Związek alleli HLA DQA1 z przebiegiem zakażenia wirusem zapalenia wątroby typu C oraz skutecznością leczenia przeciwwirusowego u pacjentów pediatrycznych

The relationship between HLA DQA1 alleles with the course of hepatitis C virus infection and as the effectiveness of antiviral treatment in paediatric patients

Ewa Łoś-Rycharska, Anna Szaflarska-Popławska

Katedra i Klinika Pediatrii, Alergologii i Gastroenterologii Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy
Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu

Przegląd Gastroenterologiczny 2010; 5 (1): 31–41

Słowa kluczowe: wirusowe zapalenie wątroby typu C, HLA DQA1.

Key words: viral hepatitis C, HLA DQA1.

Adres do korespondencji: lek. med. Ewa Łoś-Rycharska, Katedra i Klinika Pediatrii, Alergologii i Gastroenterologii Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera, Bydgoszcz, Uniwersytet Mikołaja Kopernika, Toruń, 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: Od kilku lat przedmiotem badań są związki układu HLA z przebiegiem wirusowego zapalenia wątroby typu C oraz ze skutecznością jego leczenia.

Cel: Ustalenie zależności między częstością występowania poszczególnych alleli HLA DQA1 a przebiegiem zakażenia wirusem zapalenia wątroby typu C oraz skutecznością leczenia przeciwwirusowego u pacjentów pediatrycznych.

Materiał i metody: Badaniami objęto 61 osób w wieku 5–18 lat, w tym 51 po leczeniu przeciwwirusowym (interferonem α lub interferonem z ribawiryną) i 10 niezakwalifikowanych do leczenia. U pacjentów przeprowadzono oznaczenia alleli HLA metodą genetyczną na poziomie niskiej, a następnie wysokiej rozdzielczości. Analizowano posiadaną dokumentację medyczną, z uwzględnieniem wyników badań biochemicznych (AIAT) oraz skuteczności leczenia.

Wyniki: Stwierdzono, że u pacjentów niekwalifikowanych do terapii częściej występują allele HLA DQA1*0505 ($p = 0,03$). Wśród pacjentów po przebytym leczeniu przeciwwirusowym allel *0505 częściej występował w grupie osób odpowiadających na terapię ($p = 0,03$ dla odpowiedzi wczesnej). Allel DQA1*01 pojawiał się częściej u chorych z trwałą odpowiedzią na leczenie ($p = 0,09$). HLA DQA1*02 (0201) występował częściej u pacjentów z dobrą wczesną odpowiedzią biochemiczną na leczenie ($p = 0,06$) oraz z dobrą odpowiedzią biochemiczną trwałą.

Wnioski: 1) Stwierdzono zależność przebiegu przewlekłego wirusowego zapalenia wątroby typu C od alleli HLA DQA1. 2) Wykazano zależność między skutecznością leczenia interferonem α oraz interferonem z ribawiryną a allelami HLA DQA1.

Abstract

Introduction: The relationships between the HLA alleles and the course of viral hepatitis C as well effectiveness antiviral treatment have been the object of investigations since several years.

Aim: To settlement of dependence among the frequency of occurrence the individual HLA DQA1 alleles and the course of hepatitis C virus infection as well as the effectiveness of antiviral treatment in paediatric patients.

Material and methods: To the investigations was included 61 patients, in age 5-18 years, in this 51 after treatment antiviral (interferon α or interferon and ribavirin), 10 not treated. In patients genetic method was conducted sign HLA alleles on low level and then high resolution. It the possessed medical records was analyzed the results of biochemical investigations (AIAT) as well as the effectiveness of treatment.

Results: It was affirmed, that in not qualified to treatment patients more often was present allel HLA DQA1*0505 ($p = 0.03$). Among patients after antiviral treatment allel *0505 was more often in persons' group answering on treatment ($p = 0.03$ for early answer). Alleles DQA1*01 were present more often in patients from sustained viral response to treatment ($p = 0.09$). HLA DQA1*02 (0201) were more often in patients with good early biochemical answer to treatment ($p = 0.06$) as well as with good sustained biochemical answer.

Conclusions: 1) It was affirmed the dependence of chronic hepatitis C virus infection course on HLA DQA1 alleles. 2) It is dependence between the effectiveness of antiviral interferon as well as interferon α with ribavirin treatment and HLA DQA1 alleles.

Wstęp

Przewlekłe zapalenie wątroby typu C często, szczególnie u dzieci, przebiega bez charakterystycznych objawów, jednak na przestrzeni lat może prowadzić do poważnych następstw [1]. Leczenie, choć stale udoskonalane, nadal nie jest u wielu chorych skuteczne, a samo stanowi poważne obciążenie dla zdrowia pacjenta ze względu na liczne działania niepożądane i długi czas trwania. Ponadto, jest niezwykle kosztowne, co również ma istotne znaczenie [2–4]. Z tych powodów od lat podejmuje się próby ocenienia, od jakich czynników może zależeć przebieg przewlekłego wirusowego zapalenia wątroby typu C oraz jakie czynniki mogą być istotne dla rokowania co do skuteczności leczenia. Precyzyjne określenie tych czynników być może pozwoli na uniknięcie niepotrzebnej terapii u niektórych pacjentów. Wiadomo, że o przebiegu zakażenia oraz skuteczności jego leczenia decydują cechy samego wirusa, np. jego genotyp. Istotne znaczenie mają jednak również cechy osobnicze zakażonej osoby, w szczególności układ genów dla antygenów zgodności tkankowej (HLA), który odgrywa ważną rolę w kształtowaniu odpowiedzi immunologicznej przeciw wirusowi zapalenia wątroby typu C (*hepatitis C virus* – HCV). W piśmiennictwie najczęściej podnosi się znaczenie antygenów klasy II, przede wszystkim HLA DRB1, HLA DQA1, HLA DQB1, w kontekście podatności na zakażenie, prawdopodobieństwa przejścia w przewlekłe, a także rozwoju aktywnego przewlekłego zapalenia wątroby [5–11]. Antygeny te mogą wpływać nie tylko na sam przebieg choroby wątroby, ale także na występowanie innych chorób związanych z zakażeniem HCV, o charakterze immunologicznym, takich jak krio-globulinemia mieszana, zapalenie stawów czy białkomocz, oraz zaburzenia w zakresie takich czynników, jak składowe dopełniacza, czynnik reumatoidalny i przeciwciała autologiczne różnego typu [8]. Trudniejsze jest udowodnienie związków układu HLA ze skutecznością leczenia, lecz niektórzy autorzy poruszają także i to zagadnienie, twierdząc, że istnieją takie związki [12–15].

Cel

Celem pracy było ustalenie zależności między układem alleli HLA DQA1 a przebiegiem zakażenia HCV oraz skutecznością leczenia przeciwwirusowego u pacjentów pediatrycznych.

Materiał i metody

Badaniami objęto 61 pacjentów znajdujących się pod opieką Katedry i Kliniki Pediatrii, Alergologii i Gastroenterologii *Collegium Medicum* im. Ludwika

Rydygiera w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu (28 osób), III Kliniki Pediatrii Instytutu Centrum Zdrowia Matki Polki w Łodzi (17 chorych), Kliniki Chorób Zakaźnych i Neurologii Dziecięcej Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu (12 pacjentów), Kliniki Pediatrii, Gastroenterologii i Onkologii Akademii Medycznej w Gdańsku (3 osoby), Kliniki Gastroenterologii, Hepatologii i Immunologii Instytutu „Pomnik-Centrum Zdrowia Dziecka” w Warszawie (1 chory) oraz odpowiednich poradni przyklinicznych z powodu przewlekłego wirusowego zapalenia wątroby typu C. Wśród pacjentów 59,01% stanowili chłopcy (36 osób), a 40,09% dziewczęta (25 osób). Średnia wieku badanych wynosiła 13,77 roku (zakres wieku 5–18 lat), leczonych 13,37 roku (zakres 5–18 lat). Leczenie przeciwwirusowe przebyło 51 pacjentów (83,61%), w tym 9 interferonem α w monoterapii w latach 90. ubiegłego wieku, a 42 interferonem z ribawiryną. U 6 osób była to reterapia. Od leczenia upłynęło średnio 3,29 roku (zakres od pół roku do 10 lat). Dziesięciu pacjentów (16,39%) nie kwalifikowało się do leczenia do czasu przeprowadzania niniejszych badań.

Pacjentów podzielono na grupy w zależności od kwalifikacji do leczenia oraz rodzaju trwałej odpowiedzi wirusologicznej, jaką uzyskano w rezultacie terapii (aktualny wynik badania HCV-RNA). Badane grupy scharakteryzowano w tabeli I. Pacjentów podzielono także w zależności od aktywności aminotransferazy alaninowej – AlAT (za wartość prawidłową przyjęto równą lub niższą niż 40 U/l), badanej w przypadku pacjentów bezpośrednio po leczeniu, a u wszystkich – w chwili przeprowadzania niniejszych badań. Wyniki tych badań przedstawiono również w tabeli I.

Na badania uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej. Pacjentom pobierano krew w celu oznaczenia układu HLA (metodą genetyczną na poziomie niskiej, a następnie wysokiej rozdzielczości) oraz wykonania oznaczenia jakościowego HCV-RNA (metoda PCR – *polymerase chain reaction*). Analizowano dokumentację medyczną, z uwzględnieniem rodzaju i czasu leczenia oraz wyników badań molekularnych i biochemicznych, w szczególności badania aktywności AlAT.

W 5 przypadkach udało się oznaczyć tylko jeden allel HLA DQA1. Zakładając, że w tych przypadkach badani mają dwa jednakowe allele, uzupełniono listę o taki sam drugi allel. Wszelkich porównań dokonywano następnie 2-krotnie – dla alleli, które rzeczywiście oznaczono, oraz dla ich układu uzupełnionego przez pozycje domniemane.

Analizując związki alleli HLA DQA1 z przebiegiem zakażenia HCV, porównywano ich rozkład u pacjentów zakwalifikowanych i niezakwalifikowanych do terapii oraz leczonych nieskutecznie i nieleczonych (analiza

Tabela I. Materiał – charakterystyka i liczebność grup**Table I.** Material – the characteristics and number of patients

Oznaczenie grupy	Charakterystyka	Liczba osób	Dostępny wynik ALAT	
			po leczeniu (bezpośrednio)	po upływie przynajmniej pół roku od zakończenia leczenia
1	pacjenci zakażeni HCV, zakwalifikowani do leczenia przeciwwirusowego, którzy uzyskali trwałą odpowiedź wirusologiczną na leczenie (eliminacja wiremii HCV)	20	15	20
2	pacjenci zakażeni HCV, zakwalifikowani do leczenia przeciwwirusowego, którzy nie uzyskali odpowiedzi wirusologicznej na leczenie (pozostają wiremici)	31	24	30
3	pacjenci zakażeni HCV, niezakwalifikowani do leczenia przeciwwirusowego	10	–	10
1 + 2	wszyscy pacjenci, zakażeni HCV, zakwalifikowani do leczenia przeciwwirusowego, w tym 23 z dobrą wczesną odpowiedzią na leczenie, 28 nieodpowiadających	51	39	50
2 + 3	pacjenci zakażeni HCV, leczeni nieskutecznie lub niezakwalifikowani do leczenia, z aktualnie stwierdzaną wiriemią HCV	41	–	40
1 + 2 + 3	wszyscy badani, pacjenci zakażeni HCV, leczeni lub niezakwalifikowani do leczenia	61	–	60

Tabela II. Rozkład alleli HLA w analizowanych grupach – oznaczenia metodą genetyczną na poziomie niskiej rozdzielczości**Table II.** HLA alleles in analysed groups – the genetic method of investigation, low resolution level

Grupa	DQA1*								Razem	Analiza statystyczna (wartość <i>p</i>)
	–	01	02	03	04	05	06			
allele oznaczone										
1	<i>n</i>	3	18	7	2	0	10	0	40	1 vs 2 vs 3: 0,13 1 + 2 vs 3: 0,67 1 vs 2: 0,03 2 vs 3: 0,14
	%	7,50	45,00	17,50	5,00	0,00	25,00	0,00	100	
2	<i>n</i>	0	19	10	9	3	20	1	62	
	%	0,00	30,65	16,13	14,52	4,84	32,26	1,61	100	
1 + 2	<i>n</i>	3	37	17	11	3	30	1	102	
	%	2,94	36,27	16,67	10,78	2,94	29,41	0,98	100	
3	<i>n</i>	2	9	2	2	0	5	0	20	
	%	10,00	45,00	10,00	10,00	0,00	25,00	0,00	100	
razem	<i>n</i>	5	46	19	13	3	35	1	122	
allele domniemane										
1	<i>n</i>	–	19	8	2	0	11	0	40	1 vs 2 vs 3: 0,36 1 + 2 vs 3: 0,78 1 vs 2: 0,13 2 vs 3: 0,58
	%	–	47,50	20,00	5,00	0,00	27,50	0,00	100	
2	<i>n</i>	–	19	10	9	3	20	1	62	
	%	–	30,65	16,13	14,52	4,84	32,26	1,61	100	
1 + 2	<i>n</i>	–	38	18	11	3	31	1	102	
	%	–	37,25	17,65	10,78	2,94	30,39	0,98	100	
3	<i>n</i>	–	9	2	2	0	7	0	20	
	%	–	45,00	10,00	10,00	0,00	35,00	0,00	100	
razem	<i>n</i>	–	47	20	13	3	38	1	122	

Tabela III. Rozkład alleli HLA w analizowanych grupach – oznaczenia metodą genetyczną na poziomie wysokiej rozdzielczości
Table III. HLA alleles in analysed groups – the genetic method of investigation, high resolution level

Grupa	DQA1*																		Razem	Analiza statystyczna (wartość p)		
	–	0101	0102	0103	0104	0105	0201	0301	030101	0302	0303	0401	0501	050101	050102	050201	0505	0601				
allele oznaczone																						
1	n	3	5	7	7	5	0	1	7	0	0	1	1	0	3	0	0	1	6	0	40	1 vs 2 vs 3: 0,08 1 + 2 vs 3: 0,46 1 vs 2: 0,03 2 vs 3: 0,07
	%	7,50	12,50	17,50	17,50	12,50	0,00	0,00	17,50	0,00	0,00	2,50	2,50	0,00	7,50	0,00	0,00	2,50	15,00	0,00	100	
2	n	0	6	7	4	4	1	1	10	3	4	0	2	3	10	2	2	0	6	1	62	
	%	0,00	9,68	11,29	6,45	6,45	1,61	1,61	16,13	4,84	6,45	0,00	3,23	4,84	16,13	3,23	3,23	0,00	9,68	1,61	100	
1 + 2	n	3	11	14	9	1	2	17	3	4	1	3	3	3	13	2	2	1	12	1	102	
	%	2,94	10,78	13,73	8,82	0,98	1,96	16,67	2,94	3,92	0,98	2,94	2,94	2,94	12,75	1,96	1,96	0,98	11,76	0,98	100	
3	n	2	1	3	3	1	1	2	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	5	0	20	
	%	10,00	5,00	15,00	15,00	5,00	5,00	10,00	5,00	0,00	0,00	5,00	5,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	25,00	0,00	100	
razem	n	5	12	17	12	2	3	19	4	4	1	4	3	13	2	2	1	17	1	122		
allele domniemane																						
1	n	–	5	7	6	0	1	8	0	0	1	1	0	3	0	0	1	7	0	40	1 vs 2 vs 3: 0,09 1 + 2 vs 3: 0,35 1 vs 2: 0,07 2 vs 3: 0,1	
	%	–	12,50	17,50	15,00	0,00	2,50	20,00	0,00	0,00	2,50	2,50	0,00	7,50	0,00	0,00	2,50	17,50	0,00	100		
2	n	–	6	7	4	1	1	10	3	4	0	2	3	10	2	2	0	6	1	62		
	%	–	9,68	11,29	6,45	1,61	1,61	16,13	4,84	6,45	0,00	3,23	4,84	16,13	3,23	3,23	0,00	9,68	1,61	100		
1 + 2	n	–	11	14	10	1	2	18	3	4	1	3	3	13	2	2	1	13	1	102		
	%	–	10,78	13,73	9,80	0,98	1,96	17,65	2,94	3,92	0,98	2,94	2,94	12,75	1,96	1,96	0,98	12,75	0,98	100		
3	n	–	1	3	3	1	1	2	1	0	0	1	0	0	0	0	0	7	0	20		
	%	–	5,00	15,00	15,00	5,00	5,00	10,00	5,00	0,00	0,00	5,00	5,00	0,00	0,00	0,00	0,00	35,00	0,00	100		
razem	n	–	12	17	13	2	3	20	4	4	1	4	3	13	2	2	1	20	1	122		

Tabela IV. Aktywność ALAT u pacjentów z wiremią HCV a rozkład antygenów HLA DQA1* badanych metodą genetyczną na poziomie niskiej rozdzielczości**Table IV.** ALAT activity in patients with HCV viraemia and HLA DQA1* alleles by genetic method, low resolution level

Allele	Aktywność AIAT	DQA1*								Razem	Analiza statystyczna (wartość <i>p</i>)
		–	01	02	03	04	05	06			
oznaczone	norma	<i>n</i>	0	8	6	2	1	10	1	28	0,23
		%	0,00	28,57	21,43	7,14	3,57	35,71	3,57	100	
	wzrost	<i>n</i>	2	20	5	9	2	14	0	52	
		%	3,85	38,46	9,62	17,31	3,85	26,92	0,00	100	
	razem	<i>n</i>	2	28	11	11	3	24	1	80	
domniemane	norma	<i>n</i>	–	8	6	2	1	10	1	28	0,3
		%	–	28,57	21,43	7,14	3,57	35,71	3,57	100	
	wzrost	<i>n</i>	–	20	5	9	2	16	0	52	
		%	–	38,46	9,62	17,31	3,85	30,77	0,00	100	
	razem	<i>n</i>	–	28	11	11	3	26	1	80	

wyłącznie w grupie pacjentów aktualnie wiremicznych), a także u pacjentów z prawidłową i podwyższoną aktywnością ALAT (tylko w grupie pacjentów aktualnie zakażonych). W analizie związku HLA DQA1 ze skutecznością leczenia przeciwwirusowego porównywano pod tym kątem pacjentów z dobrą wczesną wirusologiczną odpowiedzią na leczenie i bez takiej odpowiedzi, pacjentów z trwałą odpowiedzią wirusologiczną i po przebytych nieskutecznym leczeniu. Analiza objęła także odpowiedź biochemiczną na leczenie zdefiniowaną jako normalizację ALAT (bezpośrednio po leczeniu i w czasie odległym – wykonywania niniejszych badań).

Do przeprowadzenia analizy istotności statystycznej różnic zastosowano test chi kwadrat (χ^2) największej wiarygodności. Za istotne statystycznie przyjęto takie różnice, gdzie wartość p była mniejsza niż 0,05. Z uwagi na duży rozmiar stworzonych tabel wielodzielczych i małe liczebności w niektórych przedziałach, zaznaczające się zależności, także przy braku istotności statystycznej w tabelach wielodzielczych, przeanalizowano dodatkowo (liczność danego allele w opozycji do wszystkich pozostałych w grupie) z zastosowaniem testu χ^2 , natomiast w przypadkach małych liczebności – z poprawką Yatesa. Ze względu na znaczną liczbę tych porównań w pracy przedstawiono tylko te, które wykazały zależności statystycznie istotne lub takim bliskie.

Wyniki

Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic pod względem rozkładu HLA DQA1 badanych na poziomie niskiej rozdzielczości między wszystkimi pacjentami zakwalifikowanymi do leczenia przeciwwirusowego

a niezakwalifikowanymi ani między pacjentami z aktualnie stwierdzaną wiremią HCV wcześniej leczonymi i pacjentami niekwalifikowanymi do leczenia. Wyniki te przedstawiono w tabeli II. Na poziomie wysokiej rozdzielczości stwierdzono natomiast, że układ alleli tego locus różni się w sposób bliski istotnemu statystycznie między pacjentami po nieskutecznym leczeniu i osobami niekwalifikowanymi do terapii – u pacjentów niekwalifikowanych częściej występuje allel HLA DQA1*0103, *0505, a rzadziej *0501, *0201. Dokładne wyniki tej analizy zaprezentowano w tabeli III. Szczegółowa analiza w zakresie układu alleli domniemanych wykazała ponadto statystycznie istotną różnicę dla allele HLA DQA1*0505; występuje on statystycznie istotnie częściej u pacjentów niekwalifikowanych do leczenia ($p = 0,03$). Nie stwierdzono żadnych zależności statystycznie istotnych między pacjentami z wiremią HCV po nieskutecznym leczeniu przeciwwirusowym i osobami niekwalifikowanymi do leczenia w zakresie układu antygenów i alleli HLA DQA1. Dokładne wyniki tej analizy przedstawiono w tabelach IV i V.

W analizie alleli HLA DQA1 badanych na poziomie niskiej rozdzielczości nie odnotowano statystycznie istotnej zależności wczesnej odpowiedzi wirusologicznej od układu tych antygenów. W analizie alleli badanych na poziomie wysokiej rozdzielczości stwierdzono natomiast zależność statystycznie istotną, przy czym u pacjentów z dobrą odpowiedzią wczesną rzadziej występował allel *030101, a częściej *0102, lecz największe różnice dotyczyły allele *0505, który rzadziej występował w grupie osób nieodpowiadających na leczenie, przy czym analiza indywidualna dla tego allele potwierdziła silne

Tabela V. Aktywność AIAT a rozkład alleli HLA DQA1* badanych metodą genetyczną na poziomie wysokiej rozdzielczości
Table V. AIAT activity in patients with HCV viraemia and HLA DQA1* alleles by genetic method, high resolution level

Aktywność AIAT	DQA1*															Razem	Analiza statystyczna (wartość p)
	–	0101	0102	0103	0104	0105	0201	0301	030101	0303	0401	0501	050101	050102	0601		
allele oznaczone																	
norma n	0	3	4	1	0	0	6	0	1	1	1	4	1	1	4	1	28
%	0,00	10,71	14,29	3,57	0,00	0,00	21,43	0,00	3,57	3,57	3,57	14,29	3,57	3,57	14,29	3,57	100
wzrost n	2	4	6	6	2	2	5	4	3	2	2	5	1	1	7	0	52
%	3,85	7,69	11,54	11,54	3,85	3,85	9,62	7,69	5,77	3,85	3,85	9,62	1,92	1,92	13,46	0,00	100
razem n	2	7	10	7	2	2	11	4	4	3	3	9	2	2	11	1	80
allele domniemane																	
norma n	–	3	4	1	0	0	6	0	1	1	1	4	1	1	4	1	28
%	–	10,71	14,29	3,57	0,00	0,00	21,43	0,00	3,57	3,57	3,57	14,29	3,57	3,57	14,29	3,57	100
wzrost n	–	4	6	6	2	2	5	4	3	2	2	5	1	1	9	0	52
%	–	7,69	11,54	11,54	3,85	3,85	9,62	7,69	5,77	3,85	3,85	9,62	1,92	1,92	17,31	0,00	100
razem n	–	7	10	7	2	2	11	4	4	3	3	9	2	2	13	1	80

Tabela VI. Wczesna odpowiedź wirusologiczna na leczenie a rozkład alleli HLA DQA1* badanych metodą genetyczną na poziomie niskiej rozdzielczości
Table VI. Early virological response to treatment and HLA DQA1* alleles by genetic method, low resolution

Allele	HCV-RNA bezpośrednio po leczeniu	DQA1*						Razem	Analiza statystyczna (wartość p)	
		–	01	02	03	04	05			06
oznaczone	dodatni	1	19	10	7	3	15	1	56	0,39
	%	1,79	33,93	17,86	12,50	5,36	26,79	1,79	100	
	ujemny	2	18	7	4	0	15	0	46	
	%	4,35	39,13	15,22	8,70	0,00	32,61	0,00	100	
	razem	3	37	17	11	3	30	1	102	
domniemane	dodatni	–	20	10	7	3	15	1	56	0,33
	%	–	35,71	17,86	12,50	5,36	26,79	1,79	100	
	ujemny	–	18	8	4	0	16	0	46	
	%	–	39,13	17,39	8,70	0,00	34,78	0,00	100	
	razem	–	38	18	11	3	31	1	102	

zależności (p na poziomie 0,06, a po uwzględnieniu alleli domniemanych – na poziomie 0,03). Dokładne wyniki tej analizy zaprezentowano w tabelach VI i VII.

Stwierdzono statystycznie istotną różnicę w rozkładzie alleli HLA DQA1 badanych na poziomie niskiej rozdzielczości między pacjentami z trwałą odpowiedzią wirusologiczną na terapię i osobami, które nie odpowiedziały na terapię. Najwyraźniejsze różnice dotyczą allele *01, który występuje częściej u pacjentów odpowiadających na leczenie, oraz *03 pojawiającego się częściej u pacjentów nieodpowiadających na terapię. Indywidualna analiza poszczególnych alleli, z uwzględnieniem domniemanych, wykazała różnicę bliską istotności statystycznej dla antygeny *01 ($p = 0,09$). Dokładne wyniki tej analizy przedstawiono w tabeli II. Także analiza porównawcza układu alleli badanych na poziomie wysokiej rozdzielczości wykazała istotne statystycznie różnice, najbardziej zaznaczone dla alleli *0102, *0103 i *0505, występujących częściej u pacjentów po skutecznym leczeniu, oraz *0501 spotykanego częściej u pacjentów nieodpowiadających na terapię. Żadnej z różnic nie potwierdzono w analizie indywidualnej dla poszczególnych alleli. Dokładne wyniki tej analizy przedstawiono w tabeli III.

Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic pod względem rozkładu alleli HLA w zakresie badanego locus między pacjentami z dobrą odpowiedzią biochemiczną na leczenie przeciwwirusowe i pacjentami, u których – mimo terapii – utrzymywała się podwyższona aktywność AlAT. Indywidualna analiza poszczególnych alleli wykazała natomiast różnice bliskie statystycznie istotnym dla HLA DQA1*02 (0201), który występuje częściej u pacjentów z dobrą odpowiedzią biochemiczną na leczenie (dla odpowiedzi wcześniej $p = 0,08$, a po uwzględnieniu w analizie alleli domniemanych $p = 0,06$, dla odpowiedzi później i po uwzględnieniu alleli domniemanych $p = 0,1$). Dokładne wyniki tej analizy przedstawiono w tabelach VIII i IX.

Omówienie

Istnieje znaczna liczba doniesień o związku przebiegu zakażenia HCV z występowaniem poszczególnych alleli HLA, zwłaszcza klasy II, w tym HLA DQA1* [5–7, 9, 11, 16]. Zespół badaczy niemieckich, porównując pacjentów z przewlekłym wirusowym zapaleniem wątroby typu C z grupą kontrolną, stwierdził, że allel HLA DQA1*0103 odnotowuje się częściej u osób niezakażonych [9]. Wysłano więc wniosek o protekcyjnym jego charakterze w stosunku do zakażenia i rozwoju aktywnego zapalenia wątroby. Wyniki uzyskane w badaniach własnych są zbieżne z tymi obserwacjami, ponieważ ustalono, że allel HLA DQA1*0103 występuje częściej u pacjentów niekwalifikowanych

Tabela VII. Wczesna odpowiedź wirusologiczna na leczenie a rozkład alleli HLA DQA1* badanych metodą genetyczną na poziomie wysokiej rozdzielczości
Table VII. Early virological response to treatment and HLA DQA1* alleles by genetic method, high resolution

HCV-RNA bezpośrednio po leczeniu	HLA DQA1*																	Razem statystyczna (wartość p)	Analiza	
	–	0101	0102	0103	0104	0105	0201	0301	030101	0302	0303	0401	0501	050101	050102	050201	0505			0601
	allele oznaczone																			
dotatni	n	1	7	6	4	1	1	10	3	4	0	0	3	8	2	2	0	3	1	56
	%	1,79	12,50	10,71	7,14	1,79	1,79	17,86	5,36	7,14	0,00	0,00	5,36	14,29	3,57	3,57	0,00	5,36	1,79	100
ujemny	n	2	4	8	5	0	1	7	0	0	1	3	0	5	0	0	1	9	0	46
	%	4,35	8,70	17,39	10,87	0,00	2,17	15,22	0,00	0,00	2,17	6,52	0,00	10,87	0,00	0,00	2,17	19,57	0,00	100
razem	n	3	11	14	9	1	2	17	3	4	1	3	3	13	2	2	1	12	1	102
allele domniemane																				
dotatni	n	–	7	6	5	1	1	10	3	4	0	0	3	8	2	2	0	3	1	56
	%	–	12,50	10,71	8,93	1,79	1,79	17,86	5,36	7,14	0,00	0,00	5,36	14,29	3,57	3,57	0,00	5,36	1,79	100
ujemny	n	–	4	8	5	0	1	8	0	0	1	3	0	5	0	0	1	10	0	46
	%	–	8,70	17,39	10,87	0,00	2,17	17,39	0,00	0,00	2,17	6,52	0,00	10,87	0,00	0,00	2,17	21,74	0,00	100
razem	n	–	11	14	10	1	2	18	3	4	1	3	3	13	2	2	1	13	1	102

Tabela VIII. Rozkład antygenów HLA DQA1* oznaczonych metodą genetyczną na poziomie niskiej rozdzielczości a odpowiedź biochemiczna po leczeniu

Table VIII. HLA DQA1* alleles by genetic method, low resolution level, and biochemical response to treatment

Rodzaj odpowiedzi biochemicznej	Allele	Aktywność AIAT	DQA1*								Razem	Analiza statystyczna (wartość p)
			–	01	02	03	04	05	06			
wczesna	oznaczone	norma	n	2	17	13	7	1	9	1	50	0,15
			%	4,00	34,00	26,00	14,00	2,00	18,00	2,00	100	
		wzrost	n	0	12	2	3	1	10	0	28	
			%	0,00	42,86	7,14	10,71	3,57	35,71	0,00	100	
		razem	n	2	29	15	10	2	19	1	78	
	domniemane	norma	n	–	18	14	7	1	9	1	50	0,15
			%	–	36,00	28,00	14,00	2,00	18,00	2,00	100	
		wzrost	n	–	12	2	3	1	10	0	28	
			%	–	42,86	7,14	10,71	3,57	35,71	0,00	100	
		razem	n	–	30	16	10	2	19	1	78	
odległa	oznaczone	norma	n	3	21	12	4	1	16	1	58	0,16
			%	5,17	36,21	20,69	6,90	1,72	27,59	1,72	100	
		wzrost	n	0	16	4	7	2	13	0	42	
			%	0,00	38,10	9,52	16,67	4,76	30,95	0,00	100	
		razem	n	3	37	16	11	3	29	1	100	
	domniemane	norma	n	–	22	13	4	1	17	1	58	0,26
			%	–	37,93	22,41	6,90	1,72	29,31	1,72	100	
		wzrost	n	–	16	4	7	2	13	0	42	
			%	–	38,10	9,52	16,67	4,76	30,95	0,00	100	
		razem	n	–	38	17	11	3	30	1	100	

do leczenia, a więc takich, u których trudno mówić o aktywnym zapaleniu wątroby.

Vejbaesya i wsp. stwierdzili, że allele HLA DQA1*0102 spotyka się częściej u pacjentów z przetrwałym zakażeniem HCV w porównaniu z grupą z przejściowym zakażeniem, jednak różnice te nie były istotne statystycznie [11]. W badaniach własnych nie uwidoczniło w tym zakresie także istotnych różnic.

Zavaglia i wsp. określali podłoże immunogenetyczne przewlekłego zapalenia wątroby typu C w zakresie HLA klasy II [5]. Analizowali wrażliwość na rozwój przewlekłego zakażenia oraz nasilenia histologicznych zmian w wątrobie. Porównywali ze sobą grupę osób z przewlekłym zapaleniem wątroby typu C, ze zmianami histologicznymi (99 pacjentów), pacjentów będących bezobjawowymi nosicielami wirusa C zapalenia wątroby, z prawidłową aktywnością aminotransferaz (41 osób) oraz grupę kontrolną (179 osób). Stwierdzili, że w analizie porównawczej częstości poszczególnych alleli nie ma istotnych różnic, jednak haplotyp HLA DQA1*0201-DQB1*0201 występuje częściej u pacjentów chorych w porównaniu z grupą kontrolną, z kolei haplotyp

DRB1*1104-DQA1*0501-DQB1*0301 występuje u nich rzadziej w porównaniu zarówno z grupą kontrolną, jak i z bezobjawowymi nosicielami wirusa. Wyszuli więc wnioski, że – być może – pierwszy z tych haplotypów ma znaczenie predysponujące, a drugi protekcyjne w stosunku do rozwoju przewlekłego zapalenia wątroby typu C. Obserwacje te nie w pełni pokrywają się z poczynionymi przez zespół autorów tej publikacji, ponieważ allel HLA DQA1*0201 wchodzący w skład opisywanego haplotypu o znaczeniu „predysponującym” do rozwoju choroby występował rzadziej u pacjentów dotąd niekwalifikowanych do leczenia, czyli w grupie odpowiadającej grupie „nosicieli wirusa” z opisywanych badań. Badacze tajscy dowiedli, że allel HLA DQA1*0201 występuje rzadziej u pacjentów zakażonych HCV (zarówno takich, którzy wyeliminowali wirusa, jak i tych z przetrwałym zakażeniem) w porównaniu z grupą kontrolną [11]. Obserwacja ta nawiązuje do poczynionej w badaniach własnych i może wskazywać na protekcyjny charakter allele.

Z kolei brytyjscy badacze spośród alleli HLA klasy II locus DQA1 stwierdzili związek przebiegu zakażenia

Tabela IX. Rozkład alleli HLA DQA1* oznaczonych metodą genetyczną na poziomie wysokiej rozdzielczości a odpowiedź biochemiczna po leczeniu
Table IX. HLA DQA1* alleles by genetic method, high resolution level, and biochemical response to treatment

Aktywność AIAT	DQA1*																Analiza						
	–		0101	0102	0103	0104	0105	0201	0301	030101	0302	0303	0401	0501	050101	050102	050201	0505	0601	Razem	statystyczna (wartość p)		
bezo- średnio po	norma	n	2	6	7	4	0	0	13	2	1	1	3	1	3	0	0	0	6	1	50	0,1	
	%	4,00	12,00	14,00	8,00	0,00	0,00	26,0	4,00	2,00	2,00	6,00	2,00	6,00	0,00	0,00	0,00	0,00	12,00	2,00	100		
	wzrost	n	0	4	4	3	0	1	2	1	2	0	0	1	3	2	2	1	2	0	28		
	%	0,00	14,29	14,29	10,71	0,00	3,57	7,14	3,57	7,14	0,00	0,00	0,00	3,57	10,71	7,14	7,14	3,57	7,14	0,00	100		
	razem	n	2	10	11	7	0	1	15	3	3	1	3	2	6	2	2	1	8	1	78		
lecze- niu	norma	n	–	6	7	5	0	0	14	2	1	1	3	1	3	0	0	0	6	1	50	0,1	
	%	–	12,00	14,00	10,00	0,00	0,00	28,0	4,00	2,00	2,00	6,00	2,00	6,00	0,00	0,00	0,00	0,00	12,00	2,00	100		
	wzrost	n	–	4	4	3	0	1	2	1	2	0	0	1	3	2	2	1	2	0	28		
	%	–	14,29	14,29	10,71	0,00	3,57	7,14	3,57	7,14	0,00	0,00	0,00	3,57	10,71	7,14	7,14	3,57	7,14	0,00	100		
	razem	n	–	10	11	8	0	1	15	3	3	1	3	2	6	2	2	1	8	1	78		
po mini- mum	norma	n	3	8	7	5	0	1	12	0	1	1	2	1	6	1	1	1	0	8	1	58	0,22
	%	5,17	13,79	12,07	8,62	0,00	1,72	20,69	0,00	1,72	1,72	3,45	1,72	10,34	1,72	1,72	1,72	0,00	13,79	1,72	100		
	wzrost	n	0	3	7	4	1	1	4	3	3	0	1	2	6	1	1	1	4	0	42		
	%	0,00	7,14	16,67	9,52	2,38	2,38	9,52	7,14	7,14	0,00	2,38	4,76	14,29	2,38	2,38	2,38	9,52	0,00	100			
	razem	n	3	11	14	9	1	2	16	3	4	1	3	3	12	2	2	1	12	1	100		
pół roku	norma	n	–	8	7	6	0	1	13	0	1	1	2	1	6	1	1	1	0	9	1	58	0,29
	%	–	13,79	12,07	10,34	0,00	1,72	22,41	0,00	1,72	1,72	3,45	1,72	10,34	1,72	1,72	1,72	0,00	15,52	1,72	100		
	wzrost	n	–	3	7	4	1	1	4	3	3	0	1	2	6	1	1	1	4	0	42		
	%	–	7,14	16,67	9,52	2,38	2,38	9,52	7,14	7,14	0,00	2,38	4,76	14,29	2,38	2,38	2,38	9,52	0,00	100			
	razem	n	–	11	14	10	1	2	16	3	4	1	3	3	12	2	2	1	13	1	100		

HCV z allelem *03 [6]. Do analizy włączyli 49 pacjentów, u których nastąpiła spontaniczna eliminacja wirerii, 55 pacjentów z przewlekłym zakażeniem HCV oraz 134 osoby zdrowe jako grupę kontrolną. HLA DQA1*03 występował częściej u osób po samoistnej eliminacji wirerii. Tibbs i wsp., inna grupa brytyjskich badaczy, również stwierdziła ochronny wpływ posiadania m.in. allelela HLA DQA1*03 w stosunku do wrażliwości na przewlekłe zakażenie HCV [7]. Badacze ci porównywali ponad 100-osobową grupę pacjentów z przewlekłym zakażeniem HCV z grupą kontrolną składającą się z osób zdrowych. Do badań własnych autorzy nie włączyli grupy kontrolnej, nie było też w badanej grupie osób, u których doszło do samoistnej eliminacji wirusa. Z tego powodu trudno o porównanie z obserwacjami autorów niniejszego opracowania, z których wynika, że allele *03 występowały porównywalnie często u pacjentów zakwalifikowanych do leczenia i niezakwalifikowanych, o łagodnym przebiegu zakażenia. U tych ostatnich, jak wykazała analiza alleli zbadanych w wysokiej rozdzielczości, obserwowano niewielką, nieistotną statystycznie przewagę *0301 i *0303. Tajscy autorzy stwierdzili, że allele HLA DQA1*0301 występują z większą częstością u pacjentów, u których doszło do eliminacji wirerii, w porównaniu z przewlekłe zakażonymi, chociaż różnica również nie była statystycznie istotna [11].

Badacze z Chin w opublikowanych w ostatnich latach badaniach stwierdzili zależność przebiegu zakażenia HCV z antygenami zgodności tkankowej klasy II [10]. Analizowali oni grupę liczącą 145 pacjentów przewlekłe zakażonych HCV, w tym pacjentów ze stale prawidłową aktywnością ALAT, pacjentów z hipertransaminazemią, a także do badań włączyli grupę kontrolną. Stwierdzili, że allele HLA DQA1*0501 występują częściej u pacjentów z prawidłową aktywnością ALAT w porównaniu z pacjentami z podwyższoną aktywnością tego enzymu. W porównaniu z grupą kontrolną częstość ta była większa także w grupie pacjentów z prawidłową aktywnością ALAT. Badacze ci uznali więc, że allele te wydają się związane z niską aktywnością zapalenia wątroby. Zavaglia i wsp. stwierdzili, że haplotyp DRB1*1104-DQA1*0501-DQB1*0301 może mieć znaczenie protekcyjne w stosunku do rozwoju przewlekłego zapalenia wątroby typu C [5]. Także wyniki badań koreańskich wskazują na rzadsze występowanie omawianego allelela u pacjentów przewlekłe zakażonych HCV w porównaniu z grupą kontrolną [16]. Są to wyniki odmienne od uzyskanych w badaniach własnych, ponieważ zespół autorów niniejszej publikacji ustalił, że u pacjentów niekwalifikowanych do leczenia, a więc z niską aktywnością choroby wątroby z allelela HLA DQA1*05 częściej występuje *0505, a rzadziej *0501.

Analizowaną przez autorów pracy grupę stanowili pacjenci pediatryczni, a przez badaczy chińskich – dorośli. Wątpliwe jednak, czy tym można wytłumaczyć obserwowane rozbieżności uzyskanych wyników badań. Bardziej prawdopodobne jest, że rolę mogą tu odgrywać różnice środowiskowo-geograficzno-rasowe. Thio i wsp. udowodnili, że czynniki rasowe mają istotny wpływ na różnice obserwowane w zakresie układu HLA i ich znaczenie dla odpowiedzi immunologicznej na zakażenie HCV [17]. Nasuwa się wniosek, że związki HLA DQA1*05 z przebiegiem zakażenia HCV powinny być poddane analizie w grupie z większą liczbą pacjentów.

Rzadziej stwierdzano także związki układu antygenów zgodności tkankowej, zwłaszcza klasy II, ze skutecznością leczenia wirusowego zapalenia wątroby typu C [12–15, 18–20]. Wawrzynowicz-Syczewska i wsp. w analizie przeprowadzonej w grupie polskich pacjentów stwierdzili, że z dobrą odpowiedzią na leczenie interferonem α wiąże się obecność haplotypu DRB1*0701-DQA1*0201-DQB1*02 [14]. Osobno żaden z alleli tego zestawu nie występował istotnie częściej w porównywanych grupach. Co ciekawe, stwierdzono także, że ten sam haplotyp występuje częściej u pacjentów z przewlekłym wirusowym zapaleniem wątroby w porównaniu z grupą kontrolną składającą się z osób zdrowych. W badaniach własnych nie stwierdzono zależności odpowiedzi wirusologicznej na leczenie od alleli HLA DQA1*0201, choć po uwzględnieniu alleli domniemyanych z II *locus* występowały one z bardzo niewielką przewagą częstości u pacjentów z dobrą odpowiedzią trwałą, natomiast znaleziono związek z odpowiedzią biochemiczną na leczenie zarówno wczesną, jak i odległą w czasie.

Airoidi i wsp. przeprowadzili szeroko zakrojone pod względem analizy genetycznej (aż 7 analizowanych *locus* układu HLA) badania, w których porównywali częstość alleli HLA między pacjentami z przewlekłym zapaleniem wątroby typu C, którzy nie odpowiedzieli na leczenie, i pacjentami leczonymi skutecznie [12]. Łącznie analizą objęto 82 osoby. Wykazano, że allel DQA1*0505 występuje z większą częstością u pacjentów z dobrą trwałą odpowiedzią na leczenie interferonem α , chociaż różnica nie była statystycznie istotna.

Na podstawie wyników badań własnych ustalono, że wspomniany allel występuje częściej u pacjentów z dobrą wczesną odpowiedzią wirusologiczną na leczenie oraz z nieznaczną przewagą u pacjentów z odpowiedzią trwałą. Są to więc wyniki zbieżne z obserwacjami włoskich badaczy.

Wnioski

Stwierdzono zależności:

- 1) przebiegu przewlekłego wirusowego zapalenia wątroby typu C od alleli HLA DQA1; u pacjentów nie-

kwalifikowanych do leczenia częściej występowały allele HLA DQA1*0505 ($p = 0,03$);

- 2) między skutecznością terapii interferonem α oraz interferonem z ribawiryną a allelami HLA DQA1; allel DQA1*0505 częściej występował w grupie osób odpowiadających na leczenie ($p = 0,03$ dla odpowiedzi wczesnej); allel DQA1*01 spotykano częściej u pacjentów z trwałą odpowiedzią na leczenie ($p = 0,09$); HLA DQA1*02 (0201) pojawiał się częściej u pacjentów z dobrą wczesną odpowiedzią biochemiczną na leczenie ($p = 0,06$) oraz z dobrą odpowiedzią biochemiczną trwałą.

Niniejsza praca była finansowana w ramach realizacji projektu KBN 2 P05E 084 26.

Piśmiennictwo

1. Bortolotti F, Verucchi G, Cammà C, et al. Long-term course of chronic hepatitis C in children: from viral clearance to end-stage liver disease. *Gastroenterology* 2008; 134: 1900-7.
2. Figlerowicz M, Kowala-Piaskowska A, Mozer-Lisewska I i wsp. Samoistna i wspomagana terapią eliminacja HCV z surowicy dzieci z przewlekłym zapaleniem wątroby typu C. *Pediatr Pol* 2006; 81: 265-9.
3. Kowala-Piaskowska A, Stuzewski W, Figlerowicz M, et al. Early virological response in children with chronic hepatitis C treated with pegylated interferon and ribavirin. *Infection* 2007; 35: 175-9.
4. Jara P, Hierro L, de la Vega A, et al. Efficacy and safety of peginterferon-alpha2b and ribavirin combination therapy in children with chronic hepatitis C infection. *Pediatr Infect Dis J* 2008; 27: 142-8.
5. Zavaglia C, Martinetti M, Silini E, et al. Association between HLA class II alleles and protection from or susceptibility to chronic hepatitis C. *J Hepatol* 1998; 28: 1-7.
6. Cramp ME, Carucci P, Underhill J, et al. Association between HLA class II genotype and spontaneous clearance of hepatitis C viraemia. *J Hepatol* 1998; 29: 207-13.
7. Tibbs C, Donaldson P, Underhill J, et al. Evidence that the HLA DQA1*03 allele confers protection from chronic HCV-infection in Northern European Caucasoids. *Hepatology* 1996; 24: 1342-5.
8. Congia M, Clemente MG, Dessi C, et al. HLA class II genes in chronic hepatitis C virus-infection and associated immunological disorders. *Hepatology* 1996; 24: 1338-41.
9. Höhler T, Gerken G, Notghi A, et al. MHC class II genes influence the susceptibility to chronic active hepatitis C. *J Hepatol* 1997; 27: 259-64.
10. Yu RB, Hong X, Ding WL, et al. The association between the genetic polymorphism of HLA-DQA1, DQB1, and DRB1 and serum alanine aminotransferase levels in chronic hepatitis C in the Chinese population. *J Gastroenterol Hepatol* 2008; 23: 1394-402.
11. Vejbaesya S, Songsivilai S, Tanwandee T, et al. HLA association with hepatitis C virus infection. *Hum Immunol* 2000; 61: 348-53.
12. Airoidi A, Zavaglia C, Silini E, et al. Lack of strong association between HLA class II, tumour necrosis factor and transporter associated with antigen processing gene polymorphisms and virological response to alpha-interferon treatment in patients with chronic hepatitis C. *Eur J Immunogenet* 2004; 31: 259-65.
13. Corghi DB, Gonçalves NS, Marques SB, Gonçalves Jr FL. Distribution of the human leucocyte antigen class II alleles in Brazilian patients with chronic hepatitis C virus infection. *Braz J Med Biol Res* 2008; 41: 884-9.
14. Wawrzynowicz-Syczewska M, Underhill JA, Clare MA, et al. HLA class II genotype associated with chronic hepatitis C virus infection and response to alpha-interferon treatment in Poland. *Liver* 2000; 20: 234-9.
15. Sim H, Wójcik J, Margulies M, et al. Response to interferon therapy: influence of human leucocyte antigen alleles in patients with chronic hepatitis C. *J Viral Hepat* 1998; 5: 249-53.
16. Yoon SK, Han JY, Pyo CW, et al. Association between human leukocytes antigen alleles and chronic hepatitis C virus infection in the Korean population. *Liver Int* 2005; 25: 1122-7.
17. Thio CL, Thomas DL, Goedert JT, et al. Racial differences in HLA class II associations with hepatitis C virus outcomes. *J Infect Dis* 2001; 184: 16-21.
18. Piekarska A, Woszczek G, Sidorkiewicz M, Kuydowicz J. Antygeny zgodności tkankowej klasy II a odpowiedź na leczenie interferonem α -2b przewlekłego zapalenia wątroby typu C. *Przegl Epidemiol* 2002; 56: 123-8.
19. Almarri A, Dwick NE, Al Kabi S, et al. Interferon-alpha therapy in HCV hepatitis: HLA phenotype and cirrhosis are independent predictors of clinical outcome. *Hum Immunol* 1998; 59: 239-42.
20. Yu ML, Dai CY, Chen SC, et al. Human leukocyte antigen class I and II alleles and response to interferon-alpha treatment, in Taiwanese patients with chronic hepatitis C virus infection. *J Infect Dis* 2003; 188: 62-5.