

Wirus zapalenia wątroby typu C jako stymulator autoprzeciwciał we wczesnym okresie życia dzieci zakażonych wertykalnie

Hepatitis C virus as autoimmunity stimulator in young children with HCV vertical infection

STRESZCZENIE

Zakażenie wirusem zapalenia wątroby typu C (HCV) wykazuje związek ze stymulacją procesów autoimmunologicznych. Oceniano częstość występowania niespecyficznych narządowo autoprzeciwciał (NOSA) u 19 dzieci zakażonych wertykalnie HCV, dotychczas nieleczonych. Autoprzeciwciała wykryto u 10 spośród 19 dzieci (52,6%); przeciwciała przeciw mięśniom gładkim (SMA) — u 3; przeciwciała przeciwjądrowe (ANA) — u 3; przeciwciała przeciw mikrosomom wątroby i nerki (LKM-1) — u 4. Średnia aktywność aminotransferazy alaninowej (ALT) u pacjentów z NOSA(+) — 77,17 j.m./l, u pacjentów NOSA(–) — 51,72 j.m./l. Stężenie γ -globulin w obu grupach było prawidłowe. Badanie histopatologiczne biopsji wątroby wykonano u 2 dzieci z NOSA(+), u 1 z NOSA(–). Nie stwierdzono cech histologicznych procesu autoimmunizacyjnego w wątrobie.

Dzieci zakażone wertykalnie HCV będą leczone interferonem α i rybawiryną. Interferon α może indukować procesy autoimmunizacyjne. Pacjenci, szczególnie z NOSA(+), powinni podczas terapii podlegać ścisłemu nadzorowi i częstym badaniom kontrolnym, które pozwolą jak najszybciej wyodrębnić pacjentów uaktywniających proces autoimmunizacyjny.

Forum Medycyny Rodzinnej 2011, tom 5, nr 6, 485–490

słowa kluczowe: wirus zapalenia wątroby typu C (HCV), autoprzeciwciała, dzieci, zakażenie wertykalne

ABSTRACT

Hepatitis C virus (HCV) infection is associated with autoimmunity stimulation.

The prevalence of autoantibodies non-organ-specific (NOSA) was investigated in 19 vertically HCV infected, previously untreated children. NOSA were found in 10 of 19

Małgorzata Aniszewska^{1, 2},
Barbara Kowalik-Mikołajewska^{1, 2},
Maria Pokorska-Lis^{1, 2},
Bożena Walewska-Zielecka³,
Magdalena Marczyńska^{1, 2}

¹Klinika Chorób Zakaźnych Wieków Dziecięcego, Warszawski Uniwersytet Medyczny

²Oddział XI, Wojewódzki Szpital Zakaźny w Warszawie

³Katedra i Zakład Zdrowia Publicznego, Wydział Nauki o Zdrowiu, Warszawski Uniwersytet Medyczny

Adres do korespondencji:

dr n. med. Małgorzata Aniszewska
Klinika Chorób Zakaźnych
Wieków Dziecięcego WUM
ul. Wolska 37
01–201 Warszawa
e-mail: malgorzata.aniszewska@wum.edu.pl

HCV jest uznawany za jeden z istotnych czynników aktywujących procesy autoimmunizacyjne

WSTĘP

Wirus zapalenia wątroby typu C (HCV, *hepatitis C virus*) jest uznany za jeden z istotnych czynników aktywujących procesy autoimmunizacyjne. Zaburzona aktywność immunologiczna organizmu może przejawiać się obecnością autoprzeciwciał specyficznych narządowo (np. skierowanych przeciw tarczycy) oraz niespecyficznych narządowo (NOSA, *non-organ-specific autoantibodies*). Autoprzeciwciała niespecyficzne narządowo:

- mogą być wykrywane u osób bez objawów klinicznych i laboratoryjnych choroby autoimmunizacyjnej;
- towarzyszą lub wyprzedzają pojawienie się objawowej choroby autoimmunizacyjnej (np. autoimmunizacyjne zapalenie wątroby, pierwotna marskość żółciowa, choroby tkanki łącznej);
- występują w zespołach nakładania (np. przewlekłe HCV + autoimmunizacyjne zapalenie wątroby).

Celem pracy jest ocena wpływu HCV na wzbudzenie procesów autoimmunizacyjnych u dzieci zakażonych wertykalnie oraz porównanie przebiegu przewlekłego wirusowego zapalenia wątroby typu C (WZW C)

(52.6%) children: anti-smooth muscle antibody (ASMA) — in 3, antinuclear antibody (ANA) — in 3, anti-liver/kidney microsomal antibody (LKM-1) — in 4. The mean ALT activity in patients NOSA(+) — 77,17 IU/l, in patients NOSA(–) — 51,72 IU/L. Gamma-globulin level was within the normal range. Liver biopsy was performed in 2 children NOSA(+) and 1 NOSA(–). There were no typical histological findings of autoimmune hepatitis.

Vertically HCV infected children will be treated with interferon-alpha and ribavirin. Interferon-alpha may induce autoimmunity. Patients, especially NOSA(+), should be followed up at close intervals with frequent controls of autoimmune process and liver function during treatment.

Forum Medycyny Rodzinnej 2011, vol 5, no 6, 485–490

key words: hepatitis C virus (HCV), autoantibodies, NOSA, children, vertical transmission

u dzieci z autoprzeciwciałami i bez autoprzeciwciał.

MATERIAŁ I METODY

W latach 1998–2010 w Klinice Chorób Zakaźnych Wiekii Dziecięcego badaniem objęto 19 dzieci zakażonych wertykalnie HCV, bez koinfekcji HIV, w tym 7 dziewczynek, 12 chłopców, dotychczas nieleczonych. Zakażenie HCV było rozpoznane na podstawie dwukrotnego wykrycia HCV-RNA w surowicy krwi w 1. roku życia (pierwsze badanie wykonano w 1., drugie w 2. półroczu życia) przy użyciu testów komercyjnych RT-PCR (test *Abbott Real Time HCV* z zakresem liniowości pomiaru $12-1 \times 10^8$ j.m./ml). Siedemnaścioro dzieci miało oznaczony genotyp HCV (test LiPA, VERSANT), w tym genotyp 1a — stwierdzono u 1 dziecka, 1b — u 15, 3a — u 1 dziecka. U 2 wiremii była zbyt niska do oznaczenia genotypu. U żadnego pacjenta nie potwierdzono koinfekcji wirusa wątroby typu B (HBV, *hepatitis B virus*). Okres obserwacji wynosił 4–13 lat (średnio 5,7 roku). Pacjentów kontrolowano co 6–12 miesięcy. Oznaczano przeciwciała: przeciwdrożdżowe (ANA, *antinuclear autoantibody*), przeciwmityochondrialne (AMA, *antimito-*

chondrial autoantibody), przeciw mięśniom gładkim (ASMA, *anti-smooth muscle autoantibody*), przeciw mikrosomom nerki i wątroby (anty-LKM, *liver-kidney mikrosomal autoantibody*) — metodą immunofluorescencji pośredniej. Badano aktywność aminotransferazy alaninowej (ALT, *alanine aminotransferase*), bilirubiny, stężenie proteinogramu, hormonów tarczycy: tyreotropowego (TSH, *thyroid-stimulating hormone*) i wolnej tyroksyny 4 (FT4, *free thyroxine 4*) przy użyciu testów komercyjnych oraz USG jamy brzusznej. U 3 chłopców, w wieku 8, 9, 13 lat, wykonano biopsję cienkoigłową wątroby i oceniono obraz histopatologiczny przy użyciu skali Knodella: stan zapalny (G, *grading*) — zakres 0–18 punktów, włóknienie (S, *staging*) — zakres 0–4 punktów.

WYNIKI

Niespecyficzne narządowo autooprzeciwiac w wykryto u 10 dzieci (10/19 — 52,6%), w tym u 5 z 7 badanych dziewczynek i 5 z 12 chłopców. U wszystkich NOSA(+) pojawiły się między 2. a 4. rokiem życia. Niespecyficzne narządowo autooprzeciwiac tylko w jednym oznaczeniu stwierdzono u 5 dzieci, co najmniej dwukrotnie u 5 (w tym u 4 w każdym badaniu od momentu wykrycia). Obecność autooprzeciwiac LKM w mianie 1:20–1:320 wykryto u 4 dzieci, ANA w mianie 1:40–1:2560 u 3, SMA w mianie 1:20–1:320 u 3. Rodzaje NOSA obecne u badanych dzieci przedstawia tabela 1. U żadnego pacjenta nie stwierdzono obecności więcej niż jednego rodzaju autooprzeciwiac.

Analizowano pojawianie się autooprzeciwiac w zależności od genotypu HCV. Wyniki przedstawia tabela 2. Piętnaścioro dzieci było zakażonych genotypem 1b, wśród nich u 8 (8/15 — 53,3%) potwierdzono obecność NOSA. Ponadto NOSA wykryto u 1 pacjenta zakażonego genotypem 1a oraz u 1 z 2 dzieci z wiremią zbyt niską do oceny genotypu wirusa.

Tabela 1

Rodzaje autooprzeciwiac obecne u badanych dzieci

Rodzaj	Miano	Liczba dzieci
LKM	1:20–1:320	4
ANA	1:40–1:2560	3
ASMA	1:20–1:320	3

LKM (*liver kidney microsomes*) — przeciwiac przeciwko mikrosomom nerki i wątroby; ANA (*antinuclear autoantibody*) — autooprzeciwiac przeciwjądrowe; ASMA (*anti-smooth muscle autoantibody*) — przeciwiac przeciw mięśniom gładkim

Tabela 2

Obecność autooprzeciwiac w zależności od genotypu wirusa zapalenia wątroby typu C (HCV)

Genotyp	Autooprzeciwiac		Razem
	+	-	
1a	1	0	1
1b	8	7	15
3a	0	1	1
Nieoznaczalny (niska wiremia)	1	1	2
Razem	10	9	19

Aktywność ALT była prawidłowa w każdym oznaczeniu u 7/19 dzieci (36,8%), w tym 2/10 z NOSA(+), 5/9 bez NOSA(-). Aktywność ALT była podwyższona co najmniej w jednym badaniu u 12/19 pacjentów (63,1%), w tym u 8/10 NOSA(+), u 4/9 NOSA(-). Żadne dziecko nie miało trwale podwyższonych aktywności ALT. Pojawienie się autooprzeciwiac nie korelowało ze wzrostem aktywności ALT. Średnia aktywność ALT w grupie NOSA(+) wynosiła 77,17 j.m./l (zakres 28–246 j.m./l), NOSA(-) — 51,72 j.m./l (zakres 25–255 j.m./l).

U żadnego pacjenta nie stwierdzono hiperbilirubinemii, hipergammaglobulinemii, zaburzeń hormonów tarczycy, klinicznych cech choroby autoimmunizacyjnej.

Ocena histopatologiczna bioptatu wątroby dokonana u 3 chłopców zakażonych



Częstość występowania autooprzeciwiac w populacji osób zdrowych oceniana jest na 6–10% i narasta z wiekiem



W grupie zakażonych wertykalnie HCV obecność NOSA stwierdzono u 52,6% dzieci

wertykalnie HCV (w tym u 2 z NOSA, 1 bez NOSA) potwierdziła stan zapalny (G) oraz włóknienie (S) odpowiednio: G5,S2; G1,S1; G5,S1, bez cech procesu autoimmunizacyjnego w wątrobie.

DYSKUSJA

Mechanizm oddziaływania HCV na układ immunologiczny człowieka jest wielokierunkowy i w wielu aspektach niewyjaśniony. W zakresie stymulacji autoprzeciwciał dominuje teoria mimikry molekularnej. Stwierdzono częściowe podobieństwo biochemiczne między strukturami wirusa HCV a cytochromem P450 IID6, docelowym antygenem dla przeciwciał przeciw LKM-1 [1–3]. Znaczenie może mieć także połączenie regionu E2 otoczki wirusa z receptorem CD81. Pobudzenie receptora zapoczątkowuje nie tylko proces proliferacji limfocytów B ale także obniża ich próg aktywacji, co może być odpowiedzialne za stymulację produkcji autoprzeciwciał u osób przewlekle zakażonych HCV [4].

W populacji osób zdrowych częstość występowania autoprzeciwciał oceniana jest na 6–10% i narasta z wiekiem. Bardziej narażona jest płeć żeńska (co potwierdzają obserwacje własne). Powszechnie znana jest istotna rola uwarunkowań genetycznych, w tym układu zgodności tkankowej (HLA, *human leucocyte antigen system*) w aktywacji procesów autoimmunizacyjnych [1, 4]. Zagadnień tych nie analizowano w ramach omawianego badania. **W grupie zakażonych wertykalnie HCV obecność NOSA stwierdzono u 52,6% dzieci.** Wyniki badań pochodzące z innych opracowań charakteryzują się dużą rozpiętością danych: autoprzeciwciała wykryto u 19–80% dzieci zakażonych HCV [5, 6]. Tak duże różnice mogą wynikać z zastosowania przez część badaczy norm odpowiednich dla pacjentów dorosłych, co prowadzi do odrzucenia wyników nisko-dodatnich, istotnych w ocenie populacji dziecięcej [5]. Odsetek dzieci z autoprzeciwciałami był wyższy, gdy

badanie wykonywano wielokrotnie u każdego pacjenta. W pracy własnej wśród 10 dzieci, u których wykryto NOSA, u 5 wynik badania był pozytywny tylko w 1 oznaczeniu, u 5 w co najmniej 2 oznaczeniach, w tym u 1 dziecka wyniki pozytywne pojawiały się na przemian z negatywnymi. Ocena konsekwencji klinicznych okresowej obecności autoprzeciwciał wymaga długofalowej obserwacji.

W omawianej grupie dzieci większość stanowiły zakażone HCV genotypem 1b (15/19 dzieci). Wśród nich u 8/15 stwierdzono obecność autoprzeciwciał. Niespecyficzne narządowo autoprzeciwciała wykryto u ponadto u 1 dziecka zakażonego genotypem 1a oraz u 1 z genotypem nieoznaczalnym. W danych z piśmiennictwa nie wykazano związku pomiędzy genotypem wirusa a ryzykiem stymulacji autoprzeciwciał [3, 7].

Istnieją poglądy, że ryzyko pojawienia się autoprzeciwciał wzrasta wraz z czasem trwania zakażenia i nasileniem zmian zapalnych w wątrobie [4]. Z kolei stymulacja jawnego klinicznie procesu autoimmunizacyjnego może zaostrzyć przebieg przewlekłego WZW C i pogłębić uszkodzenie wątroby. **U dzieci w omawianej grupie zakażonych wertykalnie HCV ujawniła się obecność NOSA pomiędzy 2. a 4. rokiem życia; nie miały objawów klinicznych choroby wątroby.** Średnia aktywność aminotransferaz w grupie z NOSA(+) była nieznacznie wyższa niż w grupie NOSA(–), jednak bez znamienności statystycznej. W grupie NOSA(–) było więcej dzieci niewykazujących odchyleń od normy w badaniach oceniających funkcję wątroby w ciągu całej obserwacji.

Nie stwierdzono zależności pomiędzy pojawieniem się autoprzeciwciał a stanem przedmiotowym pacjenta, zaostrzeniem zapalenia wątroby w badaniach laboratoryjnych. U żadnego z 19 obserwowanych dzieci nie stwierdzono podwyższonego stężenia gammaglobulin. U 3 chłopców (w tym u 2 z autoprzeciwciałami) wykonano bada-

nie histopatologiczne biopsji wątroby, które nie ujawniło zmian typowych dla procesu autoimmunizacyjnego [8]. Tym samym w badanej grupie pacjentów nie rozpoznano współistnienia przewlekłego WZW C i autoimmunizacyjnego zapalenia wątroby, w ramach zespołu nakładania, pomimo wykrycia charakterystycznych autoprzeciwciał: anty-LKM, ANA, SMA. Podobne obserwacje podają inni autorzy [7]. U pacjentów zakażonych HCV najczęściej pojawiają się SMA (10–55%), anty-LKM (u dzieci 11–18%, u dorosłych 2–6%), ANA (u dzieci 7–10%, u dorosłych 12–21%) [2, 5, 7]. Klinicznie jawny przebieg AIH u zakażonych HCV dotyczy najczęściej pacjentów z wykrywalnymi przeciwciałami anty-LKM-1 (AIH typ II) [2, 5, 9, 10].

Zapadalność na AIH w Europie szacuje się na około 0,1–1,9/100 000/rok [1]. Współistnienie przewlekłego WZW C oraz AIH przyspiesza destrukcję wątroby i stanowi istotny problem terapeutyczny [9]. **Wdrożenie leczenia interferonem, który w terapii skojarzonej z rybawiryną jest leczeniem z wyboru przewlekłego HCV, może zaostrzyć przebieg AIH, doprowadzając w krótkim okresie do znacznego zaawansowania zmian, w tym do marskości wątroby.** W przypadkach dominacji procesu autoimmunizacyjnego w zespołach nakładania należy wdrożyć leczenie immunosupresyjne, licząc

się z nasileniem replikacji HCV. Żadne z dzieci z omawianej grupy nie było dotychczas poddane leczeniu przeciwwirusowemu.

Pacjenci zakażeni HCV, u których wykrywane są autoprzeciwciała bez innych cech (klinicznych, histopatologicznych i laboratoryjnych) choroby autoimmunizacyjnej powinni podczas terapii przewlekłego WZW C podlegać ścisłemu nadzorowi i regularnym badaniom kontrolnym, które pozwolą jak najszybciej wyodrębnić pacjentów uaktywniających proces autoimmunizacyjny. Dane na temat uaktywnienia procesów autoimmunizacyjnych u pacjentów NOSA(+) w trakcie leczenia interferonem nie są jednoznaczne [6, 11, 12].

PODSUMOWANIE

1. W obserwowanej grupie dzieci zakażonych wertykalnie HCV stwierdzono znaczną częstość występowania autoprzeciwciał już we wczesnym okresie życia.
2. Nie towarzyszyły temu kliniczne, laboratoryjne i histopatologiczne objawy choroby autoimmunizacyjnej.
3. Dzieci, u których wykryto autoprzeciwciała, wymagają szczególnej uwagi w trakcie leczenia interferonem i rybawiryną przewlekłego HCV ze względu na możliwą dodatkową stymulację procesów autoimmunizacyjnych.



Dzieci, u których wykryto autoprzeciwciała, wymagają szczególnej uwagi w trakcie leczenia interferonem i rybawiryną przewlekłego WZW C, ze względu na możliwą dodatkową stymulację procesów autoimmunizacyjnych

PIŚMIENNICTWO

1. Woźniak M. Autoimmunizacyjne zapalenie wątroby u dzieci. *Pediatrics po Dyplomie* (wyd. spec.) 2010; 24–28.
2. Jabłońska J., Zabek J., Kozłowska J., Cianciara J. Zaburzenia immunologiczne u chorych z przewlekłym wirusowym zapaleniem wątroby typu C. *Przegl. Epidemiol.* 2001; 55: 459–464.
3. Muratori L., Parola M., Ripalti A. Liver/kidney microsomal antibody type 1 targets CYP2D6 on hepatocyte plasma membrane. *Gut* 2000; 46: 553–561.
4. Muratori P., Muratori L., Stroffolini T. Prevalence of non-organ specific autoantibodies in HCV-infected subjects in the general population. *Clin. Exp. Immunol.* 2003; 131: 118–121.
5. Gregorio G.V., Pensati P., Iorio R. Autoantibody prevalence in children with liver disease due to chronic hepatitis C virus (HCV) infection. *Clin. Exp. Immunol.* 1998; 112: 471–476.
6. Gora-Gebka M., Liberek a., Bako W.: Autoimmunity in children with chronic hepatitis C treated

- with interferon alpha and ribavirin. *Med. Wieku Rozwoj.* 2004; 8: 383–393.
7. Badiani R.G., Becker V., Perez R.M. Is autoimmune hepatitis a frequent finding among HCV patients with intense interface hepatitis? *World J. Gastroenterol.* 2010; 16 (29): 3704–3708.
 8. De Biasio M.B., Periolo N., Avagnina A. Liver infiltrating mononuclear cells in children with type 1 autoimmune hepatitis. *J. Clin. Pathology* 2006; 59: 417–423.
 9. Bortolotti F., Verucchi G., Camma C. Long-term course of chronic Hepatitis C in children: from viral clearance to end-stage liver disease. *Gastroenterology* 2008; 134: 1900–1907.
 10. Iorio R., Giannattasio A., Sepe A. Chronic Hepatitis C in children: an 18-year experience. *CID* 2005; 41: 1431–1437.
 11. Gehring S., Kullmer U., Koepplmann S. Prevalence of autoantibodies and the risk of autoimmune thyroid disease in children with chronic hepatitis C virus infection treated with interferon-alpha. *World J. Gastroenterol.* 2006; 12 (36): 5787–5792.
 12. Muratori P., Muratori L., Verucchi G. Non-organ-specific autoantibodies in children with chronic hepatitis C: clinical significance and impact on interferon treatment. *Clin. Infectious Dis.* 2003; 37: 1320–1326.