórek [26].

W przebiegu zakażenia HBV dochodzi także do mutacji genu p53, które to pojawiają się w ok. 20-50 proc. przypadków prw. Należy jednak podkreślić, iż mutacje te nie są charakterystyczne tylko dla prw, ale występują także w przypadkach innych nowotworów [27].

Ważną cechą karcinogenezy jest także obecność insulinopodobnego czynnika wzrostu II (IGF II, Insulin-like Growth Factor II) [28], prawidłowo występującego tylko w wątrobach płodowych [29]. Sugeruje się, że do jego ekspresji dochodzi pod wpływem HBx

[30]. Wykrycie obecności IGF II może być jednym z bardzo wczesnych etapów rozwoju prw, ze względu na możliwość indukcji proliferacji hepatocytów przez IGF II.

Antygen HBx stymuluje również ekspresję receptora dla IGF I w liniach komórkowych ludzkiego prw, który jest niezbędny dla utrzymania zmienionego fenotypu komórek [35].

Ostatnie doniesienia wykazały także rolę mutacji genu dla  $\beta$ -cateiny, która znajduje się w 26 proc. prw u ludzi. Na skutek mutacji dochodzi do utrzymania procesów proliferacji komórek, prawdopodobnie poprzez aktywację genu c-myc [31, 32].

Ważnym punktem w problemie karcinogenezy jest także delecja chromosomu 1p, możliwa do częstego wykrycia podczas określania kariotypu genomu komórek pochodzących z prw [33]. Zastosowanie metod porównawczej hybrydyzacji genowej i utraty heterozygotyczności stworzyło możliwość wykrycia w prw utraty alleli na chromosomach 16q i 17q (p53), które mogą być przyczyną zwiększonej ilości uszkodzeń komórek [34].

### HCV a prw

Jak dotychczas problem molekularnych patomechanizmów rozwoju prw w przebiegu przewlekłego zakażenia HCV nie został poznany. HCV RNA nie integruje się z genomem gospodarza, a więc proces transformacji nowotworowej musi zachodzić w inny sposób.

W obrębie guza nowotworowego, jak i okolicznych tkanek, wykryto obecność (-) replikacyjnych form HCV RNA [36]. Uważa się, że w zakażonych HCV komórkach prw brak jest aktywności odwrotnej transkryptazy [37].

W świetle ostatnich badań uważa się, że to sam wirus HCV ma istotną rolę w rozwoju prw, nie zaś proces przewlekłego zapalenia wątroby [38]. Udokumentowano wpływ genotypu 1b na rozwój prw. Częstość jego wykrywania waha się od 68 do 86 proc. przypadków, podczas gdy genotypu 2 29,5 proc., zaś 1a tylko 2,5 proc. [40, 41].

W badaniach na myszach transgenicznym udowodniono, iż białko rdzeniowe genotypu 1b wirusa HCV ma zdolność wywoływania prw w okresie 16-19 mies. od zakażenia. W badanej tkance pochodzącej z guza wykryto, metodą mikroskopii immunoelektronowej, akumulację białka rdzeniowego w obrębie jąder i mitochondriów [38]. Białko rdzeniowe może także pełnić funkcję transregulacyjną promotorów wirusowych i komórkowych, zaś w połączeniu z H-ras wpływa na przekształcanie szczyrczych embriofibroblastów do komórek guza [39].

Nie udowodniono hepatokarcinogennego wpływu białek otoczkowych E1 i E2 u myszy transgenicznym, nawet po okresie dłuższym niż 24 miesiące [42, 43].

W patogenezie prw rozważa się także rolę białka p70, kodowanego przez region NS3, który spełniając rolę helikazy, może

być włączony w procesy mutacji i zaburzeń stabilności genomu [44, 45].

Poszukując mechanizmów transformacji nowotworowej, Teramoto i wsp. wykazali zaburzenia genu p53, polegające na podstawieniu innych nukleotydów w miejscu kodonu 249 (G→T, bądź G→T i A→T) [46]. Przy zastosowaniu hybrydyzacji genowej, oceniając sekwencje DNA pochodzące z guzów prw związanego z zakażeniem HCV, wykazano, iż amplifikacja w 14q12 może być charakterystyczna dla prw. Porównując genomy komórek pochodzących z prw, nie znaleziono znaczącej różnicy w chromosomalnych aberracjach u zakażonych HBV czy HCV [47].

Choć szeroko prowadzone badania dotyczące poznania patogenezy przedstawiły możliwości transformacji nowotworowej, to jednak szczegółowe dane dotyczące tego procesu w zakażeniach wirusami HBV i HCV nie są jeszcze dokładnie poznane. Integracja HBV DNA z genomem gospodarza, wielorakie funkcje antygeny HBx nie wyjaśniają w pełni tego procesu. Niewątpliwie dalszych badań i określenia roli wymaga jeszcze kompleks HBx-p53 oraz ekspresja receptorów dla IGF II. W zakażeniu wirusem HCV poznania wymaga możliwość transformacji przy udziale białek rdzeniowych i niestrukturalnych. Otwartym problemem pozostaje podwójne zakażenie HBV i HCV oraz mechanizm współdziałania obu wirusów w rozwoju prw. Niewątpliwie wzrost ryzyka karcinogenezy obserwuje się w przypadku synergistycznego działania wirusów pierwotnie hepatotropowych i alkoholu, szczególnie w zależności od jego dawki [41].

Obecnie znany jest wpływ terapii interferonem na rozwój prw. Interferon zmniejsza ryzyko rozwoju prw o ok. 33 proc. w grupach leczonych, w porównaniu do nieleczonych. Szczególnie wyraźnie widoczne jest to u chorych z długotrwałą odpowiedzią wirusologiczną i biochemiczną na leczenie interferonem [48, 49]. Nadal wymagają obserwacji efekty skojarzonego leczenia przeciwwirusowego, dotyczące zmniejszania się zapalenia w marskość i zahamowania rozwoju prw.

Ze względu na ryzyko rozwoju prw osoby przewlekle zakażone wirusami HCV i HBV powinny być monitorowane co najmniej 1 raz w roku za pomocą ultrasonografii oraz testów biochemicznych określających stężenie alfafetoproteiny (AFP). W przypadku wątpliwości, możliwości szerszej diagnostyki stwarza dopplerowska ultrasonografia, tomografia komputerowa czy rezonans magnetyczny [50]. Określenie stężenia AFP jest badaniem czułym w ok. 80 proc. Wydaje się, iż powszechne wprowadzenie określania stężenia rozpuszczalnego receptora dla IL 2 (*soluble interleukin* – 2 receptor, SIL – 2R) byłoby lepszym markerem dla wykrycia prw, gdyż w 99 proc. przypadków tego nowotworu jego stężenie jest podwyższone [51].

Wczesne wykrycie obecności guza umożliwia terapię. Sposobów terapii jest kilka i zależne są od rozległości stwierdzanych zmian. Przy pojedynczym guzie możliwa jest resekcja zajętego mięszu. Metodą alternatywną wydaje się miejscowa ablacja za pomocą przezskórnego podania etanolu. Znalazła ona zastosowanie w latach 80. i do dziś daje dobre efekty w przypadku zmian wielkości poniżej 3 cm, w powtarzanych wstrzyknięciach 1 raz w tygodniu od 4 do 6 razy [52].

W przypadku braku efektów terapeutycznych, ostatecznością pozostaje transplantacja wątroby, obecnie coraz szerzej rozpowszechniana [53]. Nowych możliwości zapobiegania rozwojowi prw upatruje się w genowej terapii zakażeń HBV i HCV poprzez blokowanie ekspresji lub funkcji genu. Zastosowanie znajdują tu rybozomy, wykazujące aktywność katalityczną dla sekwencji RNA w przypadku zakażeń HCV, co stwarza możliwości eliminacji HCV-RNA z zakażonych komórek [54]. U chorych zakażonych wirusami HBV czy HCV użycie oligonukleotydów o sekwencji antysens stwarza możliwość zatrzymania replikacji RNA, odwrotnej transkrypcji i translacji mRNA [55]. Alternatywnym sposobem jest dołączanie interferujących peptydów do białek rdzenia wirusa i tworzenie mutantów, hamujących replikację wirusa. Eksperymentalne prace donoszą o możliwości zastosowania tego sposobu terapii w zakażeniu HBV [56].

Rozpiętość tematu patogenezy prw oraz nowoczesnych metod jego wykrywania i terapii stwarza obecnie szerokie pole do badań i jest przedmiotem zainteresowania wielu autorów.

## PIŚMIENNICTWO

- Wands J, Blum H. *Primary hepatocellular carcinoma*. N Engl J Med 1991; 325: 729-31.
- Donato F, Boffeta P, Puoti M. *A meta-analysis of epidemiological studies on combined effect of hepatitis B and C virus infections in causing hepatocellular carcinoma*. Int J Cancer 1998; 75: 347-54.
- Koszarowski T, Nowacki M. *Nowotwory wątroby i dróg żółciowych*. W: *Choroby wątroby i dróg żółciowych*, Brzozowski R (red.). PWZL Warszawa 1998; 360-5.
- Beasley R, Ling C, Hwang L, Chen C. *Hepatocellular carcinoma and hepatitis B virus: a prospective study of 22707 men in Taiwan*. Lancet 1981; 2: 1129-33.
- Bosch F. *Global epidemiology of hepatocellular carcinoma*. W: Okuda K, Tabor E (red.). *Liver cancer*. New York, Churchill Livingstone 1997; 13-28.
- Koshy R, Maupas P, Müller R, Hofschneider P. *Detection of hepatitis B virus-specific DNA in genomes of human hepatocellular carcinoma and liver cirrhosis tissues*. J Gen Virol 1981; 57: 95-102.
- Rogler C, Sherman M, Su C, Shafritz D, Summers J, Shows T, Henderson A, Kew M. *Detection in chromosome 11p associated with hepatitis B integration site in hepatocellular carcinoma*. Science 1985; 230: 319-22.
- Tokino T, Fukushige S, Nakamura T, Nagaya T, Murotsu T, Shiga K, Aoki N, Matsubara K. *Chromosomal translocation and inverted duplication associated with integrated hepatitis B virus in hepatocellular carcinomas*. J Virol 1987; 61: 3848-54.
- Ogata N, Tokino T, Kawimura T, Asakura H. *A comparison of the molecular structure of integrated hepatitis B virus genomes in hepatocellular carcinoma cells and hepatocytes derived from the same patient*. Hepatology 1990; 11: 1017-23.
- Hsu T, Moroy T, Etiemble J, Louise A, Trepo C, Tiollais P, Buendia M. *Activation of c-myc by woodchuck hepatitis virus insertion in hepatocellular carcinoma*. Cell 1988; 55: 627-35.
- Dejean A, Bougueleret L, Grzeschik K, Tiollais P. *Hepatitis B virus DNA integration in a sequence homologous to v-erb-A and steroid receptor genes in a hepatocellular carcinoma*. Nature 1986; 322: 70-2.
- Hino O, Normura K, Ohtake K, Kawaguchi T, Sugano H, Kitagawa T. *Instability of integrated hepatitis B virus DNA with inverted repeat structure in transgenic mouse*. Genet Cytogenet 1989; 37: 273-8.
- Matsubara K, Tokino T. *Integration of hepatitis B virus DNA and its implications for hepatocarcinogenesis*. Mol Biol Med 1990; 7: 143-260.
- Zahm P, Hofschneider P, Koshy R. *The HBV X ORF encodes a transactivator: a potential factor in viral hepatocarcinogenesis*. Oncogene 1988; 3: 169-177.
- Wu J, Zhou Z, Judd A, Cartwright C, Robinson W. *The hepatitis B virus-encoded transcriptional trans-activator hbx appears to be a novel protei serine/threonine kinase*. Cell 1990; 63: 687-95.
- Kekulé A, Lauer U, Weiss L, Lubert B, Hofschneider P. *HBV transactivator HBx uses a tumor promoter signalling pathway*. Nature 1993; 361: 742-5.
- Takada S, Koike K. *X protein of hepatitis B virus resembles a serine protease inhibitor*. Jpn J Cancer Res 1990; 81: 1191-94.
- Takada S, Kido H, Fukutomi A, Mori T, Koike K. *Interaction of HBV X protein with serine protease, trypsin TL2 as an inhibitor*. Oncogene 1994; 9: 341-8.
- Caselman W, Meyer M, Kekulé A, Lauer U, Hofschneider P, Koshy R. *A novel transactivator is encoded by hepatitis B virus preS/S sequences integrated in human hepatocellular DNA*. Proc Natl Acad Sci USA 1990; 87: 2970-4.
- Lauer U, Weiss L, Hofschneider P, Kekulé A. *The hepatitis B virus transactivator is generated by 3' truncation within a defined region of the S gene*. J Virol 1992; 66: 5284-9.
- Natoli G, Avantiaggiati M, Chirillo P, et al. *Induction of the DNA-binding activity of c-jun/c-fos heterodimers by the hepatitis B virus transactivator pX*. Mol Cell Biol 1994; 14: 989-98.
- Kekulé A, Lauer U, Meyer M, Caselman W, Hofschneider P, Koshy R. *The preS/S region of integrated hepatitis B virus DNA encodes a transcriptional transactivator*. Nature 1990; 343: 457-61.
- Ullrich S, Anderson C, Mercer W, Appella E. *The p53 tumor suppressor protein, a modulator of cell proliferation*. J Biol Chem 1992; 267: 15259-62.
- Holstein M, Sidransky D, Vogelstein B, Harris C. *p53 mutations in human cancers*. Science 1991; 253: 49-53.
- Feitelson M, Zhu M, Duan L, London W. *Hepatitis B X antigen and p53 are associated in vitro and in liver tissues from patients with primary hepatocellular carcinoma*. Oncogene 1993; 8: 1109-14.
- Takada S, Tsuchida N, Kobayashi M, Koike K. *Disruption of the function of tumor-suppressor gene p53 by the hepatitis B virus X protein and hepatocarcinogenesis*. J Cancer Res Clin Oncol 1995; 12: 593-601.
- Tabor E. *Tumor suppressor genes, growth factor genes and oncogenes in hepatitis B virus-associated hepatocellular carcinoma*. J Med Virol 1994; 42: 257-65.
- Cariani E, Lasserre C, Kemeny F, Franco D, Brechot C. *Expression of insulin-like growth factor II,  $\alpha$ -fetoprotein and HBV transcripts in human primary liver cancer*. Hepatology 1991; 13: 644-9.
- Soares M, Ishii D, Efstratiadis A. *Developmental and tissue-specific expression of a family of transcripts related to rat insulin-like growth factor II mRNA*. Nucleic Acids Res 1985; 14: 1119-34.
- D'Arville C, Nouri-Aria K, Johnson P, Williams R. *Regulation of insulin-like growth factor II gene expression by hepatitis B virus in hepatocellular carcinoma*. Hepatology 1991; 13: 310-5.
- La Coste A, Romagnolo B, Billart P, et al. *Somatic mutations of the beta-catenin gene are frequent in mouse and human hepatocellular carcinomas*. Proc Natl Acad Sci USA 1998; 95: 8847-51.
- He T, Sparks A, Pago C, et al. *Identification of c-MYC as a target of the APC pathway*. Science 1998; 281: 1509-12.
- Chen H, Chen Y, Chen D. *Chromosome 1p aberrations are frequent in primary hepatocellular carcinoma*. Cancer Genet Cytogenet 1996; 45: 102-6.
- Nishida N, Fukuda Y, Kokuryu H, et al. *Accumulation of allelic loss on arms of chromosomes 13q, 16q and 17p in the advanced stages of human hepatocellular carcinoma*. Int J Cancer 1992; 51: 862-8.
- Kim S, Park J, Lee Y. *Increased expression of the insulin-like growth factor I (IGF I) receptor gene activation by hepatitis B virus X gene product*. Cancer Res 1996; 56: 3831-6.
- Horiike N, Nonaka T, Kumamoto I, Kajino K, Onji M, Ohta Y. *Hepatitis C virus plus and minus-strand RNA in hepatocellular carcinoma and adjoining nontumorous liver*. J Med Virol 1993; 41: 312-5.
- Lau G, Davis G, Wu S, Gish R, Balart L, Lau J. *Hepatic expression of hepatitis C virus RNA in chronic hepatitis C: a study by in situ reverse-transcription polymerase chain reaction*. Hepatology 1996; 23: 1318-23.
- Moriya K, Fujie H, Shintani Y, et al. *The core protein of hepatitis C virus induces hepatocellular carcinoma in transgenic mice*. Nat Med 1998; 4: 1065-7.
- Ray R, Lagging L, Meyer K, Ray R. *Hepatitis C virus core protein cooperates with ras and transforms primary rat embryofibroblasts to tumorigenic phenotype*. J Virol 1996; 70: 4438-43.
- Bruno S, Silini E, Crosignani A, et al. *Hepatitis C virus genotypes and risk of hepatocellular carcinoma in cirrhosis: a prospective study*. Hepatology 1997; 25: 754-58.
- Tagger A, Donato F, Ribero M, et al. *Case-control study on hepatitis C virus (HCV) as a risk factor for hepatocellular carcinoma: the role of HCV genotypes and the synergism with hepatitis B virus and alcohol*. Brescia HCC study. Int J Cancer 1999; 81: 695-9.
- Koike K, et al. *Sialadenitis resembling Sjogren's syndrome in hepatitis C virus envelope gene transgenic mice*. Proc Natl Acad Sci USA 1997; 94: 233-6.
- Pasquinilli C, et al. *Hepatitis C virus core and E2 protein expression in transgenic mice*. Hepatology 1997; 25: 719-27.
- Takamisawa A, Mori C, Fuke I, et al. *Structure and organisation of the hepatitis C virus genome isolated from human carriers*. J Virol 1991; 65: 1105-13.
- Hino O, Kajino K. *Hepatitis virus-related hepatocarcinogenesis*. Intervirology 1994; 37: 133-5.
- Teramoto T, Satonaka K, Kitazawa S, Fujimori T, Hayashi K, Maeda S. *p52 gene abnormalities are closely related to hepatoviral infections and occur at a late stage of hepatocarcinogenesis*. Cancer Res 1994; 54: 231-5.
- Sakamura C, Hagiwara A, Taniguchi H, et al. *Chromosomal aberrations in human hepatocellular carcinomas associated with hepatitis C virus infection detected by comparative genomic hybridization*. Br J Cancer 1999; 80: 2034-9.
- Yoshida H, Shiratori Y, Moriyama M, et al. *Interferon therapy reduces the risk for hepatocellular carcinoma: national surveillance program of cirrhotic and noncirrhotic patients with chronic hepatitis C in Japan*. IHIT Study Group. *Inhibition of Hepatocarcinogenesis by Interferon Therapy*. Ann Intern Med 1999; 131: 174-81.
- Ikeda K, Saitoh S, Arase Y, et al. *Effect on interferon therapy on hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis type C. A long-term observation study of 1,643 patients using statistical bias correction with proportional hazard analysis*. Hepatology 1999; 29: 1124-30.
- Kudo M. *Imaging diagnosis of hepatocellular carcinoma and premalignant/borderline lesions*. Seminars Liver Dis 1999; 19: 297-309.
- Izzo F, Cremona F, Delrio P, et al. *Soluble interleukin-2 receptor levels in hepatocellular cancer: a more sensitive marker than alpha fetoprotein*. Ann Surg Oncol 1999; 6: 178-85.
- Ebara M, Ohto M, Sugiyama N, et al. *Percutaneous ethanol injection for the treatment of small hepatocellular carcinoma. Study of 95 patients*. J Gastroenterol Hepatol 1990; 5: 616-26.

53. Bismuth H, Majno P, Adam R. *Liver transplantation for hepatocellular carcinoma*. Seminars Liver Dis 1999; 19: 311-22.
54. Welch P, Tritz R, Yei S, Leavitt M, Yu M, Barber J. *A potential therapeutic application of harpin ribozymes – in vitro and in vivo studies of gene therapy for hepatitis C virus infection*. Gene Ther 1996; 3: 994-1001.
55. Blum H, Linhart H. *Gene therapy for hepatocellular carcinoma*. Viral Hepatit Rev 1999; 5: 147-57.
56. Guidotti L, Matzake B, Pasquinelli C, Schoenberger J, Rogler C, Chisari F. *The hepatitis B virus (HBV) precore protein inhibits HBV replication in transgenic mice*. J Virol 1996; 70: 7056-61.

**ADRES DO KORESPONDENCJI**

lek. med. **Agnieszka Adamek**  
Oddział Zakaźny ZOZ Poznań Stare Miasto  
ul. Św. Wincentego 2  
61-003 Poznań