

ΑΠΟ ΤΗΝ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΗ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ,
ΤΟ ΗΠΑΤΟΛΟΓΙΚΟ ΙΑΤΡΕΙΟ ΚΑΙ ΤΟ
ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ
ΤΟΥ ΙΑΤΡΙΚΟΥ ΤΜΗΜΑΤΟΣ
ΤΟΥ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

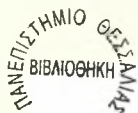
Δ/ντής: Καθηγητής Ν. Σταθάκης

ΔΗΜΟΓΡΑΦΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΣΘΕΝΩΝ
ΜΕ ΧΡΟΝΙΑ ΛΟΙΜΩΞΗ ΑΠΟ ΤΟΝ ΙΟ ΤΗΣ
ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ Β ΣΤΗΝ ΠΕΡΙΟΧΗ ΤΗΣ
ΚΕΝΤΡΙΚΗΣ ΕΛΛΑΔΑΣ

Άγγελος Κ. Στέφος
Ιατρός, Ειδικευόμενος Παθολογίας

Διδακτορική Διατριβή που υποβλήθηκε στο Ιατρικό Τμήμα του
Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Λάρισα 2007



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗΣ & ΠΛΗΡΟΦΟΡΗΣΗΣ
ΕΙΔΙΚΗ ΣΥΛΛΟΓΗ «ΓΚΡΙΖΑ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ»

Αριθ. Εισ.: 7818/1
Ημερ. Εισ.: 26-11-2009
Δωρεά: Π.Θ.
Ταξιθετικός Κωδικός: Δ
616.362 300 949 54
ΣΤΕ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ



004000083834



ΑΠΟ ΤΗΝ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΗ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ,
ΤΟ ΗΠΑΤΟΛΟΓΙΚΟ ΙΑΤΡΕΙΟ ΚΑΙ ΤΟ
ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ
ΤΟΥ ΙΑΤΡΙΚΟΥ ΤΜΗΜΑΤΟΣ
ΤΟΥ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

Δ/ντής: Καθηγητής Ν. Σταθάκης

ΔΗΜΟΓΡΑΦΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΣΘΕΝΩΝ
ΜΕ ΧΡΟΝΙΑ ΛΟΙΜΩΞΗ ΑΠΟ ΤΟΝ ΙΟ ΤΗΣ
ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ Β ΣΤΗΝ ΠΕΡΙΟΧΗ ΤΗΣ
ΚΕΝΤΡΙΚΗΣ ΕΛΛΑΔΑΣ

Άγγελος Κ. Στέφος
Ιατρός, Ειδικευόμενος Παθολογίας

Διδακτορική Διατριβή που υποβλήθηκε στο Ιατρικό Τμήμα του
Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Λάρισα 2007

Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από το Ιατρικό Τμήμα του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα (Νόμος 5343, άρθρο 202, παράγραφος 2)

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Σταθάκης Νικόλαος, Καθηγητής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Νταλέκος Ν. Γεώργιος, Αναπληρωτής Καθηγητής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

(Επιβλέπων)

Στεφανίδης Ιωάννης, Επίκουρος Καθηγητής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Επταμελής Εξεταστική Επιτροπή

Σταθάκης Νικόλαος, Καθηγητής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Κουκούλης Γεώργιος, Καθηγητής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Γουργουλιάνης Κωνσταντίνος, Καθηγητής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Νταλέκος Ν. Γεώργιος, Αναπληρωτής Καθηγητής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Στεφανίδης Ιωάννης, Επίκουρος Καθηγητής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Χατζηχριστοδούλου Χρήστος, Επίκουρος Καθηγητής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Ρηγοπούλου Ειρήνη, Λέκτορας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

ΠΡΟΛΟΓΟΣ	6
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	9
Ηπατίτιδα Β	10
1. Κεφάλαιο 1^ο	10
1.1. Οργάνωση του γονιδιώματος του HBV	10
1.2. Πολλαπλασιασμός του HBV	16
1.3. Μεταλλαγές του HBV	23
1.4. Γονότυποι του HBV	31
2. Κεφάλαιο 2^ο	34
2.1. Επιδημιολογία της λοίμωξης από τον HBV	34
2.2. Η κατάσταση στην Ελλάδα	36
2.3. Μετάδοση του HBV	40
2.4. Ομάδες υψηλού κινδύνου λοίμωξης από τον HBV	45
3. Κεφάλαιο 3^ο	47
3.1. Εργαστηριακή διάγνωση της λοίμωξης από τον HBV	47
3.1.1. Αιματολογικός και βιοχημικός έλεγχος	48
3.1.2. Ορολογικός και ιολογικός έλεγχος της λοίμωξης από τον HBV	49
3.1.3. Βιοψία ήπατος	60
3.1.4. Διαγνωστικός αλγόριθμος για τη διάγνωση της λοίμωξης από τον HBV	62
4. Κεφάλαιο 4^ο	65
4.1. Φυσική ιστορία της λοίμωξης από τον HBV	65
4.2. Ανοσοπαθογένεια της λοίμωξης	65
4.3. Οξεία ηπατίτιδα Β. Εξέλιξη σε χρονιότητα	68
4.4. Φάσεις της χρόνιας ηπατίτιδας Β	69
4.4.α. Φάση της ανοχής	71
4.4.β. Φάση της κάθαρσης ή ορομετατροπής του HBeAg σε αντί-HBe	71
4.4.γ. Φάση της ενσωμάτωσης	73
4.4.δ. Φάση της ενεργοποίησης (επαναδραστηριοποίησης)	75
4.5. Χρόνια ηπατίτιδα Β και ηπατοκυτταρικός καρκίνος (ΗΚΚ)	78
4.6. Οξεία έξαρση χρόνιας ηπατίτιδας Β	81
4.7. Χρόνια ηπατίτιδα Β και άλλοι ηπατοτρόποι ιοί	83
4.8. Χρόνια ηπατίτιδα Β και χρήση οινόπνευματος	85
5. Κεφάλαιο 5^ο	87
5.1 Προφύλαξη κατά του HBV	87
5.2. Παθητική ανοσοποίηση κατά του HBV	88
5.3. Ενεργητική ανοσοποίηση κατά του HBV	89
5.4. Αποτελεσματικότητα προγραμμάτων μαζικού εμβολιασμού κατά του HBV	99
6. Κεφάλαιο 6^ο	101
6.1. Θεραπεία	101
6.2. Ιντερφερόνη άλφα (IFN-α)	104

6.3.	Επίδραση της θεραπείας με IFN-α στη φυσική πορεία της HBeAg (+) και HBeAg (-)/αντί-HBe (+) χρόνιας ηπατίτιδας Β	110
6.4.	Νουκλεοσιτιδικά ανάλογα	113
6.4.1.	Λαμβουδίνη	114
6.4.2.	Αντίσταση στη λαμβουδίνη	119
6.4.3.	Αδεφοβίρη	120
6.4.4.	Φαμσικλοβίρη	121
6.4.5.	Άλλοι νουκλεοσιδικοί παράγοντες	123
6.4.6.	L-Νουκλεοσίδια	124
6.5.	Θεραπευτικά εμβόλια	124
6.6.	Συνδυασμός θεραπευτικών παρεμβάσεων	125
Βιβλιογραφία		131
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ		183
ΔΗΜΟΓΡΑΦΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΧΡΟΝΙΑ ΛΟΙΜΩΞΗ ΑΠΟ ΤΟΝ ΙΟ ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ Β ΣΤΗΝ ΠΕΡΙΟΧΗ ΤΗΣ ΚΕΝΤΡΙΚΗΣ ΕΛΛΑΔΑΣ		184
1.	Εισαγωγή	185
2.	Ασθενείς και μέθοδοι	188
2.1.1.	Ασθενείς	188
2.1.2.	Γεωγραφική κατανομή της χρόνιας λοίμωξης από τον HBV	200
2.2.	Στατιστική ανάλυση	201
3.	Αποτελέσματα	202
4.	Συζήτηση	230
Βιβλιογραφία		241
Περίληψη και συμπεράσματα		249
Summary and conclusions		253

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η ηπατίτιδα Β είναι ένα παγκόσμιο πρόβλημα υγείας. Ενδημεί στην Ασία, την Αφρική, τη Νότια Ευρώπη και τη Λατινική Αμερική, όπου γενικά ο επιπολασμός του HBsAg στο γενικό πληθυσμό κυμαίνεται από 2-20%. Περίπου 2 δισεκατομμύρια άνθρωποι, γύρω στο 1/3 του πληθυσμού της γης, έχουν ορολογικούς δείκτες προηγούμενης ή συνεχιζόμενης λοίμωξης από τον HBV. Οι «σιωπηλοί φορείς» του ιού αποτελούν μία διαρκή δεξαμενή διασποράς της μόλυνσης, αλλά και οι ίδιοι κινδυνεύουν από τις μακροχρόνιες επιπλοκές της λοίμωξης. Παγκοσμίως οι 350.000.000 ασθενείς με χρόνια λοίμωξη από τον HBV έχουν ετήσιο κίνδυνο ανάπτυξης ηπατικής νόσου σχετιζόμενης με τον HBV 15–25%. Κάθε χρόνο συμβαίνουν περίπου 1.500.000 – 2.000.000 θάνατοι, που οφείλονται περισσότερο στις μακροχρόνιες επιπλοκές της χρόνιας ηπατίτιδας Β (κίρρωση, πυλαία υπέρταση, ΗΚΚ) παρά στις αντίστοιχες πρώιμες της οξείας λοίμωξης. Στις Η.Π.Α., καταγράφονται περίπου 300.000 νέα κρούσματα ηπατίτιδας Β κάθε χρόνο.

Η χώρα μας παρουσιάζει ενδιάμεση ενδημικότητα λοίμωξης από τον HBV. Ο επιπολασμός της λοίμωξης κυμαίνεται από 0,33% σε παιδιά που κατοικούν σε αγροτικές περιοχές και 0,41%-0,85% σε πληθυσμό εθελοντών αιμοδοτών μέχρι 2,9% μεταξύ εγκύων και 22% σε πληθυσμό μεταναστών από τη νότια Αλβανία. Η ανάλυση του επιπολασμού της ηπατίτιδας Β στην Ελλάδα είναι δύσκολη, γιατί: α) υπάρχουν μεγάλες διακυμάνσεις ακόμα και σε γειτονικές περιοχές, β) υπάρχουν διαφορές ανάλογα με την ηλικιακή σύνθεση των εξεταζόμενων πληθυσμών. Γι' αυτό απαιτούνται μελέτες με μεγάλο δείγμα και ευρεία ηλικιακή κατανομή, επί

πολλά έτη και σε όλες τις περιοχές της Ελλάδας, αφού ακόμα και σήμερα για μερικές περιφέρειες της χώρας δεν υπάρχουν καθόλου στοιχεία.

Στην παρούσα μελέτη καταγράφηκαν για πρώτη φορά τα δημογραφικά χαρακτηριστικά της χρόνιας λοίμωξης από τον HBV στην Κεντρική Ελλάδα. Πιο αναλυτικά στο γενικό μέρος: α) δίδεται αναλυτικά η δομή του ιού της ηπατίτιδας Β, β) περιγράφονται τα επιδημιολογικά χαρακτηριστικά της χρόνιας λοίμωξης από τον HBV παγκόσμια αλλά και στην Ελλάδα, γ) αναφέρονται οι εργαστηριακές τεχνικές διάγνωσης της χρόνιας ηπατίτιδας Β, δ) παρατίθεται η φυσική ιστορία της νόσου, ε) γίνεται αναφορά στην προφύλαξη κατά του HBV και στ) αναλύονται τα μέχρι τώρα δεδομένα για τη θεραπεία της χρόνιας λοίμωξης από τον HBV. Στο ειδικό μέρος παρουσιάζεται: α) το πρότυπο της λοίμωξης από τον HBV στην Κεντρική Ελλάδα (ηλικία, φύλο, παράγοντες κινδύνου, κύριος τρόπος μετάδοσης, διάρκεια λοίμωξης), β) η γεωγραφική κατανομή της χρόνιας λοίμωξης από τον HBV σε αυτό το τμήμα του Ελλαδικού χώρου.

Τα παραπάνω αναμένεται να συμβάλλουν στην καλύτερη ανάδειξη του προβλήματος της χρόνιας λοίμωξης από τον HBV στην Κεντρική Ελλάδα. Επιπλέον, η λεπτομερής αποτύπωση της γεωγραφικής κατανομής της χρόνιας λοίμωξης από τον HBV είναι εξαιρετικά σημαντική από επιδημιολογικής άποψης, γιατί τα αποτελέσματα μπορούν να χρησιμοποιηθούν από τις κεντρικές υπηρεσίες υγείας προς την κατεύθυνση της πρόληψης-παρέμβασης και της σωστής αγωγής υγείας.

Για την εκπόνηση της διατριβής και την ολοκλήρωσή της υπήρξε πολύτιμη βοήθεια από πολλούς στους οποίους εκφράζω τη βαθιά μου ευγνωμοσύνη. Θα ήθελα να ευχαριστήσω τα μέλη της τριμελούς επιτροπής τον Καθηγητή κ. Σταθάκη και τον Επίκουρο Καθηγητή κ. Στεφανίδη για τις πολύτιμες παρατηρήσεις τους από το σχεδιασμό μέχρι την ολοκλήρωση

της διατριβής. Ιδιαίτερα θα αναφερθώ στο δάσκαλό μου Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Νταλέκο για την υπομονετική και γεμάτη έμπνευση καθοδήγησή του καθώς και για την αμέριστη συμπαράσταση στην εκπόνηση της διατριβής. Είμαι επίσης ευγνώμων στον Επίκουρο Καθηγητή κ. Χατζηχριστοδούλου για τις ουσιώδεις κατευθύνσεις σχετικά με τη στατιστική ανάλυση της μελέτης καθώς και για τη μύηση στον κόσμο της επιδημιολογίας. Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω τους συνεργάτες του κ. Νταλέκου στην Πανεπιστημιακή Παθολογική κλινική και το Ειδικό Ηπατολογικό Ιατρείο, και ιδιαίτερα την επιβλέπουσά μου στην κλινική κα. Ρηγοπούλου για τη σημαντική βοήθειά τους στην ακριβή συλλογή των δεδομένων και την παρουσίαση της διατριβής.

Τέλος, θέλω να ευχαριστήσω τη σύζυγό μου για την ηθική συμπαράσταση, την υπομονετική προσέγγιση και τη γεμάτη κατανόηση συμπεριφορά της σε όλη τη διάρκεια της συλλογής των δεδομένων, της στατιστικής επεξεργασίας των αποτελεσμάτων και της συγγραφής.

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ Β

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

1. Ο ΙΟΣ ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ Β (HBV)

1.1. ΟΡΓΑΝΩΣΗ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΟΣ ΤΟΥ HBV

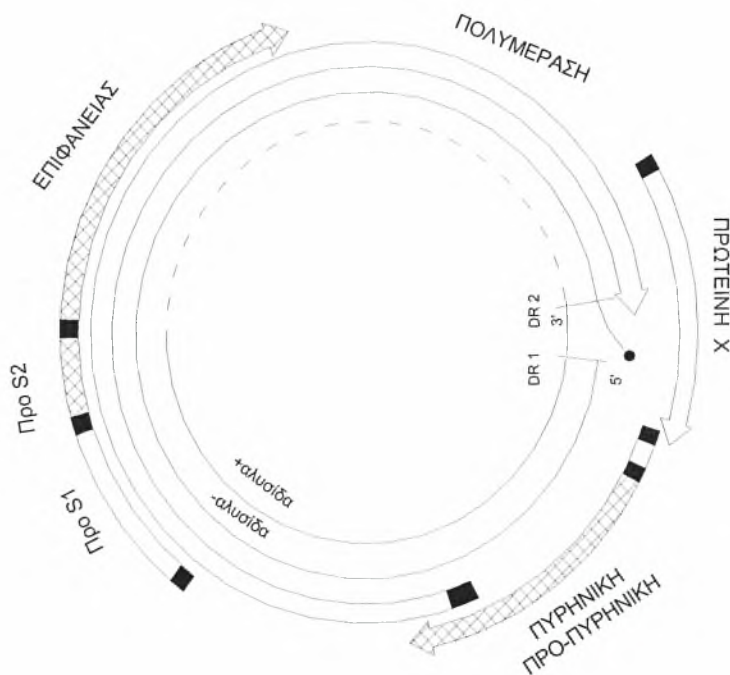
Ο HBV ανήκει στους Hepadna ιούς, που είναι οικογένεια μικρών DNA ιών με περίβλημα. Στην οικογένεια των ιών Hepadna ανήκουν επίσης ο ιός της ηπατίτιδας των τρωκτικών woodchuck, ο ιός της ηπατίτιδας των σκίουρων εδάφους (ground squirrel), ο ιός ηπατίτιδας που προσβάλλει τα παπάκια του Πεκίνου και άλλοι σπανιότεροι ιοί.^{1,2}

Ο HBV είναι κυρίως, αλλά όχι αποκλειστικά, ηπατοτρόπος DNA ιός, μη κυτταροπαθογόνος,³ κυκλικός, μερικώς διπλής και μερικώς μονής αλυσίδας 3200 βάσεων, με περίβλημα και με μοναδικό τρόπο πολλαπλασιασμού, μέσω RNA προγονιδιώματος, που μοιάζει με αυτόν των ρετροϊών.^{4,5} Έχει ομολογία βάσεων με τους άλλους ιούς Hepadna περίπου 70% και προσβάλλει τον άνθρωπο και το χιμπατζή.

Η αρνητική αλυσίδα του ιικού γονιδιώματος έχει 4 ανοιχτά πλαίσια ανάγνωσης (open reading frames) των γονιδίων του, αλληλοεπικαλυπτόμενα σε σημαντική έκταση (Σχήμα 1):

- Το S για το επιφανειακό ή γονίδιο του περιβλήματος
- Το C για το πυρηνικό γονίδιο
- Το X για το X γονίδιο
- Το P για το γονίδιο της DNA πολυμεράσης

Αυτά κωδικογραφούν 7 διαφορετικές πρωτεΐνες (Πίνακας 1), με 50% συνολικά περισσότερη έκταση πρωτεΐνης από την προβλεπόμενη από το μέγεθος των γονιδίων του ιού.^{6,7} Το πλαίσιο αναγνώσεως της πολυμεράσης επικαλύπτει πλήρως το πλαίσιο αναγνώσεως του περιβλήματος (προ-S/S) και μερικώς τα πλαίσια αναγνώσεως της πρωτεΐνης X και της προπυρηνικής/πυρηνικής πρωτεΐνης (προ-C/C, precore/core). Τα παραπάνω λειτουργικά ιικά γονίδια αλληλεπικαλύπτονται με τα λειτουργικά στοιχεία του γονιδιώματος, που τα αποτελούν 2 προωθητές (promoters), 4 ενισχυτές (enhancers) , 1 ενεργοποιητής δημιουργίας καψιδίου και 2 άμεσα επαναλαμβανόμενες περιοχές (direct repeats-DR1 και DR2).⁸



Σχήμα 1. Παράσταση των τεσσάρων ανοικτών πλαισίων ανάγνωσης του γονιδιώματος του ιού της ηπατίτιδας Β.

Στο πλαίσιο αναγνώσεως της πρωτεΐνης του περιβλήματος του ιού προ-S/S, το οποίο καλύπτει περισσότερο από το ένα τρίτο του ιικού γονιδιώματος, έχουν διαπιστωθεί 3 κωδικόνια έναρξης της μετάφρασης

(ATG) και 1 κοινό κωδικόνιο διακοπής της (TAG).⁹ Έτσι κωδικογραφούνται 3 πρωτεΐνες: η πρωτεΐνη επιφανείας (κύρια-s), η προεπιφανειακή πρωτεΐνη 1 (μεγάλη ή προ-s1) και η προεπιφανειακή πρωτεΐνη 2 (μέση ή προ-s2), 226, 281, 400 αμινοξέων αντίστοιχα. Η πρωτεΐνη s, που κωδικογραφείται με αρχή της μεταφράσεως από το τελευταίο

Πίνακας 1. Οι πρωτεΐνες του ιού της ηπατίτιδας B και ο ρόλος τους.

Πρωτεΐνες	Ρόλος
Κύρια s	Περιέχει το HBsAg
Προ-s1, προ-s2	Συσχετίζονται χρονολογικά με την HBV DNA ιαμία, βοηθούν την είσοδο του ιού στο ηπατοκύτταρο, περιλαμβάνουν T και B κυτταρικούς επιτόπους
Πρωτεΐνη e	Διαφυγή από το ανοσιακό σύστημα του ξενιστή, εκφράζει τους αντιγονικούς επιτόπους HBeAg
Πρωτεΐνη c	Δομική δράση, απαραίτητη στην αναπαραγωγή, εκφράζει τους αντιγονικούς επιτόπους HBcAg
Πρωτεΐνη της πολυμεράσης	Διαιρείται σε τρεις λειτουργικές περιοχές με πολλαπλή δράση κατά την ενσωμάτωση, τη σύνθεση της αρνητικής κατεύθυνσης αλυσού του DNA, τη σύνθεση του ιικού γονιδιώματος, την καταστροφή του προγονιδιακού RNA και τη διευκόλυνση της αντιγραφής
Πρωτεΐνη X	Ρυθμιστική και διεγερτική δράση, έλεγχος του πολλαπλασιασμού

ATG, περιέχει το αντιγόνο επιφανείας (HBsAg) και εντοπίζεται στο καρβοξυλικό άκρο των πρωτεϊνών προ-s1 και προ-s2, που είναι μεγαλύτερες και έχουν επιπλέον τμήματα στο αμινικό άκρο τους. Οι πρωτεΐνες της επιφανείας εκκρίνονται στον ορό και κυκλοφορούν κυρίως σε γλυκοζυλιωμένη μορφή. Στο σύνολό τους είναι εξαιρετικά διατηρημένες μεταξύ των διαφόρων στελεχών του, σε επίπεδο αλληλουχίας αμινοξέων, αν και έχουν αναγνωρισθεί μερικώς

μεταβλητές περιοχές τους. Στην πρωτεΐνη s, που περιλαμβάνεται στα εμβόλια έναντι της ηπατίτιδας Β, εντοπίζονται ο κύριος αντιγονικός καθοριστής «α», όπως επίσης και οι αμοιβαίως αποκλειόμενοι αντιγονικοί καθοριστές d-y και w-r των υποτύπων του ιού.¹⁰ Η κάθαρση του HBsAg και η παρουσία κυκλοφορούντων αντισωμάτων έναντι της πρωτεΐνης s (αντί-HBs) εκφράζει ίαση από την HBV λοίμωξη, με ανάπτυξη προστατευτικής ανοσίας.

Οι προεπιφανειακές πρωτεΐνες φαίνεται ότι βοηθούν στην είσοδο του ιού στο ηπατοκύτταρο, αφού ο HBV συνδέεται με υποδοχέα της πρωτοπλασματικής μεμβράνης μέσω υποδοχέα του αμινικού άκρου (αμινοξέα 21-47) της μεγάλης επιφανειακής πρωτεΐνης του.¹¹ Συσχετίζονται επίσης χρονολογικά με την ιαιμία, αφού παρουσιάζονται νωρίς στη φυσική πορεία της οξείας λοίμωξης από τον HBV και η εξαφάνισή τους, με τη σύγχρονη παραγωγή αντισωμάτων έναντι των αντιγονικών επιτόπων τους, προαναγγέλλει τη λύση και την ίαση της νόσου. Οι προεπιφανειακές πρωτεΐνες περιλαμβάνουν ίδιους T και B κυτταρικούς επιτόπους. Τμήματα των πρωτεϊνών προ-s περιλαμβάνονται στις νεότερες γενιές εμβολίων και αναμένεται να έχουν μεγαλύτερη αντιγονικότητα και ανοσογονικότητα.

Η προπυρηνική περιοχή (προ-C/C) διαθέτει δύο κωδικόνια έναρξης της μετάφρασης (ATG), που απέχουν μεταξύ τους κατά 87 νουκλεοτίδια. Κωδικογραφούν δύο πρωτεΐνες, την πρωτεΐνη e της οποίας η μετάφραση αρχίζει από το πρώτο κωδικόνιο και την πρωτεΐνη του πυρηνοκαψιδίου (c) που αρχίζει από το δεύτερο.

Η μη δομική πρωτεΐνη e, αρχικώς μεγέθους 25kDa, αποτελείται από 212 αμινοξέα (29 της προπυρηνικής περιοχής και 183 της πρωτεΐνης c). Εκφράζει τους αντιγονικούς επιτόπους HBeAg, μεταφέρεται

μετά τη σύνθεσή της στις μεμβράνες του ενδοπλασματικού δικτύου των ηπατοκυττάρων και εκκρίνεται τελικά στον ορό, αφού υποστεί σημαντικές τροποποιήσεις. Συγκεκριμένα, στο αμινικό άκρο της υπάρχει ένα πεπτίδιο 29 αμινοξέων, που το αρχικό τμήμα του από 19 αμινοξέα (οδηγό πεπτίδιο), την κατευθύνει μετά τη σύνθεσή της στο ενδοπλασματικό δίκτυο του ηπατοκυττάρου.^{12,13,14} Ακολουθούν η απομάκρυνση του οδηγού πεπτιδίου με κοπή της προπυρηνικής περιοχής μεταξύ των αμινοξέων 19 και 20, η διάσπαση του καρβοξυλικού άκρου με κοπή σε άλλοτε άλλη θέση, και η έκκριση της πρωτεΐνης e στον ορό.^{15,16} Η πρωτεΐνη e, έχει γίνει ορατή στην πρωτοπλασματική μεμβράνη των ηπατοκυττάρων στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο.¹⁷ Η σημασία και η λειτουργικότητα του υδρόφοβου πεπτιδίου 10 αμινοξέων της προπυρηνικής περιοχής, που απομένει μετά την απομάκρυνση του οδηγού πεπτιδίου παραμένει ακόμα άγνωστη.¹⁸ Η πρωτεΐνη e είναι καλώς διατηρημένη στα στελέχη του HBV και στα άλλα μέλη της οικογένειας των ιών *Hepadna*.¹⁹ Ωστόσο, δεν είναι απαραίτητη για την αναπαραγωγή του ιού,²⁰ όπως έχει διαπιστωθεί σε έρευνες σε παπάκια του Πεκίνου (ζώο μοντέλο λοιμώξεως με *Hepadna* ιούς) και σε κυτταροκαλλιέργειες.²¹ Η πρωτεΐνη e ίσως να βοηθά τον ιό να διαφεύγει από το ανοσολογικό σύστημα του ξενιστή δημιουργώντας λειτουργική καταστολή των βοηθητικών T-λεμφοκυττάρων (φάση της ανοσολογικής ανοχής).^{22,23}

Η δομική πρωτεΐνη c, μεγέθους 21kDa, 183 αμινοξέων, δεν εκκρίνεται, αλλά μεταφέρεται στον πυρήνα²⁴ του ηπατοκυττάρου, με την καθοδήγηση της πλούσιας σε αργινίνη περιοχή του καρβοξυλικού άκρου της.²⁵ Εκφράζει τους επιτόπους HBcAg, χρησιμοποιείται στη δόμηση νέων ιικών σωματιδίων και είναι απαραίτητη για την αναπα-

ραγωγή του ιού.²⁶ Εκατόν ογδόντα αντίγραφα της πρωτεΐνης c μαζί με το γονιδιακό HBV DNA σχηματίζουν το πυρηνοκαψίδιο κάθε ιικού σωματιδίου.

Οι πρωτεΐνες e και c έχουν κοινούς χυμικούς και κυτταρικούς επιτόπους, αφού έχουν κοινά 183 περίπου αμινοξέα, παρουσιάζοντας έτσι διασταυρούμενη αντιγονικότητα.²⁷ Υπάρχουν όμως και αντιγονικοί καθοριστές ξεχωριστοί και ιδιαίτεροι για κάθε μία από τις δύο πρωτεΐνες.²⁸ Η πρωτεΐνη c παρουσιάζει γραμμικούς και στερεοτακτικούς αντιγονικούς επιτόπους, ενώ η πρωτεΐνη e μόνο γραμμικούς. Η ανεύρεση διαφορετικών αντιγονικών επιτόπων στις δύο πρωτεΐνες, οι οποίες μοιάζουν τόσο πολύ μεταξύ τους στην αλληλουχία των αμινοξέων, οφείλεται σε στερεοτακτικές διαφορές συσχετιζόμενες με το πεπτίδιο της προπυρηνικής περιοχής στο αμινικό άκρο της e και στην πλούσια σε αργινίνη περιοχή του καρβοξυλικού άκρου της πυρηνικής πρωτεΐνης. Οι επίτοποι του HBcAg εμφανίζουν 200 φορές μεγαλύτερη αντιγονικότητα για τα T και B λεμφοκύτταρα από τους επιτόπους του HBsAg. Η προ-C/C περιοχή έχει διατηρηθεί στον άνθρωπο και το ζώο μοντέλο τρωκτικό woodchuck και αποτελεί θέση ανοσολογικής πίεσης και περιοχή γονιδιώματος του HBV, όπου έχουν διαπιστωθεί σημαντικές, κυρίως σημειακές, μεταλλάξεις του ιού.

Η περιοχή της πολυμεράσης (P) επικαλύπτει τελείως τις περιοχές S, προ-S1 και προ-S2, και μερικώς τις C και X. Κωδικογραφεί πρωτεΐνη 812 αμινοξέων μεγέθους 95kDa. Λειτουργικά διαιρείται σε τρεις περιοχές: την τερματική πρωτεΐνη που σχετίζεται με την ενσωμάτωση και τη σύνθεση της αρνητικής κατεύθυνσης αλύσου του DNA, την ανάστροφη μεταγραφάση που «καταλύει» τη σύνθεση του ιικού γονι-

διώματος και την RNAάση που καταστρέφει το προγονιδιακό RNA μετά την ανάστροφη μεταγραφή και διευκολύνει την αντιγραφή.

Τέλος, η περιοχή X κωδικογραφεί την πρωτεΐνη X, 154 αμινοξέων, με βιολογικώς ρυθμιστική και έντονα διεγερτική δράση επί των ιικών και των κυτταρικών γονιδίων. Η περιοχή αυτή πιθανόν να ελέγχει, με μηχανισμό μεταγραφικής ενεργοποίησης, την ένταση και τον τρόπο πολλαπλασιασμού του HBV.^{29,30} Περιέχει ρυθμιστικά στοιχεία του ιικού πολλαπλασιασμού όπως τον πυρηνικό ενισχυτή, τον ενισχυτή II και τις επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες DR1 και 2.

1.2. ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΣ ΤΟΥ HBV

Ο HBV πολλαπλασιάζεται σε πολύ περιορισμένο είδος κυττάρων. Εκτός από τα ηπατοκύτταρα, υπάρχουν ενδείξεις πολλαπλασιασμού του στα κύτταρα του παγκρέατος, του σπληνός, των νεφρικών σωληναρίων και πιθανόν στα λεμφοκύτταρα.³¹⁻³⁶ Ο πολλαπλασιασμός του στα λεμφοκύτταρα είναι αμφισβητήσιμος, αφού ο ιός που έχει απομονωθεί από αυτά, θα μπορούσε να προέρχεται από φαγοκυτταρωμένα ανοσοσμπλέγματα.³⁷

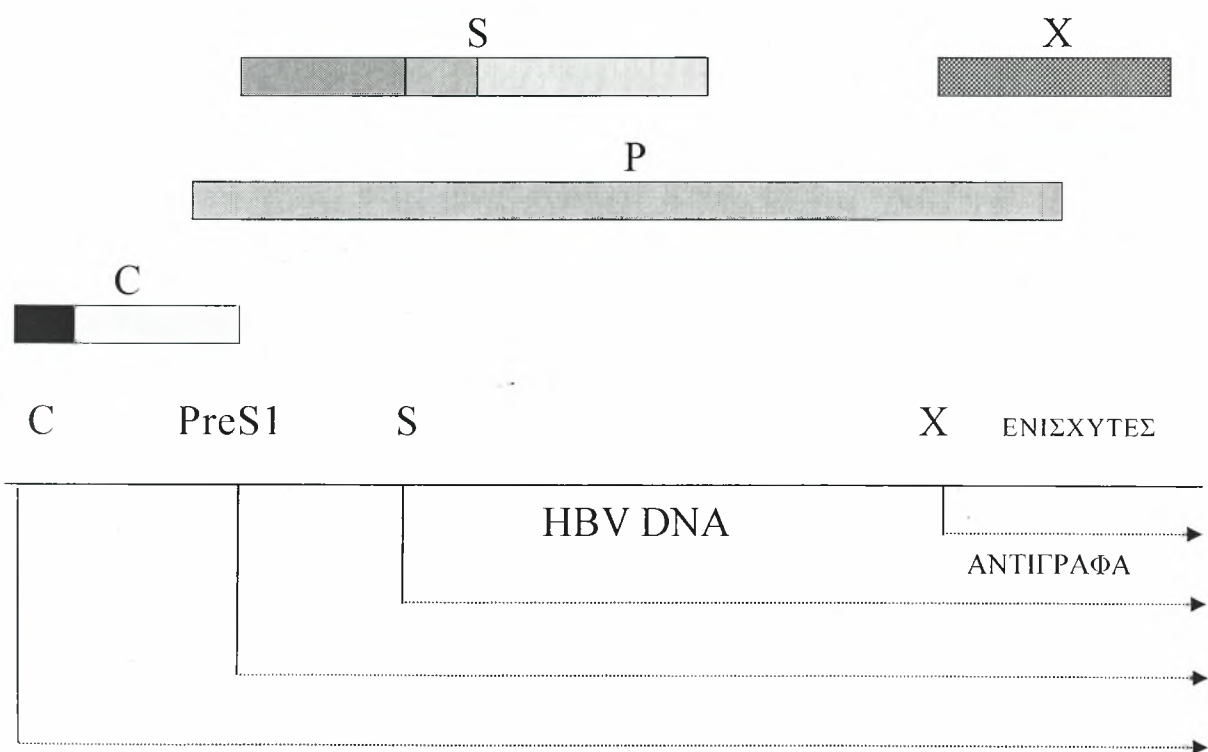
Συνοπτικά, ο κύκλος ζωής του ιού αρχίζει με την προσκόλλησή του στον κατάλληλο υποδοχέα, που είναι εντοπισμένος στην επιφάνεια της ηπατοκυτταρικής μεμβράνης. Ακολουθεί ενδοκυττάρωση στελέχους, απογύμνωση και απελευθέρωση του DNA, το οποίο μετατοπίζεται στον πυρήνα. Εκεί η ελλιπής θετική αλυσος του DNA συμπληρώνεται και η εγκοπή στην αρνητική αλυσος συνενώνεται, ούτως ώστε το DNA του ιού να αναπτύσσει κλειστή ομοιοπολική δομή (cccDNA, covalently closed circular), η οποία είναι αναγκαία για τη μεταγραφή

του σε αγγελιοφόρα RNA (mRNAs). Αυτά με τη σειρά τους διεισδύουν στο κυτταρόπλασμα, όπου οι πρωτεΐνες του ιού μεταφράζονται από τα ανάλογα πλαίσια ανάγνωσης. Τα πυρηνοκαψίδια δομούνται στο κυτταρόπλασμα και μετακινούνται κοντά στην ενδοπλασματική μεμβράνη, απ' όπου αναδύονται στον αυλό, αποκτώντας έτσι και το εξωτερικό τους περίβλημα από το αντιγόνο επιφανείας, που είναι ήδη εντοπισμένο στην ενδοπλασματική μεμβράνη. Τα ολοκληρωμένα στελέχη του ιού μεταφέρονται από κυστίδια στην επιφάνεια του κυττάρου, όπου και απελευθερώνονται.

Ειδικότερα, μετά την είσοδο του ιού στο ηπατοκύτταρο, η αναστροφή μεταγραφάση αποκόπτεται από το 5' άκρο της αρνητικής αλυσίδας όπως και ένα μικρό τμήμα RNA από το 5' άκρο της θετικής σήμανσης αλυσίδας. Το HBV DNA απελευθερώνεται από το πυρηνοκαψίδιο και μεταφέρεται στον πυρήνα, όπου μετατρέπεται σε υπερελικωμένο DNA. Το cccDNA αποτελεί τη μήτρα για τη μετάφραση του ιικού γονιδιώματος,^{38,39} που γίνεται μέσω της RNA πολυμεράσης τύπου II του ξενιστή. Έχουν ανακαλυφθεί 4 RNA από μεταγραφή, που λειτουργούν ως mRNAs. Αυτά κωδικογραφούνται από την αρνητική αλυσίδα του HBV DNA, συντίθενται με τη δράση της πολυμεράσης και μεταφράζονται σε διάφορα συστατικά του ιού (Σχήμα 2). Το ένα, 2.1kDa, μεταφράζεται στη μικρή και μεσαία πρωτεΐνη του φακέλου. Το δεύτερο, 3.5kDa, έχει διπλό ρόλο και συνθέτει την πυρηνική πρωτεΐνη και την πολυμεράση του ιού (προγονιδιακό RNA). Το τρίτο, 2.4kDa, μεταφράζεται στη μεγάλη πρωτεΐνη του περιβλήματος και το τέταρτο, 0.8kDa, συνθέτει την πρωτεΐνη X. Το δεύτερο αγγελιοφόρο RNA έχει μήκος πέραν του ολικού γονιδιώματος, και αυτό γιατί στο 3' άκρο του φέρει πλεόνασμα από εκατό περίπου νουκλεοτίδια, που επαναλαμ-

βάνουν την αλληλουχία των πρώτων νουκλεοτιδίων του 5' άκρου. Αυτό σημαίνει ότι η RNA πολυμεράση στο πρώτο πέρασμά της αγνοεί το κοινό, για όλα τα mRNAs, τερματικό πολυαδενικό σήμα.⁴⁰⁻⁴²

Σχήμα 2. Ευθύγραμμο διάγραμμα του γονιδιώματος του ιού και τα αγγελιοφόρα RNA που περιέχουν τα πλαίσια ανάγνωσης των πρωτεϊνών του.

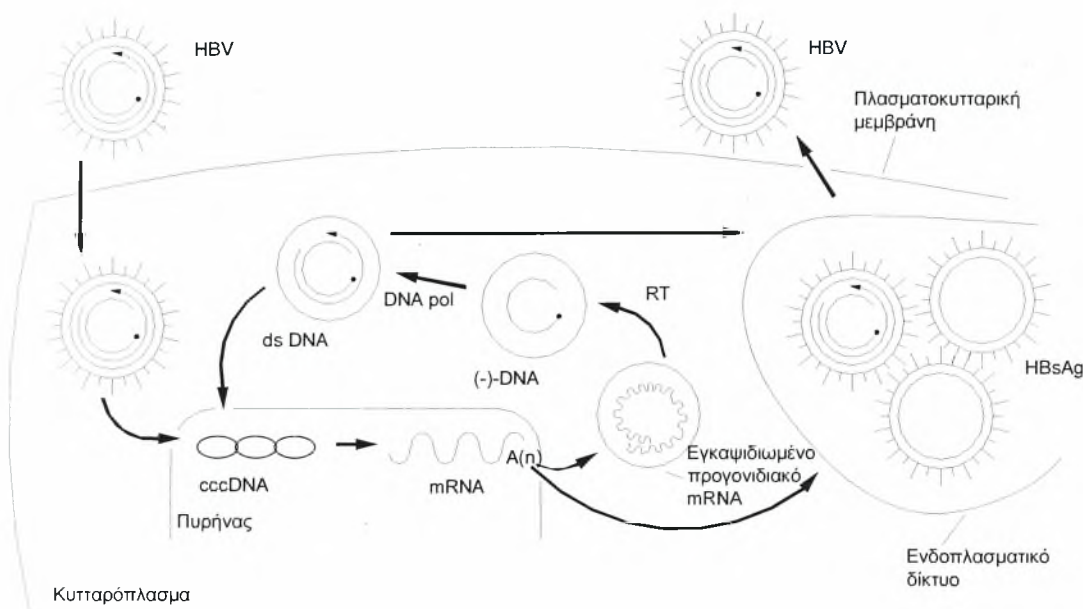


Τη μετάφραση ρυθμίζουν διάφορα ρυθμιστικά γονίδια που είναι οι προωθητές και οι ενισχυτές. Έχουν αναγνωριστεί ο βασικός πυρηνικός προωθητής και δύο άλλες περιοχές που προηγούνται και συνιστούν τις περιοχές CURS (core upper regulatory sequence) και NRE (negative response element). Η τελευταία περιοχή, όπως το όνομα υποδηλώνει, έχει αρνητική επίπτωση στη λειτουργικότητα του προωθητή. Η περιοχή αυτή συμπεριλαμβάνει τον ενισχυτή II και κείται μεταξύ των δύο επαναλαμβανόμενων νουκλεοτιδίων, γνωστών ως DR1 και 2. Η περιοχή DR1 έχει πρωταρχικό ρόλο στον πολλαπλασιασμό του ιού,

καθώς επίσης και η περιοχή της δομής E, που ακολουθεί αμέσως μετά τον προωθητή και συμπίπτει στην προπυρηνική περιοχή του γονιδιόματος. Επιπλέον, η περιοχή μεταξύ των δύο DR περιοχών έχει αριθμό αλληλουχίας βάσεων οι οποίες αναγνωρίζονται και δεσμεύονται από πρωτεΐνες που είναι εντοπισμένες στον πυρήνα των ηπατοκυττάρων. Οι πρωτεΐνες αυτές συνιστούν βοηθητικούς συντελεστές οι οποίοι είναι αναγκαίοι για τη μεταγραφή του γονιδιακού RNA στο αγγελιαφόρο RNA.^{43,44}

Η περιοχή E στο προγονιδιακό RNA έχει δευτερεύουσα δομή τύπου κορμού με θηλές, λόγω του ζευγαρώματος βάσεων του με αντίστοιχες, που έχουν συμπληρωματική ομολογία. Η δομή αυτή είναι γνωστή ως E σήμα ενθυλάκωσης, με ρόλο στον πολλαπλασιασμό του ιού. Του E προηγούνται το κωδικόνιο έναρξης της μετάφρασης στην προπυρηνική περιοχή και η βραχεία επαναλαμβανόμενη αλληλουχία DR1, ενώ το κωδικόνιο έναρξης της μετάφρασης της πρωτεΐνης του πυρηνοκαψιδίου αποτελεί μέρος του κορμού της δομής. Η ομολογία βάσεων της περιοχής του E έχει καθοριστική σημασία για τον πολλαπλασιασμό του ιού, καθώς χρησιμοποιεί στη σύνθεση μικρού οδηγού μήκους 3-4 νουκλεοτιδίων από την πολυμεράση, η οποία αναγνωρίζει και δεσμεύει τη δομή του E. Το πρώτο νουκλεοτίδιο γουανίνης του οδηγού δεσμεύεται από το οξυγόνο της υδροξυλομάδας του υπολείμματος τυροσίνης που βρίσκεται στη θέση 63 της τερματικής πρωτεΐνης.⁴⁵⁻⁴⁷

Μετά τη μεταγραφή των mRNAs, το προγονιδιακό RNA μεταφέρεται στο κυτταρόπλασμα, όπου ενσωματώνεται στα πυρηνοκαψίδια του ιού (Σχήμα 3). Για την ενσωμάτωση απαιτείται ειδικό σήμα, που είναι το σήμα ενθυλάκωσης, όπως αναφέρθηκε. Μέσα στο καψίδιο του

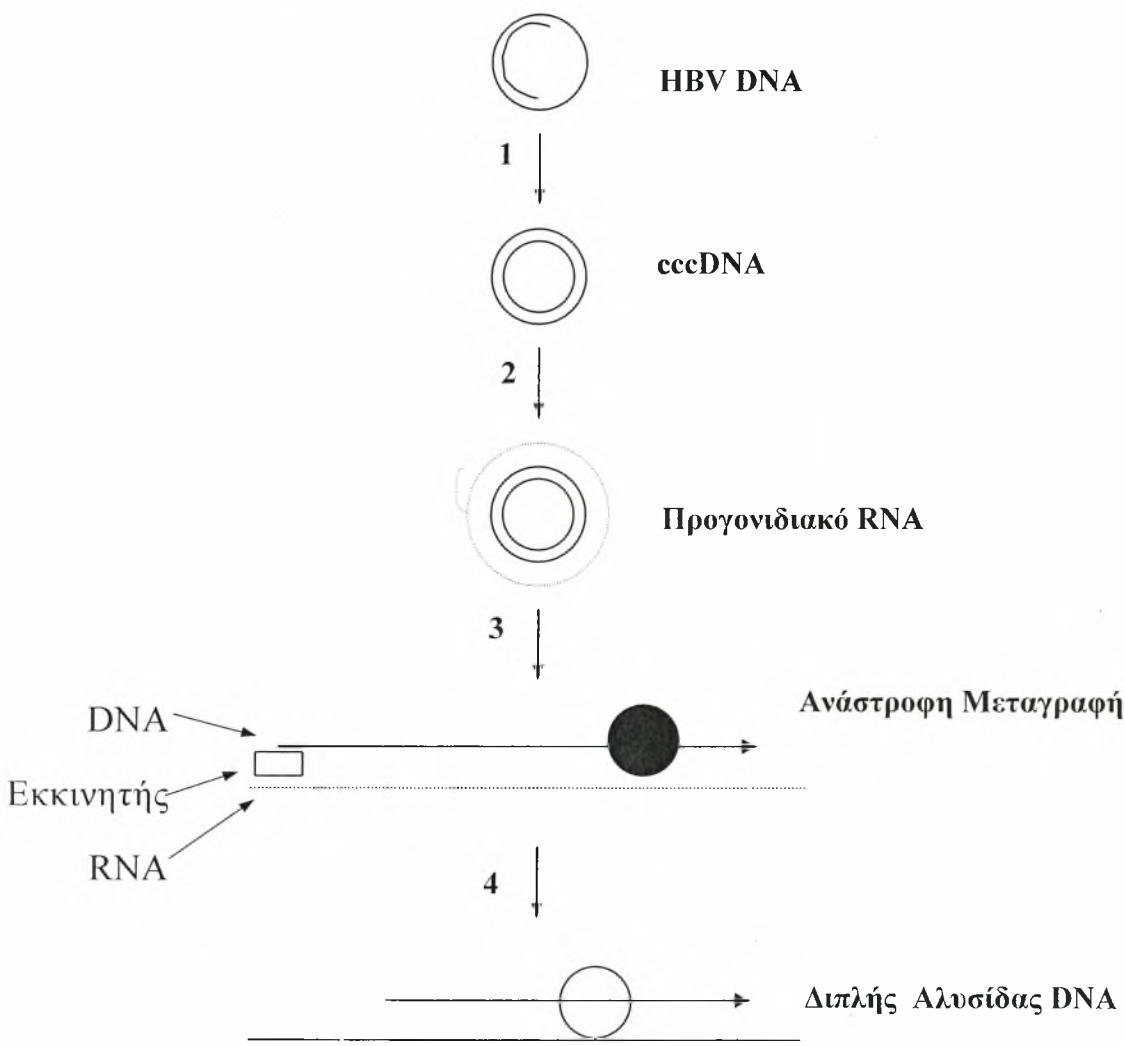


Σχήμα 3. Η αναπαραγωγή του ιού της ηπατίτιδας B στο ηπατοκύτταρο.

HBV γίνεται αρχικώς η σύνθεση της αρνητικής DNA αλυσίδας του ιού με τη βοήθεια της ιικής πολυμεράσης με δράση ανάστροφης τρανσκριπτάσης και ακολουθεί η σύνθεση της θετικής αλυσίδας DNA με μήτρα την αρνητική (Σχήμα 4). Η τελική πρωτεΐνη αποτελεί τον εκκινητή για την έναρξη της ανάστροφης μεταγραφής του προγονιδιακού RNA και DNA.⁴⁸ Η αντίθετη αυτή μεταγραφή παρουσιάζει πολλές ομοιότητες με τους ρετροϊούς, που πολλαπλασιάζονται μέσω DNA προγονιδιώματος. Η RNAάση καταστρέφει το προγονιδιακό RNA, μετά από την ανάστροφη μεταγραφή.

Η πολυμεράση του HBV με τις πολλαπλές λειτουργίες της αποτελεί ιδανικό στόχο αντι-ιικών φαρμάκων. Νουκλεοσιδικά ανάλογα, που αρχικώς χρησιμοποιήθηκαν στην αντιμετώπιση της λοίμωξης από τον ιό της επίκτητης ανοσοανεπάρκειας (HIV) και των ερπητικών λοιμώ-

ξεων, εφαρμόζονται ήδη στη θεραπεία κατά της χρόνιας ιογενούς ηπατίτιδας B.⁴⁹



Σχήμα 4. Οι μεταβολές των πυρηνικών οξέων του ιού της ηπατίτιδας B από την είσοδό του στα ηπατικά κύτταρα μέχρι το σχηματισμό νέας διπλής αλυσίδας DNA.

Τα πυρηνοκαψίδια, μέσα στα οποία έχει μεταγραφεί το προγονιδιακό RNA σε DNA του ιού, περιβάλλονται στη συνέχεια από τις πρωτεΐνες επιφανείας και απομακρύνονται από το ηπατοκύτταρο ή μεταφέρονται στον πυρήνα για να εμπλουτίσουν τη δεξαμενή του

cccHBV DNA.⁵⁰ Οι πρωτεΐνες επιφανείας παράγονται συνεχώς σε περίσσεια από τα αντίστοιχα mRNAs,^{51,52} η δε δημιουργία νέου cccHBV DNA μπορεί μόνο να περιοριστεί με την αναστολή της ανάστροφης μεταγραφής. Η χρονιότητα της λοίμωξης από τον HBV επιτυγχάνεται με τη μετάδοση του ιού από τα μολυσμένα ηπατοκύτταρα, πριν από το θάνατό τους, στα νεότερα που θα πάρουν τη θέση τους.⁵³

Ο ρόλος του cccHBV DNA ως μήτρα για τη μεταγραφή και τη διαιώνιση της HBV λοίμωξης καθορίστηκε αρχικώς στα παπάκια του Πεκίνου.^{54,55} Η παρουσία του cccHBV DNA φαίνεται ότι αποτελεί απόδειξη πολλαπλασιασμού του HBV. Πράγματι, έχει δειχθεί ότι στον πυρήνα του ηπατοκυττάρου παραμένουν 30-40 αντίγραφα cccHBV DNA, που παρουσιάζουν μακρά περίοδο ημίσειας ζωής και προκαλούν την υποτροπή της λοίμωξης μετά τη διακοπή των αντι-ιικών φαρμάκων.⁵⁶ Το cccHBV DNA μειώνεται μετά την ορομετατροπή, που συνοδεύεται από δραστική μείωση του ρυθμού πολλαπλασιασμού του HBV, χωρίς όμως να επιτυγχάνεται η εκρίζωσή του. Η παρατεταμένη αντι-ιική θεραπεία είναι δυνατό να προκαλέσει την εκρίζωση του ιού, αν τα μολυσμένα ηπατοκύτταρα εκκαθαριστούν από την ανοσολογική απάντηση του ξενιστή, πριν αναπτυχθούν μεταλλαγμένα στελέχη.⁵⁷⁻⁵⁹

Ο πολλαπλασιασμός του HBV είναι εξαιρετικά ταχύς με χρόνο ημίσειας ζωής στο πλάσμα 24 ώρες έως 3 ημέρες, ιικό φορτίο 2×10^{11} γονιδιώματα και ημερήσια παραγωγή σε άτομα με θετικό το HBeAg $6,09 \times 10^{11}$ γονιδιώματα. Στη χρόνια λοίμωξη από τον HBV είναι μολυσμένο το 5-40% των ηπατοκυττάρων. Επιπλέον, ο πολλαπλασιασμός των ηπατοκυττάρων είναι σχετικά βραδύς με χρόνο ημίσειας ζωής 10-100 ημέρες^{57,58,60} και ημερήσια ανανέωση 1-7%.

Είναι αυτονόητο ότι για την κατανόηση του μηχανισμού της ιικής κάθαρσης σε αυτοπεριοριζόμενη λοίμωξη, όσο και του μηχανισμού της χρονιότητας, είναι απαραίτητη η γνώση της ηπατοκυτταρικής αναγέννησης και της αναπαραγωγής του HBV, όταν το μολυσμένο ηπατοκύτταρο αρχίζει να διαιρείται. Θεωρητικά, αν όλος ο πληθυσμός των ηπατοκυττάρων έχει μολυνθεί, τότε η ιική κάθαρση είναι δυνατόν να επιτευχθεί ή με μηχανισμό αποβολής του ιού από τα ήδη μολυσμένα κύτταρα ή με πλήρη αντικατάσταση των μολυσμένων ηπατοκυττάρων με κύτταρα που προέρχονται από τον πολλαπλασιασμό και την επέκταση ενός ηπατοκυτταρικού πληθυσμού, που δεν έτυχε να μολυνθεί ή τέλος από πολλαπλασιασμό αρχέγονων προγονικών κυττάρων.

Εκρίζωση της HBV λοίμωξης μπορεί «θεωρητικώς» να επιτευχθεί θεραπευτικά μόνο μετά από μακροχρόνια χορήγηση αντι-ιικών νουκλεοσιδικών αναλόγων, αφού μετά από ένα έτος, μόνο το 10% των μολυσμένων ηπατοκυττάρων θα έχει εξαφανιστεί. Η μακροχρόνια όμως χορήγηση των αντι-ιικών φαρμάκων, δημιουργεί το κατάλληλο πλαίσιο για την ανάδειξη μεταλλαγμένων στελεχών που δεν είναι ευαίσθητα στη θεραπεία.⁵⁹

1.3. ΜΕΤΑΛΛΑΓΕΣ ΤΟΥ HBV

Το επακόλουθο του ασυνήθιστου τρόπου αντιγραφής του γενετικού υλικού του HBV είναι η αξιοσημείωτη προδιάθεση στην ανάπτυξη μεταλλαγών. Το περιελιγμένο HBV DNA μεταγράφεται από την κυτταρική RNA πολυμεράση II προς προγονιδιακό RNA, που με τη σειρά του μεταγράφεται ανάστροφα από την πολυμεράση του ιού σε DNA. Και οι δύο διεργασίες είναι σχετικά αναξιόπιστες και έχουν

μεγάλο ποσοστό λάθους. Στην πραγματικότητα, η συχνότητα των αυτομάτων μεταλλαγών του ιού είναι πολύ μεγαλύτερη από την αναμενόμενη, και ξεπερνά κατά πολύ την αντίστοιχη του ανθρώπινου DNA. Έχει υπολογιστεί ότι σε κάθε νουκλεοτίδιο του HBV, σε κάθε άτομο με χρόνια λοίμωξη, συμβαίνουν $1-3 \times 10^{-5}$ μεταλλαγές κάθε χρόνο⁶¹ ή σύμφωνα με άλλες μελέτες 2×10^{-4} .

Η ανοσολογική πίεση και οι προφυλακτικές και θεραπευτικές ιατρικές παρεμβάσεις μπορούν να οδηγήσουν στην επικράτηση μεταλλαγμένων στελεχών. Η ανάδυση αυτών περιορίζεται από την ιδιαίτερη οργάνωση του γενετικού υλικού του HBV, που είναι ιδιαίτερα συμπυκνωμένο, με χαρακτηριστικά τα αλληλοεπικαλυπτόμενα ανοιχτά πλαίσια ανάγνωσης, όπως ήδη αναφέρθηκε. Έτσι, πολλές μεταλλαγές που συμβαίνουν κατά τη διάρκεια της αντιγραφής, είναι επιβλαβείς για τον ιικό πληθυσμό και δε διατηρούνται. Αντίθετα, μεταλλαγμένα στελέχη που δεν επηρεάζουν την επιβίωση του HBV και δεν έχουν κλινική σημασία, παραμένουν σε μικρές συγκεντρώσεις, εκτός και αν επιλεγούν. Αυτό είναι δυνατό να συμβεί, αν προσφέρουν πλεονέκτημα επιβίωσης σε σχέση με το φυσικό-άγριο στέλεχος, παρακάμπτοντας την ανοσολογική αντίδραση του ξενιστή ή ενισχύοντας τον πολλαπλασιασμό και τη μολυσματικότητά του.

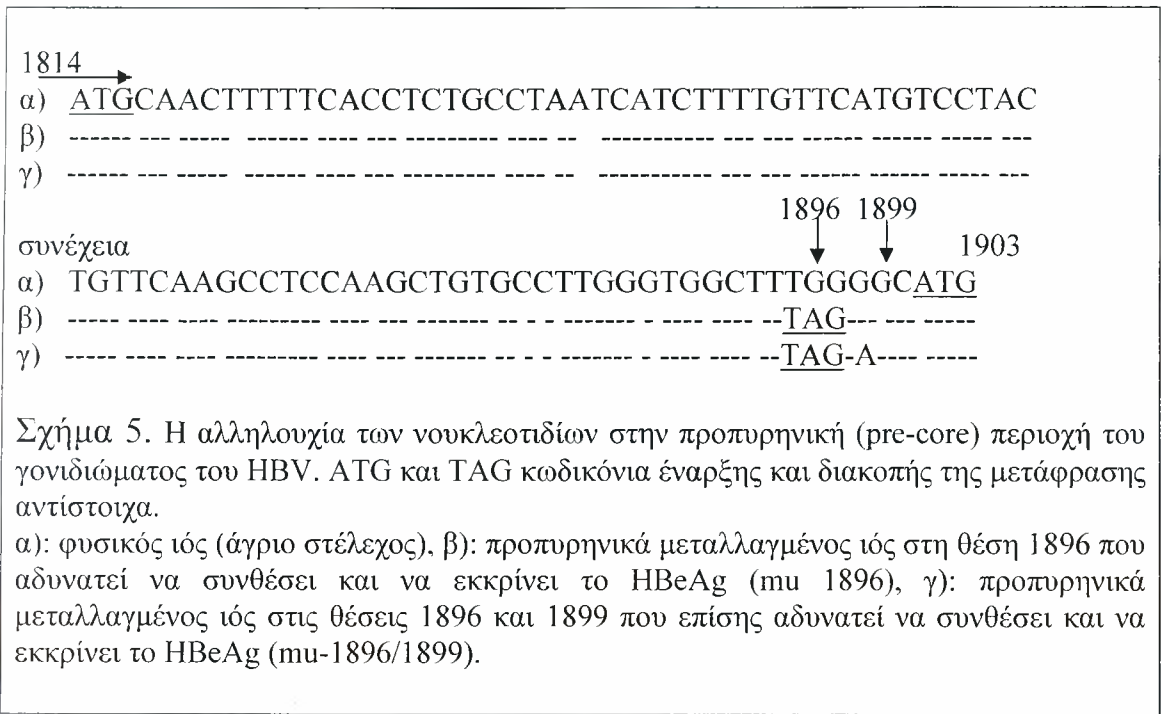
Επίσης, θα πρέπει να σημειωθεί, ότι υπάρχει σημαντική δυσκολία στον διαχωρισμό μιας αληθινής μεταλλαγής, που προέκυψε κατά την πορεία της λοίμωξης, από μια επικρατούσα ποικιλία γονοτύπου σε μια γεωγραφική περιοχή.⁶² Στο γονιδίωμα του HBV έχουν περιγραφεί μεταλλαγές σε όλα τα ανοιχτά πλαίσια ανάγνωσης (Πίνακας 2).

Πίνακας 2. Συνηθέστερες μεταλλάξεις του HBV.

Προπυρηνική περιοχή
G-A στη θέση 1896,
G-A στη θέση 1899
Περιοχή του πυρηνικού προωθητή (core promoter)
A-Ta στη θέση 1762
G-A στη θέση 1764
S γονίδιο
Γλυκίνη-Αργινίνη στο κωδικόνιο 145
P γονίδιο
Λαμβουδίνη
Λευκίνη-Μεθειονίνη στο κωδικόνιο 528 και
Μεθειονίνη-Βαλίνη στο κωδικόνιο 552
Μεθειονίνη-Ισολευκίνη στο κωδικόνιο 552
Φαμισκλοβίρη
Λευκίνη-Μεθειονίνη στο κωδικόνιο 528

Η κυρίαρχη μεταλλαγή στην προπυρηνική περιοχή του HBV είναι μια αντικατάσταση γουανίνης (G) από αδενίνη (A) στη θέση 1896. Η μεταλλαγή αυτή περιγράφηκε για πρώτη φορά το 1989 από τους καθηγητές C.Thomas και Σ.Χατζηγιάννη σε Έλληνες ασθενείς και στη συνέχεια παρατηρήθηκε και στην Ιταλία. Εντοπίζεται στο προτελευταίο κωδικόνιο της προπυρηνικής περιοχής, 5 νουκλεοτίδια πριν από το κωδικόνιο έναρξης (ATG, θέση 1903) της μετάφρασης της πυρηνικής πρωτεΐνης c (HBcAg). Τελικό αποτέλεσμα είναι η δημιουργία ενός κωδικονίου διακοπής (TAG) της μετάφρασης του mRNA με αποτέλεσμα τη διακοπή της σύνθεσης και έκκρισης της πρωτεΐνης e (HBeAg). Αντίθετα, η παραγωγή και έκκριση της πυρηνικής πρωτεΐνης c, που είναι απαραίτητη για τον πολλαπλασιασμό, τη μορφογένεση και την έκκριση των ιικών σωματιδίων, εξακολουθεί να γίνεται κανονικά.

Τη μεταλλαγή στη θέση 1896 ακολουθεί συχνά και δεύτερη στη θέση 1899 (αντικατάσταση ξανά γουανίνης από αδενίνη)⁶³ (Σχήμα 5).



Εντοπίζεται σε διάφορες γεωγραφικές περιοχές,^{64,65} είναι σπάνια στην Αμερική και τη Δυτική Ευρώπη^{66,67} και συχνή στη Μεσόγειο και την Άπω Ανατολή.^{63,68,69} Η εξάπλωσή της σε διαφορετικές χώρες σχετίζεται με τον κυρίαρχο γονότυπο του HBV, γιατί αυτή εμφανίζεται μόνο στους B,C,D και E, που φέρουν θυμίνη (T) στο νουκλεοτίδιο 1858.⁶⁴ Μια αλλαγή από (G) σε (A) στο νουκλεοτίδιο 1896 αυξάνει τη σταθερότητα της θυλακοειδούς δομής της αλληλουχίας του σήματος ενθυλάκωσης, όταν το νουκλεοτίδιο στη θέση 1858 έχει (T).⁷⁰⁻⁷² Βελτιώνοντας τη δευτεροταγή δομή της πρωτεΐνης E (σήμα ενθυλάκωσης), ενισχύεται η αντιγραφή του γονιδιώματος του HBV με αποτέλεσμα να υπάρχει υπεροχή έναντι του αγρίου στελέχους. Η μεταλλαγή στη θέση 1858, όπου υπάρχει αντικατάσταση της κυτοσίνης (C) σε (T),

θεωρείται μεταλλαγή αλλοιωμένου νοήματος (missense mutation) και ευθύνεται για το 70% της χρόνιας HBeAg (-) ηπατίτιδας Β στους μαύρους της Νότιας Αφρικής.

Πρέπει να σημειωθεί ότι το προπυρηνικά μεταλλαγμένο στέλεχος του HBV, αν και μεταδόσιμο, φαίνεται να αναπτύσσεται στην πορεία της χρόνιας λοίμωξης από το φυσικό-άγριο στέλεχος, κατά τη φάση της ορομετατροπής του HBeAg σε αντί-HBe, μετά από κυτταρική ή χυμική ανοσολογική πίεση του ξενιστή. Αυτό εξηγεί, γιατί στις Μεσογειακές χώρες και την Άπω Ανατολή βλέπουμε ασθενείς αυτού του σταδίου (αντί-HBe θετικοί). Πρόκειται συνήθως για άτομα ηλικίας άνω των 30 ετών, που μολύνθηκαν κατά την παιδική ηλικία. Αντίθετα στη Βορειοδυτική Ευρώπη και τις Η.Π.Α., οι μολύνσεις συμβαίνουν σε μεγαλύτερες ηλικίες και οι ασθενείς βρίσκονται στη φάση της HBeAg θετικότητας.⁷³

Η πορεία της νόσου είναι συνήθως επιθετική⁷⁴ (βαρύτερη νόσος, πτωχή απάντηση στη θεραπεία). Επιπλέον, διαπιστώθηκε αυξημένη συχνότητα της μεταλλαγής αυτής σε ασθενείς με ηπατοκυτταρικό καρκίνο (ΗΚΚ), συνηγορώντας ότι αυτός ο ιός ενδεχομένως να συμβάλλει περισσότερο από τον HBeAg (+) στην εμφάνιση του ΗΚΚ. Εντούτοις, η μεταλλαγή στην προπυρηνική περιοχή έχει διαπιστωθεί και σε χρόνια ανενεργό φορεία του HBsAg (ασυμπτωματικοί φορείς). Αυτό καταδεικνύει ότι μόνη της δε φαίνεται να έχει άμεση παθογενετική δράση, αλλά μάλλον έμμεση, καθιστώντας το γονιδίωμα του HBV επιρρεπές σε άλλες μεταλλαγές (π.χ. προπυρηνικές μεταλλάξεις έναρξης μεταγραφής), οι οποίες με τη σειρά τους μπορεί να οδηγήσουν σε αύξηση του ιικού πολλαπλασιασμού και σε ραγδαία εξέλιξη της νόσου.⁷⁵ Επίσης, η ανοσολογική απάντηση του ξενιστή και η απαρχής

λοίμωξη με το μεταλλαγμένο στέλεχος συντείνουν στην εμφάνιση βαρύτερης εξελισσόμενης ηπατικής νόσου στους αντί-HBe (+) ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα.⁷⁶

Σε ολόκληρο τον κόσμο διαπιστώθηκαν σε ευρεία έκταση και άλλες μεταλλαγές της προπυρηνικής περιοχής όπως απώλεια του πρώτου κωδικονίου αυτής, μετακίνηση των πλαισίων ανάγνωσης, προσθήκη νέων νουκλεοτιδικών αλληλουχιών, ποικίλες τροποποιήσεις μεμονωμένων νουκλεοτιδίων και μεταλλαγή του βασικού προωθητή της πυρηνικής πρωτεΐνης.⁶⁹ Στην τελευταία κατηγορία, η πιο συχνή είναι η αντικατάσταση (A) από (T) στο 1762 και (G) από (A) στο 1764, που συνήθως συνυπάρχουν, σε ασθενείς με χρόνια HBeAg (-) ενεργό ή κεραυνοβόλο ηπατίτιδα. Η κυριαρχία του σε σχέση με το άγριο στέλεχος συμβαίνει κατά την ορομετατροπή, είναι συχνή στην Ιαπωνία και σπάνια στις Η.Π.Α.⁷⁷⁻⁸¹ Μεταλλαγές στην πυρηνική περιοχή σχετίζονται συχνά με τη μεγάλη ηλικία, το αρνητικό HBeAg, ενεργό ηπατική νόσο και παρουσία μεταλλαγής στην προπυρηνική περιοχή στη θέση 1896. Οι περισσότερες συμβαίνουν κατά την ορομετατροπή ή την επιδείνωση της χρόνιας ηπατίτιδας. Πιθανόν να κυριαρχούν, για να ξεφύγει ο ιός από την ανοσολογική κάθαρση, καθώς η πυρηνική περιοχή είναι ο κύριος στόχος των T-κυτταροτοξικών λεμφοκυττάρων.^{74,82} Σπάνια, ασθενείς με HBV αποτυγχάνουν να αναπτύξουν αντί-HBc. Αυτό σε μερικές περιπτώσεις οφείλεται σε μείωση της ανοσολογικής απάντησης. Όμως βρέθηκε ότι σε ασθενείς με αρνητικό το αντί-HBc υπήρχαν πολλές μεταλλαγές στην πυρηνική περιοχή, κυρίως αφαιρέσεις.⁸³⁻⁸⁶

Μεταλλαγές στην πρωτεΐνη του περιβλήματος προ-S1/S2, έχουν περιγραφεί, αλλά η σημασία τους⁸⁷⁻⁸⁹ δεν είναι ακόμα ξεκάθαρη.

Μεταλλαγές στο HBsAg ευθύνονται για το παράδοξο πρότυπο ορισμένων ασθενών με χρόνια λοίμωξη από τον HBV. Οι ασθενείς αυτοί είναι HBsAg και αντί-HBs θετικοί. Στις περιπτώσεις αυτές τα αντί-HBs αντισώματα είναι ετεροτυπικά από προηγούμενη λοίμωξη.

Ο αντιγονικός καθοριστής «α» αποτελεί τον εξουδετερωτικό επίτοπο του HBsAg, έναντι του οποίου στρέφονται τα αντί-HBs, είναι πολύ καλά διατηρημένος σε όλα τα στελέχη, εξαιρετικά στερεοτακτικός πιθανότατα λόγω των δισουλφιδικών γεφυρών-δεσμών και αποτελεί τον κύριο χυμικό επίτοπο.⁹⁰ Περιπτώσεις οξείας λοίμωξης από HBV μετά από επιτυχημένο εμβολιασμό έχουν περιγραφεί σε νεφροπαθείς που υποβάλλονταν σε αιμοκάθαρση,⁹¹ όπως και μετά από εκτεταμένο εμβολιασμό στην Ιαπωνία⁹² και την Ιταλία.⁹³ Οι λοιμώξεις αυτές οφείλονται σε HBV με σημειακή μεταλλαγή στη θέση του νουκλεοτιδίου 587 (AGA-γουανίνη σε GGA-αδενίνη), που οδηγεί σε μετάφραση αργινίνης αντί γλυκίνης στη θέση του αμινοξέος 145 στη δεύτερη αγκύλη του επιτόπου «α» και τον καθιστά αόρατο από τα κυκλοφορούντα αντί-HBs και τα συνήθη μονοκλωνικά αντισώματα.^{94,95} Η ίδια μεταλλαγή έχει περιγραφεί σε μεταμοσχευμένους ασθενείς που λαμβάνουν αντί-HBs (HBIG) με σκοπό την πρόληψη της υποτροπής της ηπατίτιδας Β στο μόσχευμα.⁹⁶⁻⁹⁸ Επιπλέον έχει παρατηρηθεί σε νεογνά θετικών μητέρων «φορέων» παρά τον επιτυχή εμβολιασμό.^{94,99,100}

Σε μεταλλαγές του γενετικού υλικού του ιού οφείλεται και το φαινόμενο της ανάπτυξης αντίστασης στη λαμβουδίνη, κατά τη θεραπεία ασθενών με χρόνια ηπατίτιδα Β. Το γεγονός αυτό έχει αποδοθεί σε 2 τύπους μεταλλαγών στην περιοχή C της πολυμεράσης του ιού, στην ακολουθία YMDD (τυροσίνη – μεθειονίνη – ασπαρτικό – ασπαρ-

τικό),^{101.102} όπου συμβαίνει αντικατάσταση της μεθειονίνης από βαλίνη ή ισολευκίνη. Ακολουθεί μείωση της δράσης της λαμβουδίνης, γιατί ο ιός καθίσταται ως και 300 φορές λιγότερο ευαίσθητος σ' αυτή.^{103.104} Εμφανίζεται συνήθως σε ανοσοκατασταλμένους ασθενείς λόγω αυξημένου πολλαπλασιασμού, η δε κλινική σημασία του φαινομένου δεν είναι απόλυτα γνωστή.^{105.106} Η μεταλλαγή αναπτύσσεται όψιμα (συνήθως μετά από 6 μήνες θεραπείας), κάτι που πιθανόν να οφείλεται στην επικάλυψη της εν λόγω περιοχής της πολυμεράσης του ιού από το ανοιχτό πλαίσιο ανάγνωσης της πρωτεΐνης του περιβλήματος.

Τέλος, μεταλλαγές στο X γονίδιο, ιδίως αφαιρέσεις, έχουν αναφερθεί σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα Β. Αυτές πιθανόν να ελαττώνουν τη ρυθμιστική δράση της X πρωτεΐνης στον πολλαπλασιασμό του ιού και την αντιγραφή του γονιδιώματός του. Η μετάβαση μεταξύ των φάσεων της χρόνιας λοίμωξης από τον HBV μπορεί επίσης να επηρεάζεται. Η συχνότητα και η κλινική σημασία αυτών των μεταλλαγών δεν είναι επαρκώς καθορισμένη, αλλά τελευταία έχουν ενοχοποιηθεί για την εμφάνιση της λανθάνουσας (occult) ηπατίτιδας Β σε ασθενείς με απουσία HBsAg αλλά θετικό το HBV DNA με αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR).¹⁰⁷⁻¹⁰⁹ Πρόκειται κυρίως για δύο είδη μεταλλαγών. Το πρώτο αφορά σε αφαίρεση 8 νουκλεοτιδίων μεταξύ των θέσεων 1770 και 1777, που αφαιρεί 20 αμινοξέα από το καρβοξυλικό άκρο της πρωτεΐνης X με αποτέλεσμα την αρνητικοποίηση του HBsAg. Αυτή η σιωπηλή λοίμωξη από τον HBV φαίνεται να είναι υπεύθυνη για την πλειοψηφία των μη-A έως μη-E ηπατιτίδων. Η άλλη μεταλλαγή αφορά σε αντικατάσταση κυτοσίνης από θυμίνη στη θέση 1655, αδενίνης από θυμίνη στη θέση 1764 και γουανίνης από αδενίνη στη θέση 1766. Η τελευταία πιθανόν να σχετίζεται με την κεραυνοβόλο ηπατίτιδα.¹⁰⁹

1.4. ΓΟΝΟΤΥΠΟΙ ΤΟΥ HBV

Στα πλαίσια του γενετικού πολυμορφισμού του HBV καταγράφεται μια ποικιλία γονοτύπων, η αναγνώριση και η διάκριση των οποίων, προϋποθέτει την πλήρωση ενός τουλάχιστον εκ των δύο ακόλουθων κριτηρίων:

α) Τουλάχιστον 8% διαφορά στην ακολουθία των βάσεων επί του συνόλου του γονιδιακού υλικού

β) Τουλάχιστον 4,1% διαφορά στην ακολουθία των βάσεων του γονιδιακού υλικού που κωδικοποιεί την πρωτεΐνη της επιφάνειας του ιού.⁶²

Υπάρχουν 7 διαφορετικοί γονότυποι του HBV (A-G). Επιπλέον, 5 γονότυποι έχουν απομονωθεί και σε ανώτερα θηλαστικά (π.χ. γορίλας). Αν και η μετάδοση μεταξύ των διαφορετικών ειδών ανωτέρων θηλαστικών είναι δυνατή, αυτοί οι γονότυποι δεν έχουν ανιχνευθεί μέχρι στιγμής στον άνθρωπο.^{62,110}

Η διάκριση και η αναγνώριση των γονοτύπων γίνεται με φυλογενετική ανάλυση, με τεχνική πολυμορφισμού μήκους θραυσμάτων, με PCR ή με υβριδισμό. Παλαιότερα γινόταν διάκριση του HBV και σε οροτύπους (π.χ. adw, ayw, ayg), κάτι όμως που τείνει να εγκαταλειφθεί, γιατί απαιτείται αλλαγή υποτύπου με κάθε μεταλλαγή στο γονίδιο του περιβλήματος.¹¹¹

Η κατανομή των γονοτύπων σε διάφορες γεωγραφικές περιοχές είναι η εξής¹¹²⁻¹¹⁴ (Πίνακας 3):

- Ο γονότυπος A είναι συχνότερος στη Βόρεια Ευρώπη, Βόρεια Αμερική και μερικές Αφρικανικές χώρες.
- Οι γονότυποι B και C είναι συχνότεροι στην Ασία.
- Ο γονότυπος D επικρατεί στη Μεσόγειο, αλλά έχει ανιχνευθεί και στην Αυστραλία και την Αμερική.

- Ο γονότυπος E είναι συχνότερος στην Αφρική.
- Ο γονότυπος F εμφανίζεται στην Πολυνησία και την Αμερική.
- Ο γονότυπος G απαντάται στην Ευρώπη και τη Βόρεια Αμερική.

Πίνακας 3. Γεωγραφική κατανομή γονοτύπων και οροτύπων του HBV.

Γονότυπος	Ορότυπος	Γεωγραφική κατανομή
A	Adw2, ayw1	ΒΔ Ευρώπη, Η.Π.Α., Κεντρική Αφρική
B	Adw2, qyw1	Ταϊβάν, Ιαπωνία, Ινδονησία, Κίνα, Βιετνάμ
C	Adw2, adrq+, adrq-, ayr	Ανατολική Ασία Ταϊβάν, Κορέα, Κίνα, Ιαπωνία, Πολυνησία, Βιετνάμ
D	Ayw2, ayw3	Μεσόγειος, Ινδία
E	Ayw4	Δυτική Αφρική
F	Adw4q-.adw2, ayw4	Κεντρική και Νότια Αμερική, Πολυνησία
G	Adw2	Γαλλία, Η.Π.Α.
?	Ayr	Βόρνεο

Επίσης, έχουν βρεθεί και υβρίδια γονοτύπων (π.χ. B/C) που προέρχονται από ανασυνδυασμό γενετικού υλικού του HBV.

Η επίδραση των γονοτύπων στην κλινική πορεία της χρόνιας λοίμωξης από τον HBV παρέμενε άγνωστη μέχρι πρόσφατα. Τελευταία βρέθηκε ότι στην Ταϊβάν ο C είναι πιο συχνός σε βαριά νόσο, ενώ ο B ενοχοποιήθηκε για την ανάπτυξη ΗΚΚ σε μη κίρρωτικούς νέους ασθενείς.¹¹⁵ Αντίθετα, στην Ιαπωνία και την Κίνα ο B συσχετίστηκε με νόσο καλής πρόγνωσης και σπάνια μετάπτωση σε ΗΚΚ. Ο γονότυπος D βρέθηκε ότι προκαλεί νόσο βαρύτερη από τον A και πιθανόν να συνδέεται με κρούσματα ΗΚΚ σε νέους ασθενείς.

Επιπλέον οι γονότυποι C, D ενοχοποιήθηκαν για μικρότερου βαθμού ανταπόκριση στην α-ιντερφερόνη (α-IFN) σε σχέση με τους B και A. Ο γονότυπος B φαίνεται να ανταποκρίνεται καλύτερα στη θεραπεία με

λαμβουδίνη από τον C. Η σύγκριση μεταξύ των γονοτύπων B και C¹¹⁶ φαίνεται καλύτερα στον Πίνακα 4.

Πίνακας 4. Κλινικές και ιολογικές διαφορές των γονοτύπων B και C.

	Γονότυπος B	Γονότυπος C
HBsAg (+)	Λιγότερο	Περισσότερο
Φάση ανοσολογικής κάθαρσης	Βραχύτερη	Μακρύτερη
Σοβαρότητα κλινικών εξάρσεων	Μικρότερη	Μεγαλύτερη
Ιστολογική δραστηριότητα	Εντονότερη	Μικρότερη
Επίπεδα HBV DNA ορού	Χαμηλότερα	Υψηλότερα
Συχνότητα μεταλλαγών στην προπυρηνική περιοχή	Μεγαλύτερη	Μικρότερη
Συχνότητα μεταλλαγών στο βασικό προωθητή της πυρηνικής πρωτεΐνης	Μικρότερη	Μεγαλύτερη
Ανταπόκριση στη θεραπεία	Καλύτερη	Χειρότερη
Κλινική έκβαση	Καλύτερη	Χειρότερη

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

2.1. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΛΟΙΜΩΞΗΣ ΑΠΟ ΤΟΝ HBV

Η ηπατίτιδα Β είναι ένα παγκόσμιο πρόβλημα υγείας. Ενδημεί στην Ασία, την Αφρική, τη Νότια Ευρώπη και τη Λατινική Αμερική, όπου γενικά ο επιπολασμός του HBsAg στο γενικό πληθυσμό κυμαίνεται από 2-20%. Περίπου 2 δισεκατομμύρια άνθρωποι, γύρω στο 1/3 του πληθυσμού της γης, έχουν ορολογικούς δείκτες προηγούμενης ή συνεχιζόμενης λοίμωξης από τον HBV.^{117,118} Οι «σιωπηλοί φορείς» του ιού αποτελούν μία διαρκή δεξαμενή διασποράς της μόλυνσης, αλλά και οι ίδιοι κινδυνεύουν από τις μακροχρόνιες επιπλοκές της λοίμωξης. Παγκοσμίως οι 350.000.000 ασθενείς με χρόνια λοίμωξη από τον HBV έχουν ετήσιο κίνδυνο ανάπτυξης ηπατικής νόσου σχετιζόμενης με τον HBV 15–25%.¹¹⁹ Κάθε χρόνο συμβαίνουν περίπου 1.500.000 – 2.000.000 θάνατοι που οφείλονται περισσότερο στις μακροχρόνιες επιπλοκές της χρόνιας ηπατίτιδας Β (κίρρωση, πυλαία υπέρταση, ΗΚΚ) παρά στις αντίστοιχες πρώιμες της οξείας λοίμωξης.^{120,118} Στις Η.Π.Α., καταγράφονται περίπου 300.000 νέα κρούσματα ηπατίτιδας Β κάθε χρόνο.¹²¹

Οι Η.Π.Α., η Δυτική Ευρώπη, η Αυστραλία και η Νέα Ζηλανδία έχουν χαμηλό επιπολασμό του HBsAg, περίπου 0,1–2%. Σε ενδιάμεσης ενδημικότητας περιοχές όπως οι Μεσογειακές χώρες, η Ιαπωνία, η Ινδία και η Σιγκαπούρη το ποσοστό αυτό ανέρχεται στο 2-5%. Περιοχές με επιπολασμό του HBsAg >8% (υψηλής ενδημικότητας) είναι η Κίνα, η Νοτιοανατολική Ασία, η Μέση Ανατολή και η Λατινική Αμερική. Σ' αυτές τις περιοχές, το 70-90% του πληθυσμού έχει ορολογικούς δείκτες

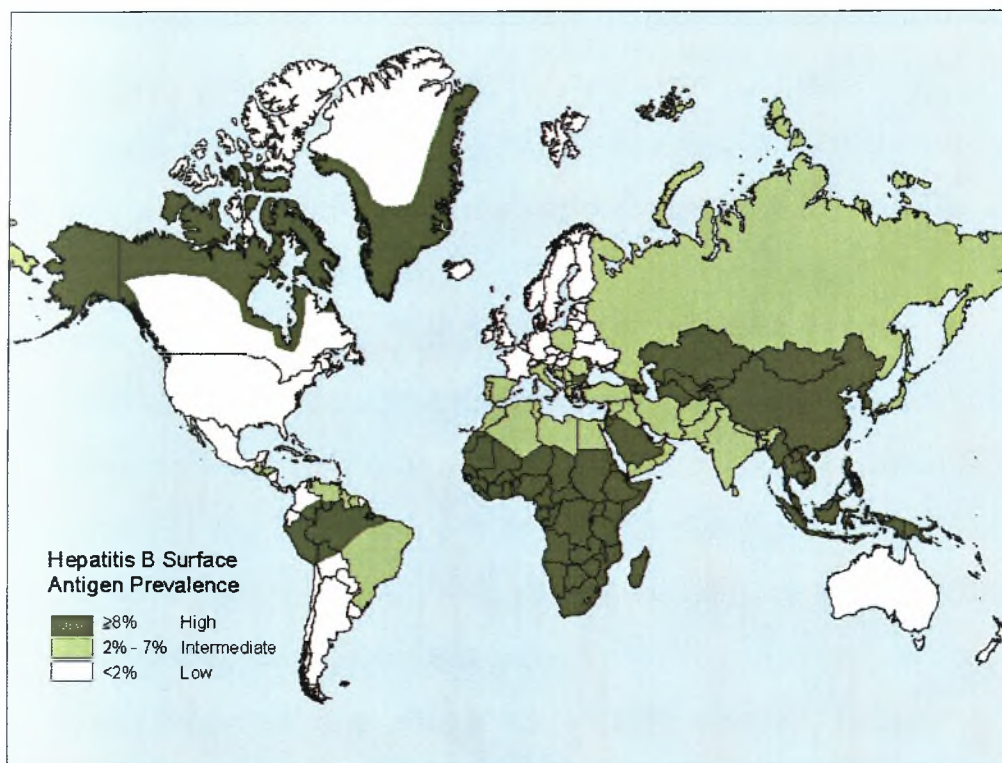
παρελθούσας λοίμωξης από τον HBV. Στις Η.Π.Α., οι Αφρο-αμερικανοί, οι Ισπανόφωνοι και οι Ασιάτες έχουν υψηλότερα ποσοστά λοίμωξης από το λευκό πληθυσμό.¹²² Άλλες ομάδες πληθυσμού με υψηλά ποσοστά λοίμωξης είναι οι Εσκιμώοι της Αλάσκας, οι κάτοικοι των νησιών του Ειρηνικού στην Ασία και οι Αυστραλοί ιθαγενείς (Πίνακας 5, Εικόνα 1).

Πίνακας 5. Πρότυπα λοίμωξης από τον HBV.

Ενδημικότητα	Υψηλή	Ενδιάμεση	Χαμηλή
Επιπολασμός HBsAg	~8%	2-7%	0,1-2%
Γεωγραφική κατανομή	ΝΑ Ασία Νησιά Ειρηνικού Αφρική Αλάσκα (Εσκιμώοι)	Μεσογειακές χώρες Ανατολική Ευρώπη Κεντρική Ασία Ιαπωνία Λατινική Αμερική Μέση Ανατολή	Η.Π.Α. Καναδάς Αυστραλία Νέα Ζηλανδία
Ηλικία λοίμωξης	Περιγεννητική πρώιμη παιδική	Πρώιμη παιδική	Ενήλικες
Κύριος τρόπος μετάδοσης	Κάθετη Διαδερμική	Διαδερμική Σεξουαλική	Σεξουαλική Διαδερμική

Στις χώρες με υψηλή ενδημικότητα, η μετάδοση γίνεται κυρίως είτε κάθετα από τη μητέρα στο νεογνό είτε οριζόντια από τους γονείς στα παιδιά κατά τα 5 πρώτα χρόνια της ζωής.¹²³ Αντίθετα, η σεξουαλική μετάδοση φαίνεται να αποτελεί το σημαντικότερο τρόπο μόλυνσης στις αναπτυγμένες χώρες. Στις ενδιάμεσης ενδημικότητας χώρες η μετάδοση αφορά σε όλες τις ηλικίες, αλλά η πρώιμη παιδική ηλικία φαίνεται να είναι η ομάδα με τον υψηλότερο κίνδυνο.

Εικόνα 1. Επιδημιολογικός χάρτης της χρόνιας λοίμωξης από τον HBV.



2.2. Η ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ

Η χώρα μας παρουσιάζει ενδιάμεση ενδημικότητα λοίμωξης από τον HBV:^{120,124}

- Συχνότητα HBsAg 2-7% (υπήρχαν στο παρελθόν και ενδημικές περιοχές με HBsAg >8%, π.χ. Αρχάγγελος Ρόδου, Πλατύ Ημαθίας, Αλόννησος, Θράκη). Στις μέρες μας τα στοιχεία είναι ελλιπή για την παρουσία περιοχών θυλάκων του νοσήματος, αν και είναι βέβαιο ότι υπάρχουν.
- Συχνότητα δεικτών προηγούμενης λοίμωξης, δηλαδή αντί-HBs και αντί-HBc 20-50%.

Στην Ελλάδα την τελευταία δεκαετία του 20ού αιώνα έχει παρατηρηθεί συνεχής αύξηση της σεξουαλικής μετάδοσης, ήπια αύξηση στους τοξικομανείς, ενώ το πρόβλημα της ιατρογενούς μετάδοσης κατά τις χειρουργικές ή οδοντιατρικές επεμβάσεις δεν έχει εκτιμηθεί. Αντίθετα, η μετάδοση μετά από μετάγγιση αίματος ή παραγώγων αυτού έχει μειωθεί δραματικά. Και αυτό, γιατί από το 1979 έχει απαγορευθεί η επί πληρωμή αιμοδοσία και οι ανάγκες καλύπτονται από οικογενειακούς αιμοδότες (53%), εθελοντές αιμοδότες (38%), την αιμοδοσία των ενόπλων δυνάμεων (6,1%) και από εισαγωγή αίματος μέσω του Σουηδικού Ερυθρού Σταυρού (4%) (στοιχεία της Ελληνικής Εθνικής Υπηρεσίας Αιμοδοσίας). Μέχρι το 1998, εμβολιασμός γινόταν μόνο στις ομάδες υψηλού κινδύνου. Από το 1998 και μετά εμβολιάζονται υποχρεωτικά τα βρέφη, χωρίς ακόμα, λόγω της μικρής διάρκειας του υποχρεωτικού εμβολιασμού, να έχει φανεί η επίδραση αυτού του μέτρου στην επίπτωση της ηπατίτιδας Β στη χώρα μας.

Η ανάλυση του επιπολασμού της ηπατίτιδας Β στην Ελλάδα είναι δύσκολη, γιατί: α) Υπάρχουν μεγάλες διακυμάνσεις ακόμα και σε γειτονικές περιοχές, β) Υπάρχουν διαφορές ανάλογα με την ηλικιακή σύνθεση των εξεταζόμενων πληθυσμών. Γι' αυτό απαιτούνται μελέτες με μεγάλο δείγμα και ευρεία ηλικιακή κατανομή, επί πολλά έτη και σε όλες τις περιοχές της Ελλάδας, αφού ακόμα και σήμερα για μερικές περιφέρειες της χώρας δεν υπάρχουν καθόλου στοιχεία. Από τα μέχρι τώρα στοιχεία, φαίνεται να υπάρχει σαφής μείωση του επιπολασμού την τελευταία δεκαετία. Παρ' όλα αυτά, η ηπατίτιδα Β είναι ο αιτιολογικός παράγοντας για το 67% των περιπτώσεων της οξείας ικτερικής ηπατίτιδας στην Αθήνα, τη Μακεδονία και την Κρήτη και είναι υπεύθυνη για το 50-80% των ΗΚΚ στην Ελλάδα, αλλά όχι στην Κρήτη, που είναι υπεύθυνη για το

15%.^{125.126.127} Το 1970, οι πρώτες μελέτες έδειξαν ποσοστά του HBsAg στους νεοσύλλεκτους 4,9%, στους φοιτητές Ιατρικής 2,4% και σε νοσηλεύτριες 4,6%.¹²⁸

Ο καλύτερα μελετημένος πληθυσμός στην Ελλάδα είναι οι αιμοδότες, οι οποίοι όμως απέχουν πολύ από το ιδεατό σε επιδημιολογικές μελέτες, που είναι ο γενικός πληθυσμός. Στην Αττική, μία μελέτη¹²⁹ (1991-1996) με σποραδικούς εθελοντές αιμοδότες, νεοσύλλεκτους, μόνιμους στρατιωτικούς και δότες από μέλη των οικογενειών ασθενών, έδειξε ότι ο επιπολασμός του HBsAg για όλες τις ομάδες μελέτης συνολικά ήταν 0,84%. Υψηλότερος ήταν για τους μόνιμους στρατιωτικούς, ενώ μετά το 1995, όλες οι υπό μελέτη ομάδες είχαν επιπολασμό λιγότερο από 1%, κάτι που πιθανόν να αντανακλά την τάση για μείωση της ενδημικότητας της λοίμωξης στην Ελλάδα. Σε μία δεύτερη μελέτη¹³⁰ στην Κρήτη πενταετούς διάρκειας, σε 45.188 εθελοντές αιμοδότες, διαπιστώθηκε επιπολασμός πολύ μικρότερος του 1% (μέση τιμή για όλους τους εξετασθέντες 0,45%). Οι αιμοδότες του Ρεθύμνου είχαν το μικρότερο επιπολασμό (0,2%), των Χανίων ενδιάμεσο (0,46%) και του Ηρακλείου τον υψηλότερο (0,64%). Στην ίδια γεωγραφική περιοχή, σε καλά καθορισμένο αγροτικό πληθυσμό, βρέθηκε επιπολασμός ηπατίτιδας Β 0% και προηγούμενη έκθεση στον ιό 9,8%.¹³¹ Αντίθετα, όταν μελετήθηκαν νοσοκομειακοί ασθενείς,¹³² ο επιπολασμός του HBsAg ανήλθε στο 2,66%, με σημαντική διαφορά ανάμεσα στα δύο φύλα (3,39% άνδρες, 1,97% γυναίκες), ενώ η έκθεση στον ιό ήταν της τάξης του 20,96%. Φαίνεται λοιπόν, ότι η Κρήτη είναι μια περιοχή χαμηλής ενδημικότητας για τον HBV, ειδικά στους αιμοδότες.

Στην Ήπειρο, μία άλλη μελέτη σε αιμοδότες,¹³³ κατέδειξε ότι 16% του δείγματος είχε ορολογικούς δείκτες παρούσης ή παρελθούσης λοίμωξης από τον HBV. Η Ήπειρος έχει ενδιάμεση ενδημικότητα ηπατίτι-

δας Β. Ο επιπολασμός όμως, δείχνει να μειώνεται από 3,5% (1978-1982) και 2,1% (1985-1992)^{134,135} σε 0,85% σύμφωνα με τα πιο πρόσφατα δεδομένα.¹³³ Αντίθετα με την Κρήτη, στην Ήπειρο οι δότες άνω των 40 ετών και στα δύο φύλα έχουν έρθει πιο συχνά σε επαφή με τον ιό, κάτι που προφανώς έγινε τις προηγούμενες δεκαετίες, όταν και ο επιπολασμός ήταν υψηλότερος.¹³³ Παρόλο που τα ποσοστά HBV λοίμωξης στην Ήπειρο είναι υψηλότερα από την Κρήτη, τα αποτελέσματα είναι θετικά, γιατί από το 1991 εισέρευσε μεγάλο κύμα μεταναστών από την Αλβανία (χώρα με επιπολασμό HBsAg 23%),¹³⁴ κάτι που τελικά δε φαίνεται να επηρέασε τον Ελληνικό πληθυσμό, τουλάχιστον των αιμοδοτών.¹³³

Στην ίδια γεωγραφική περιοχή βρέθηκε ότι οι αλκοολικοί με ή χωρίς ηπατική νόσο αποτελούν ομάδα υψηλού κινδύνου,¹³⁵ καθώς η συχνότητα του HBsAg ανάμεσα σε αλκοολικούς με ηπατική νόσο, αλκοολικούς χωρίς ηπατική νόσο, μη αλκοολικούς νοσηλευθέντες ασθενείς και τέλος υγιείς ήταν 10,8%, 7,4%, 1,4% και 2,1% αντίστοιχα. Επιπλέον, το ποσοστό λοίμωξης από τον HBV στους μετανάστες από την Αλβανία ήταν 22,2%, ενώ το 40% είχε δείκτες παρελθούσας έκθεσης στον ιό.¹³⁴ Η τελευταία μελέτη παρείχε σημαντικές πληροφορίες σχετικά με τον επιπολασμό του HBV σε ένα μη επιλεγμένο αλλά καλά καθορισμένο προσφυγικό πληθυσμό από τη νότια Αλβανία, σε σύγκριση με μάρτυρες Ελληνικής υπηκοότητας. Συμπερασματικά, οι πρόσφυγες από τη νότια Αλβανία και τα ανατολικά κράτη φαίνεται ότι αποτελούν ένα νέου είδους μεταναστευτικό πληθυσμό που χαρακτηρίζεται, ιδίως στις νεότερες ηλικίες, από υψηλό επιπολασμό λοίμωξης από ιογενή ηπατίτιδα Β. Ο επιπολασμός αυτός είναι υψηλότερος από αυτούς που έχουν καταγραφεί σε γνωστές ομάδες υψηλού κινδύνου (αλκοολικοί, τοξικομανείς). Τα ευρήματα αυτά ίσως αντανakλούν το χαμηλό κοινωνικοοικονομικό

επίπεδο των προσφύγων. Ο αυξημένος επιπολασμός της HBV λοίμωξης σ' αυτόν τον πληθυσμό ίσως αυξήσει μελλοντικά τον αντίστοιχο στην περιοχή της Ηπείρου και κατ'επέκταση ολόκληρης της χώρας, αφού οι περισσότεροι φορείς ανήκουν στην αναπαραγωγική ηλικία (20-40 ετών).

Σε γενικές γραμμές εκτός από τους αιμοδότες, φαίνεται στις μέρες μας να υπάρχει σαφής τάση για μείωση της συχνότητας της λοίμωξης^{129,130,133,137,138} ακόμα και σε ομάδες υψηλού κινδύνου, όπως οι πόρνες.¹³⁹ Ιδιαίτερα οι νέοι κάτω των 30 ετών παρουσιάζουν επιπολασμό που τείνει προς τον παρατηρούμενο στη Βόρεια Ευρώπη. Όλοι όμως συμφωνούν ότι υπάρχει ανάγκη λεπτομερέστερης καταγραφής στις ήδη μελετημένες αλλά και σε «σκοτεινές» περιοχές της Ελλάδας, όπως η Θεσσαλία και η Πελοπόννησος, με σκοπό την διαπίστωση του μεγέθους του προβλήματος σε όλη την Ελληνική επικράτεια, αλλά και την ανάδειξη περιοχών με σημαντικά μεγαλύτερο επιπολασμό από τις γειτονικές τους (θύλακες του νοσήματος).

2.3. ΜΕΤΑΔΟΣΗ ΤΟΥ HBV

Ο HBV μεταδίδεται κυρίως παρεντερικά και διαδερμικά (μετάγγιση μολυσμένου αίματος ή παραγώγων αυτού και έμμεσα μετά επαφή με μολυσμένο αίμα, βιολογικά υγρά ή κοινόχρηστες συσκευές), με τη σεξουαλική επαφή και κάθετα από τη μητέρα στο νεογνό. Πριν 40 περίπου έτη, η πιθανότητα μόλυνσης από τον ιό της ηπατίτιδας Β μέσω μετάγγισης αίματος ήταν 50%. Το HBsAg ανιχνευόταν στο 60% των ασθενών με ηπατίτιδα μετά από μετάγγιση. Αργότερα με την εφαρμογή των ορολογικών ελέγχων τα παραπάνω ποσοστά μειώθηκαν δραματικά.¹⁴³ Στις Η.Π.Α., για τον έλεγχο των δοτών, χρησιμοποιούνται τόσο το HBsAg όσο και το αντί-HBc. Αρχικά

το αντίσωμα αντί-HBc χρησιμοποιήθηκε σαν ορολογικός δείκτης του ιού της αποκαλούμενης τότε μη Α μη Β ηπατίτιδας. Μετά την εφαρμογή του ελέγχου για την ηπατίτιδα C, το αντί-HBc διατηρήθηκε (στις Η.Π.Α.) για τον εντοπισμό δοτών που βρίσκονται στην περίοδο του παραθύρου ή έχουν χαμηλής ιαιμίας χρόνια λοίμωξη από τον HBV ή τέλος ως βοηθητικός δείκτης λοίμωξης από ρετροϊούς. Το φαινόμενο της μετα-μετάγγισης ηπατίτιδας οφείλεται είτε σε συγκεντρώσεις HBsAg χαμηλότερες του ορίου ευαισθησίας της χρησιμοποιούμενης διαγνωστικής μεθόδου είτε σε μεταλλαγές του ιικού γονιδιώματος που οδηγούν σε μεταλλαγές των αμινοξέων της πρωτεΐνης επιφανείας.^{71,141} Επίσης οι μεταλλαγές μπορεί να προκαλέσουν σημαντική μείωση του ιικού πολλαπλασιασμού με συνοδό μείωση των επιπέδων του HBsAg. Στην Ευρώπη, οι περισσότερες από τις σπάνιες περιπτώσεις οξείων μετα-μετάγγιση ηπατιτίδων Β οφείλονται στο φαινόμενο της περιόδου παραθύρου του πυρήνα, επειδή στα τμήματα αιμοδοσίας των χωρών της δε γίνεται έλεγχος για το αντί-HBc.¹²⁰ Στις Η.Π.Α., η τρέχουσα πιθανότητα μόλυνσης από τον HBV μετά από μετάγγιση από δότη αρνητικό για το HBsAg και το αντί-HBc είναι 1/63000 φιάλες,^{140,142} ενώ για κάθε 100.000 ελέγχους αιμοδοτών ανευρίσκονται κατά μέσο όρο 78,6 περιπτώσεις ατόμων HBsAg (+).¹⁴³

Η διαδερμική μετάδοση αποτελεί έμμεση μετάδοση του ιού μετά από επαφή με μολυσμένο αίμα ή άλλα βιολογικά υγρά ή με χρήση άλλων κοινόχρηστων μέσων όπως ξυραφάκια, οδοντόβουρτσες, σύριγγες, χειρουργικά ή οδοντιατρικά εργαλεία όχι σωστά αποστειρωμένα. Γι' αυτό δραστηριότητες όπως τα τατουάζ, ο βελονισμός, το τρύπημα αυτιών και οι κοφτές βεντούζες καθίστανται ιδιαίτερα επικίνδυνες.^{140,144-147} Περίπου 8-16.000.000 νέα κρούσματα της λοίμωξης κάθε χρόνο οφείλονται σε χρήση μολυσμένων βελονών

κάθε είδους, αριθμός που αντιστοιχεί στο 20% των νέων μολύνσεων ανά έτος στις αναπτυσσόμενες χώρες.¹⁴⁸

Στις Η.Π.Α. και άλλες ανεπτυγμένες χώρες (π.χ. Καναδάς) η σεξουαλική επαφή είναι ο πιο σημαντικός τρόπος μετάδοσης του HBV και ευθύνεται για το 30% των κρουσμάτων οξείας ηπατίτιδας Β.¹⁴⁹ Υψηλός επιπολασμός υπάρχει τόσο στους ομοφυλόφιλους όσο και στους ετεροφυλόφιλους με ιστορικό εναλλαγής πολλών σεξουαλικών συντρόφων. Στις αρχές της δεκαετίας του 1980, η ετήσια επίπτωση του HBsAg στους ομοφυλόφιλους των Η.Π.Α. ήταν 20%. Στις μέρες μας το ποσοστό αυτό έχει πέσει κάτω του 10%, λόγω και της αλλαγής που επήλθε στη σεξουαλική συμπεριφορά των ομάδων υψηλού κινδύνου εξ' αιτίας του A.I.D.S.¹⁴⁹ Ο κίνδυνος της σεξουαλικής μετάδοσης είναι ανάλογος του αριθμού των συντρόφων, του επιπέδου υγιεινής, του επιπέδου εκπαίδευσης και ενημέρωσης γύρω από την ασθένεια και τους τρόπους μετάδοσής της καθώς και του προηγούμενου ιστορικού σεξουαλικώς μεταδιδόμενων νοσημάτων.^{140,150}

Η κάθετη μετάδοση δεν είναι συνηθισμένος τρόπος διασποράς του ιού στις αναπτυγμένες χώρες, αντίθετα με ότι συμβαίνει στις υπό ανάπτυξη. Σε ενδημικές περιοχές το ποσοστό της κάθετης – περιγεννητικής μετάδοσης, αν δε γίνει η δέουσα προφύλαξη του νεογνού, κυμαίνεται γύρω στο 90% μέχρι την ηλικία των έξι μηνών, ειδικά αν οι μητέρες είναι HBeAg (+).¹⁵¹ Περίπου το 90% αυτών των παιδιών θα αποκτήσει χρόνια λοίμωξη από τον HBV.¹⁵¹ Αντίθετα, η πιθανότητα κάθετης – περιγεννητικής μετάδοσης από μητέρες HBeAg (-) κυμαίνεται στο 10-40%. (Στο 40-70% αυτών, η λοίμωξη θα μεταπέσει σε χρόνια).^{151,152} Η μητέρα μπορεί να μολύνει το έμβρυο – βρέφος καθ' όλη τη διάρκεια της κύησης με εμβρυομητρική μετάδοση αίματος, κατά τον τοκετό με απ' ευθείας έκθεση στο μητρικό αίμα και πολύ πιο πιθανά κατά την περιγεννητική περίοδο. Η ενδομητρική μετάδοση είναι

ιδιαίτερα ασυνήθιστη κάτι που πιστοποιείται από την καθυστερημένη εμφάνιση του HBsAg στα νεογνά.¹⁴⁰ Επιπλέον, η ενεργητική και παθητική ανοσοποίηση του νεογέννητου επιτυγχάνει τελικά την προφύλαξή του από τον HBV σε ποσοστό άνω του 90% των περιπτώσεων.¹⁵³ Οι κύριοι παράγοντες κινδύνου για την σπάνια πιθανότητα της ενδομητρικής λοίμωξης του εμβρύου είναι το θετικό HBeAg της μητέρας, το ιστορικό επαπειλούμενης αποβολής στο 1^ο τρίμηνο της κύησης και η ύπαρξη του HBV στον πλακούντα, ειδικά στα ενδοθηλιακά κύτταρα των λαχνών.¹⁵⁴ Η καισαρική τομή δε φαίνεται να ελαττώνει τον κίνδυνο μετάδοσης της λοίμωξης.¹⁵⁵ Παρόλο που το HBV DNA έχει ανιχνευθεί στο μητρικό γάλα, δεν υπάρχει καμία απόδειξη ότι το νεογνό μπορεί να μολυνθεί κατά το θηλασμό,¹⁵⁶ αν αναλογιστεί βεβαίως κανείς ότι έχει γίνει έγκαιρα και σωστά η ενεργητική και παθητική ανοσοποίησή του.¹⁵⁷

Η μετάδοση του HBV μπορεί επίσης να συμβεί ενδονοσοκομειακά είτε ιατρογενώς¹⁵⁸ είτε από ασθενή σε ασθενή^{159,160} είτε από ασθενή στο προσωπικό μέσω μολυσμένων συσκευών¹⁶¹ ή μετά από τυχαίο τρύπημα με βελόνα. Ο κίνδυνος μόλυνσης από ένα τέτοιο τρύπημα εξαρτάται από την παρουσία ή όχι του HBeAg,¹⁶² και κυμαίνεται από το 20% ως το 66%, αντίστοιχα.¹⁶³ Λοίμωξη μπορεί να συμβεί χωρίς εμφανή τραυματισμό μετά έκθεση σε διάφορα βιολογικά υγρά του ασθενούς ή εμμέσως από μολυσμένα αντικείμενα, καθώς ο HBV μπορεί να επιζήσει επί μία περίπου εβδομάδα σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.¹⁶⁴ Σημαντική είναι και η διασπορά του ιού μέσω των μηχανημάτων αιμοδιύλισης στις μονάδες τεχνητού νεφρού.^{165,166} Το γεγονός αυτό είχε σαν αποτέλεσμα την οδηγία για έγκαιρη διάγνωση και απομόνωση των ασθενών με τελικού σταδίου νεφρική ανεπάρκεια και λοίμωξη από τον HBV και τον εμβολιασμό κατά του HBV των ευαίσθητων ασθενών πριν ακόμα εισέλθουν σε πρόγραμμα χρόνιας αιμοκάθαρσης.

Φαίνεται ότι τα μολυσμένα παράγωγα αίματος, τα τυχαία τρυπήματα με βελόνες και η μόλυνση του περιβάλλοντος χώρου αποτελούν τα κύρια αίτια εξάπλωσής του στα κέντρα αιμοκάθαρσης.^{167,168} Εντούτοις, τα τελευταία χρόνια έχει παρατηρηθεί σημαντική μείωση του επιπολασμού της ηπατίτιδας Β στους αιμοκαθαιρόμενους ασθενείς ως αποτέλεσμα των διαφόρων προφυλακτικών μέτρων που έχουν ληφθεί (εμβολιασμός, αυστηρά μέτρα υγιεινής στις μονάδες τεχνητού νεφρού και απομόνωση των HBV θετικών ασθενών τόσο στο χώρο όσο και στη χρήση του μηχανήματος).¹⁶⁹

Η μετάδοση από το προσωπικό των υπηρεσιών υγείας προς τους ασθενείς είναι εξαιρετικά σπάνια. Στις Η.Π.Α. και την Αγγλία εργαζόμενοι με λοίμωξη από τον HBV απαγορεύεται να εκτελούν ή να συμμετέχουν σε αιματηρές διαδικασίες ή επεμβάσεις. Παρά τις γενικές προφυλάξεις που λαμβάνονται, πρόσφατα αναφέρθηκε μια έξαρση μόλυνσης από τον HBV σε ασθενείς καρδιοχειρουργικής μονάδας. Η μετάδοση αποδόθηκε στον ιδρώτα (!) και σε μικρές εκδορές στα δάχτυλα ενός χειρουργού με υψηλούς τίτλους HBV DNA.^{170,171}

Επιπλέον, μετάδοση του HBV έχει αναφερθεί μετά από μεταμόσχευση εξωηπατικών οργάνων (π.χ. νεφροί) από δότες θετικούς για το HBsAg.¹⁷² Αυτή φαίνεται να σχετίζεται με την παραμονή αίματος στο μόσχευμα εξ' αιτίας ανεπαρκούς καθαρισμού ή παρουσία εξωκυτταρικών μορφών του ιού (virions) στους νεφρούς.¹⁷³ Μετάδοση μπορεί να γίνει και κατά τη μεταμόσχευση ανάγγειων ιστών όπως ο κερατοειδής.¹⁷⁴ Η σημασία του ελέγχου των δοτών για το αντί-HBc είναι υπό αμφισβήτηση, καθώς υπάρχει πιθανότητα ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων με αποτέλεσμα να αποκλειστούν πολύτιμοι δότες.^{133,172} Πράγματι, η μετάδοση του HBV από δότες αντί-HBc (+) είναι χαμηλή (0-2%) σε μεταμοσχεύσεις καρδιάς και νεφρών.^{172,173} Εντούτοις, ποικίλλει (0-78%) σε μεταμοσχεύσεις ήπα-

τος.^{140,175,176} Σε κάθε περίπτωση τα όργανα αντί-HBc (+) δοτών φαίνεται ότι μπορούν να κατευθυνθούν με ασφάλεια σε λήπτες αντί-HBs (+) και/ή αντί-HBc (+) πριν από τη μεταμόσχευση.¹⁷⁷

Σε ενδημικές περιοχές, οριζόντια μετάδοση, κυρίως μεταξύ των παιδιών, μπορεί να γίνει κατά τη στενή σωματική επαφή και το συγχρωτισμό πολλών ατόμων σε μικρούς χώρους. Τα αιματοφάγα έντομα (π.χ. κουνούπια) έχει αποδειχθεί ότι μπορούν να λειτουργήσουν ως ενδιάμεσοι ξενιστές για τη μετάδοση του HBV σε ζώα, αλλά δεν υπάρχουν αποδείξεις ότι κάτι τέτοιο μπορεί να συμβεί και στον άνθρωπο.¹⁴⁰ Το HBsAg έχει ανιχνευθεί σε πολλά υγρά του ανθρώπινου σώματος (αίμα, σπέρμα, σάλιο, κολπικές εκκρίσεις, μητρικό γάλα και ασκитικό υγρό),¹⁶³ αλλά μόνο το σπέρμα και το σάλιο έχει αποδειχθεί ότι μπορεί να περιέχουν μεγάλο ιικό φορτίο.^{179,180} Παρ'όλα αυτά η πιθανότητα μετάδοσης του HBV στον άνθρωπο μέσω του σάλιου φορέων του ιού, δεν έχει αποδειχθεί.^{180,181}

2.4. ΟΜΑΔΕΣ ΥΨΗΛΟΥ ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΛΟΙΜΩΞΗΣ ΑΠΟ ΤΟΝ HBV

Οι εργαζόμενοι στις υπηρεσίες υγείας είναι φορείς του ιού σε υψηλότερη συχνότητα σε σχέση με αυτή του γενικού πληθυσμού. Ειδικότερα, η συχνότητα λοίμωξης από τον HBV φαίνεται να είναι υψηλότερη μεταξύ χειρουργών, παθολόγων και εργαζομένων σε ογκολογικές μονάδες καθώς και σε μονάδες τεχνητού νεφρού.^{161,182} Άλλα επαγγέλματα υγείας με αυξημένο κίνδυνο μόλυνσης είναι οι οδοντίατροι, οι μικροβιολόγοι και γενικώς οι εργαζόμενοι σε βιοϊατρικά εργαστήρια.¹⁸² Οι ιδρυματικοί έγκλειστοι καθώς και το οικογενειακό τους περιβάλλον ανήκουν επίσης στις ομάδες υψηλού κινδύνου.¹⁴⁰

Παρά τους ελέγχους στις φιάλες αίματος αλλά και στα παράγωγά του, οι πολυμεταγγιζόμενοι (π.χ. αιμορροφιλικοί και θαλασσαιμικοί) εξακολουθούν να έχουν αυξημένο κίνδυνο μόλυνσης από τον HBV, βεβαίως σημαντικότερα μειωμένο σε σχέση με τον αντίστοιχο προ 20-30 ετών.¹⁴⁰ Οι αιμοκαθαιρόμενοι ασθενείς είναι δυνατό να μολυνθούν μέσω μεταγγίσεων (σπάνια σήμερα) αλλά κυρίως κατά τη διαδικασία της αιμοκάθαρσης. Η βελτίωση των ελέγχων, η απομόνωση των ασθενών, η χρήση ενός μηχανήματος αλλά και ο εμβολιασμός έχει μειώσει δραματικά το ποσοστό των λοιμώξεων από τον HBV μεταξύ των αιμοκαθαιρόμενων (<1%) στις Η.Π.Α.^{166,183} Καθώς οι ασθενείς της κατηγορίας αυτής έχουν μειωμένη ανοσολογική απάντηση στον εμβολιασμό, (αναποτελεσματική ενεργοποίηση των ειδικών Τ-κυττάρων¹⁸⁴) πρέπει πάντα να υπάρχει επαγρύπνηση στις μονάδες τεχνητού νεφρού για την αποφυγή εξάρσεων λοίμωξης από τον HBV.

Άλλες ομάδες υψηλού κινδύνου αποτελούν οι χρήστες ενδοφλεβίων τοξικών ουσιών,¹⁸⁵ οι αλκοολικοί,¹³⁵ οι μεταμοσχευθέντες¹⁷²⁻¹⁷⁴ και άτομα χαμηλού κοινωνικοοικονομικού επιπέδου, άτομα με πολλαπλές οδοντιατρικές εργασίες ανά έτος,¹⁸⁶ οι ετεροφυλόφιλοι με πολλαπλούς σεξουαλικούς συντρόφους,^{140,150} οι ομοφυλόφιλοι^{140,150} και οι ερωτικοί σύντροφοι φορέων του ιού,^{149,187} τα μέλη οικογενειών φορέων του ιού^{140,149,187} και νεογνά θετικών μητέρων,^{151,152} καθώς και το προσωπικό των φυλακών και άλλων σωφρονιστικών ιδρυμάτων.^{120,140,188} Παρ'όλα αυτά, αξίζει να σημειωθεί ότι στο 1/3 των ασθενών με οξεία ή χρόνια ιογενή ηπατίτιδα Β δεν ανευρίσκεται κάποιος παράγοντας κινδύνου σχετιζόμενος με τη μετάδοση του ιού.¹²⁰

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

3.1. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΤΗΣ ΛΟΙΜΩΞΗΣ ΑΠΟ ΤΟΝ HBV

Ο ασθενής με οξεία ικτερική ηπατίτιδα Β (1/3 του συνόλου των κρουσμάτων στους ενήλικες) προσέρχεται συνήθως με χαρακτηριστική κλινική εικόνα και ο ιατρός θα θέσει τη διάγνωση στηριζόμενος στο ιστορικό, τη φυσική εξέταση, τον κλασσικό βιοχημικό έλεγχο και τους ειδικούς ορολογικούς δείκτες (Πίνακας 6). Αντίθετα η χρόνια ηπατίτιδα Β ακολουθεί συνήθως υποκλινική πορεία και η διάγνωση γίνεται τυχαία είτε κατά τον έλεγχο εξετάσεων ρουτίνας είτε κατά τον έλεγχο στον οποίο υποβάλλονται οι υποψήφιοι αιμοδότες ή κατόπιν διαπίστωσης κρούσματος οξείας ή χρόνιας ηπατίτιδας Β σε κάποιον στενό συγγενή ή άτομο του στενού περιβάλλοντος του πάσχοντος. Η ανίχνευση του HBsAg στον ορό αποτελεί τον ακρογωνιαίο λίθο στη διάγνωση της λοίμωξης από τον HBV (παραμονή του για διάστημα μεγαλύτερο των έξι μηνών ορίζει τη χρόνια λοίμωξη).

Πίνακας 6. Αντιγόνα και αντισώματα στον ιό της ηπατίτιδας Β.

Αντιγόνα	Αντισώματα
Αντιγόνο επιφανείας (HBsAg)	Αντίσωμα έναντι του αντιγόνου επιφανείας (αντί-HBs)
Αντιγόνο πυρήνα (HBcAg) *	Αντίσωμα έναντι του αντιγόνου του πυρήνα (αντί-HBc)
Αντιγόνο e (HBeAg)	Αντίσωμα έναντι του αντιγόνου e (αντί-HBe)

*Ανιχνεύεται μόνο στον ηπατικό ιστό

3.1.1. ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΟΣ ΚΑΙ ΒΙΟΧΗΜΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

Στην οξεία ηπατίτιδα Β ο αριθμός των λευκών είναι φυσιολογικός ή μέτρια μειωμένος, αλλά υποστρέφει με την εμφάνιση του ικτέρου, εκτός από την περίπτωση οξείας κεραυνοβόλου ηπατίτιδας Β όπου είναι δυνατό να παρατηρηθεί λευκοκυττάρωση. Ανευρίσκονται άτυπα λεμφοκύτταρα, ενώ υπάρχει παράταση του χρόνου προθρομβίνης σε βαριές περιπτώσεις (προγνωστικός δείκτης). Σπάνια, συνυπάρχει και πτώση του αιματοκρίτη. Η χολερυθρίνη αυξάνεται (στην ικτερική μορφή) και διαπιστώνεται αποβολή άμεσης χολερυθρίνης στα ούρα. Η αύξηση των αμινοτρανσφερασών είναι χαρακτηριστική και τιμές 1.000-2.000 IU/L είναι τυπικές. Η ALT είναι συνήθως υψηλότερη από την AST και σχετίζεται με το βαθμό της ηπατοκυτταρικής βλάβης αλλά όχι και με την πρόγνωση. Κατά την αποδρομή της οξείας λοίμωξης τα επίπεδα των αμινοτρανσφερασών επανέρχονται στο φυσιολογικό μέσα σε 1-4 εβδομάδες, ακολουθούμενα από ανάλογη πτώση και της χολερυθρίνης. Η παραμονή της αύξησης των ενζύμων πέραν του εξαμήνου σηματοδοτεί χρόνια ηπατοκυτταρική βλάβη και επιμένουσα φλεγμονή. Τα χολοστατικά ένζυμα μπορεί να παρουσιάζουν ήπια αύξηση, ενώ η λευκωματίνη μειώνεται σε ορισμένες περιπτώσεις (χρόνος ημίσειας ζωής 20 ημέρες).^{120,141}

Στη χρόνια ηπατίτιδα Β ο αιματολογικός και βιοχημικός έλεγχος μπορεί να είναι τελείως φυσιολογικός τόσο στους φορείς που βρίσκονται στη χρόνια ανενεργό φάση της νόσου, όσο και σε ασθενείς με πιο προχωρημένη νόσο. Μια μικρή αύξηση των ηπατικών ενζύμων είναι συνήθης και μπορεί να είναι και το μόνο παθολογικό εύρημα. Καθώς η νόσος προοδεύει, τα αποτελέσματα των εργαστηριακών εξετάσεων γίνονται σταδιακά περισσότερο παθολογικά και απεικονίζονται καλύτερα από τα επίπεδα των

αμινοτρανσφερασών. Υψηλότερα επίπεδα ALT από εκείνα της AST υποδηλώνουν την πιθανότητα ανάπτυξης κίρρωσης, όπως άλλωστε τα υψηλά επίπεδα των γ-σφαιρινών, τα χαμηλά επίπεδα λευκωματίνης στον ορό και η παράταση του χρόνου προθρομβίνης. Σε ορισμένους ασθενείς ανιχνεύονται επίσης δείκτες αυτοάνοσης αντίδρασης όπως, τα αντιπυρηνικά αντισώματα (ANA), τα αντισώματα κατά λείων μυικών ιών (SMA) και ρευματοειδείς παράγοντες (RF).^{120,141,137,189}

3.1.2. ΟΡΟΛΟΓΙΚΟΣ ΚΑΙ ΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ ΤΗΣ ΛΟΙΜΩΞΗΣ ΑΠΟ ΤΟΝ HBV

Η επανάσταση στη διάγνωση της ηπατίτιδας Β έγινε με την ανακάλυψη του «αυστραλιανού» αντιγόνου το 1965.¹⁹⁰ Ως σήμερα, μεγάλη πρόοδος έχει επιτευχθεί με την επινόηση και εφαρμογή νέων διαγνωστικών τεχνικών για την ανίχνευση του HBsAg αλλά και για την αρτιότερη εκτίμηση της βαρύτητας και της εξέλιξης της λοίμωξης, την παρακολούθηση, την πρόληψη και τη θεραπεία των ασθενών. Το HBV DNA μπορεί να μετρηθεί στον ορό με μεθόδους μοριακής βιολογίας, ενώ τα HBsAg και HBcAg μπορούν να ανιχνευθούν στον ηπατικό ιστό με ανοσοϊστοχημικές τεχνικές.

Οι παρακάτω ορολογικοί και ιολογικοί δείκτες θέτουν τη διάγνωση (Πίνακας 7, Σχήμα 6-7):

α) HBsAg: Είναι ο αντιγονικός επίτοπος της πρωτεΐνης επιφανείας και βρίσκεται στον ορό ασθενών με οξεία αλλά και χρόνια λοίμωξη. Ανιχνεύεται με τρίτης γενιάς ανοσοενζυμικές (EIA) ή ραδιοανοσομετρικές μεθόδους (RIA), που έχουν πολύ μεγάλη ευαισθησία (χαμηλότερα επίπεδα ανίχνευσης 0,02- 1ng/ml). Τιμές από 10.000 ως 100.000 ng/ml αποτελούν το σύνηθες εύρος των μετρήσεων. Οι μέθοδοι πλην της υψηλής ευαισθησίας,

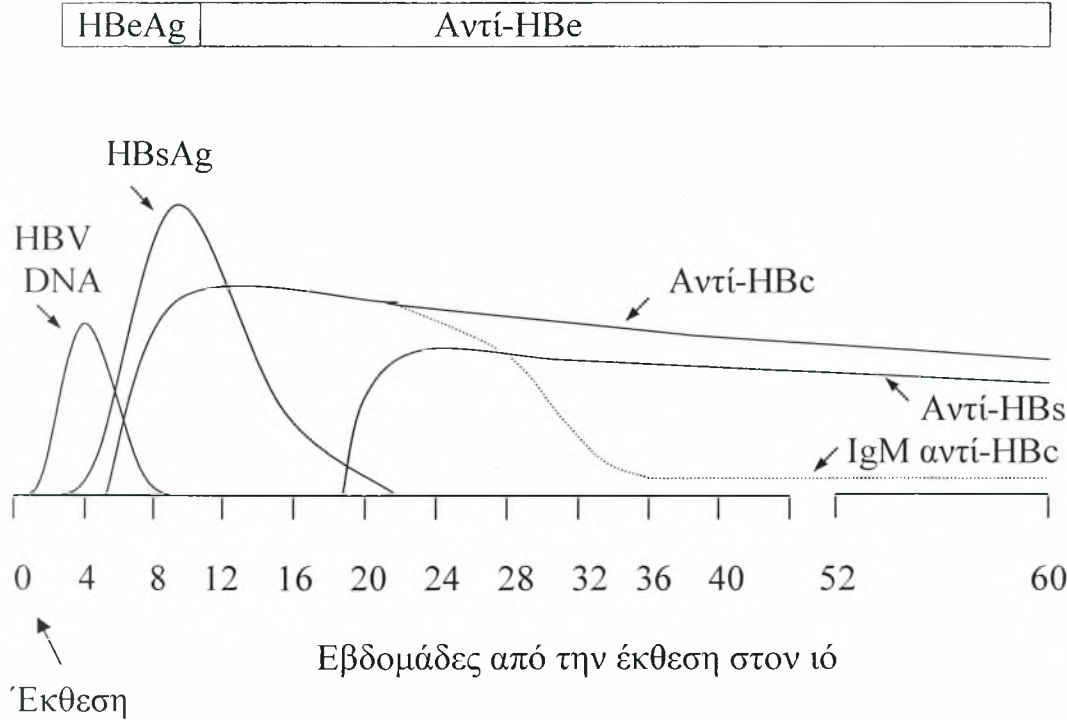
Πίνακας 7. Ερμηνεία των ορολογικών και ιολογικών δεικτών στην ηπατίτιδα Β.

HBsAg	Αντί-HBs	Αντί-HBc	HBeAg	Αντί-HBe	HBV DNA	Ερμηνεία
+	-	IgM	+	-	+	Οξεία ηπατίτιδα Β
-	-	IgM	+ ή -	-	+ ή -	Οξεία ηπατίτιδα Β (core window)
-	+	IgG	-	+ ή -	-	Ανάρρωση μετά από οξεία ηπατίτιδα Β (ανοσία)
+	-	IgG*	+	-	+ (^^ αύξηση)	Χρόνια ηπατίτιδα Β με ενεργό ιικό πολλαπλασιασμό (φάση ανοχής)
+	-	IgG**	-	+	- ή ήπια αύξηση	Χρόνια ηπατίτιδα Β με χαμηλό ιικό πολλαπλασιασμό (φάση καθάρσης ή ορομετατροπής)
+	-	IgG*	-	+	-	Χρόνια ηπατίτιδα Β χωρίς ιικό πολλαπλασιασμό (φάση ενσωμάτωσης)
+	-	IgG**	-	+	+ (κυμαινόμενη ιαιμία)	Χρόνια ηπατίτιδα Β στη φάση επαναδραστηριοποίησης του ιού (λοίμωξη από το μεταλλαγμένο στέλεχος της Μεσογείου)***
-	- ή +	- ή IgG	- ή +	- ή +	+ (με PCR)	Λανθάνουσα ηπατίτιδα Β
+	+	IgG	+ ή -****	- ή +****	^^^ ή πολύ χαμηλή ιαιμία****	Χρόνια ηπατίτιδα Β με ετεροτυπικά αντί-HBs (10-30% των περιπτώσεων χρόνιας ηπατίτιδας)
-	+	-	-	-	-	Επιτυχής εμβολιασμός (ανοσία)
-	-	IgG	-	-	-	Ψευδώς θετικό εύρημα. Σπάνια λοίμωξη στο παρελθόν ή χρόνια ηπατίτιδα με χαμηλή ιαιμία

*Μπορεί να ανιχνεύονται και χαμηλοί τίτλοι IgM αντί-HBc, **Μπορεί να ανιχνεύονται και πολύ υψηλοί τίτλοι IgM αντί-HBc, ***Μεταλλαγή στην προπυρηνική περιοχή του HBV, ****Ανάλογα με τη φάση της χρόνιας ηπατίτιδας Β

είναι γρήγορες, φθινές, ειδικές και με σημαντικού βαθμού επαναληψιμότητα. Εμφανίζεται στον ορό 1 ως 10 εβδομάδες μετά την έκθεση στον HBV και περίπου 2-6 εβδομάδες πριν την εμφάνιση των συμπτωμάτων ή την αύξηση των αμινοτρανσφερασών. Γενικά ανιχνεύεται για διάστημα 1-6 μηνών από την προσβολή, γι' αυτό και η παραμονή του πέραν του εξαμήνου σηματοδοτεί τη χρόνια λοίμωξη. Ο τίτλος του HBsAg προοδευτικά υποχωρεί καθώς η οξεία λοίμωξη οδεύει προς ίαση, ενώ παραμένει υψηλός σε εκείνους που θα μεταπέσουν σε χρόνια ηπατίτιδα (προγνωστικός δείκτης μετάπτωσης σε χρονιότητα).^{120,141,191} Το HBsAg ανιχνεύεται επίσης στον ηπατικό ιστό με μεθόδους ανοσοϋπεροξειδάσης ή ανοσοφθορισμού, που είναι λιγότερο ευαίσθητες σε σχέση με την ανίχνευσή του στον ορό.

Σχήμα 6. Οι ορολογικοί δείκτες στην οξεία ηπατίτιδα Β.



Όμως, η απουσία του HBsAg δεν αποκλείει την οξεία ηπατίτιδα Β. Το ανωτέρω μπορεί να οφείλεται στα παρακάτω:¹²⁰

- ο έλεγχος να έγινε πριν από τη θετικοποίηση του HBsAg (περίοδος παραθύρου του επιφανειακού αντιγόνου ή surface antigen window)
- το HBsAg να κρύβεται σε ανοσοσυμπλέγματα (π.χ. σε περιπτώσεις ιδιοπαθούς μικτής κρυοσφαιριναιμίας)
- το αρνητικό αποτέλεσμα να οφείλεται σε πειραματικό ή μεθοδολογικό λάθος (π.χ. χαμηλή ευαισθησία της χρησιμοποιούμενης μεθόδου, αν και οι περισσότεροι ασθενείς παρουσιάζουν υψηλό τίτλο)
- το HBsAg να εκφράζεται, αλλά να μην εκκρίνεται ή να μην εκφράζεται καθόλου λόγω μεταλλαγών στην περιοχή του φακέλου του ιικού γονιδιώματος
- να έχει γίνει ανοσολογική κάθαρση από τον ιό πριν από τον πρώτο ορολογικό έλεγχο
- να πρόκειται για κεραυνοβόλο ηπατίτιδα B (15-20% των περιπτώσεων κεραυνοβόλου ηπατίτιδας B έχουν αρνητικό HBsAg)

Στις περιπτώσεις αυτές, εκτός ίσως της πρώτης, ο μόνος ορολογικός δείκτης οξείας λοίμωξης από τον HBV είναι οι υψηλοί τίτλοι του IgM αντί-HBc.¹²⁰ Οι επιφανειακές πρωτεΐνες προ-s1 και προ-s2 έχουν ανιχνευθεί σε ασθενείς με HBV. Σχετίζονται με HBV DNA θετικότητα και την αντιγραφή του ιού. Κατά την ανάρρωση από την οξεία ηπατίτιδα B εμφανίζονται νωρίς πριν από τα αντί-HBs.^{192,193}

β) Τα αντί-HBs: Εμφανίζονται κατά την αποδρομή της οξείας ηπατίτιδας B από μερικές μέρες ως τρεις μήνες μετά την εξαφάνιση του HBsAg. Τα αντί-HBs είναι τα μόνα προστατευτικά αντισώματα (εμφανίζονται και μετά από επιτυχή εμβολιασμό) σηματοδοτούν δε την ίαση της

λοίμωξης και ανιχνεύονται μαζί με τα IgG ή ολικά αντί-HBc. Η παρουσία του αντί-HBs χωρίς άλλο ορολογικό δείκτη σημαίνει ψευδώς θετικό αποτέλεσμα, προηγούμενο εμβολιασμό ή πολύ χαμηλούς τίτλους (μη ανιχνεύσιμους) IgG αντί-HBc.¹⁹¹ Σε ποσοστό 10-30% των ασθενών με χρόνια ηπατίτιδα Β υπάρχει ταυτόχρονη παρουσία HBsAg και αντί-HBs. Τα αντισώματα αυτά είναι ετεροτυπικά, δηλαδή δρουν έναντι διαφορετικών υποτύπων του HBV.^{10,120,191}

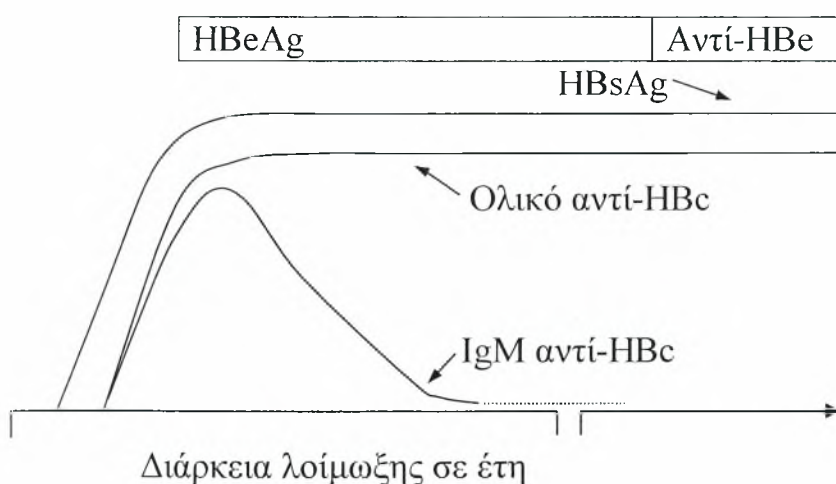
γ) HBeAg: Ανιχνεύεται με ανοσοενζυμικές και ραδιοανοσομετρικές μεθόδους νωρίς στη διάρκεια της οξείας ηπατίτιδας Β αλλά και στη χρόνια λοίμωξη. Στην οξεία λοίμωξη εμφανίζεται σχεδόν ταυτόχρονα με το HBsAg, ενώ εξαφανίζεται κατά το χρόνο που το HBsAg φτάνει τις μέγιστες συγκεντρώσεις του.^{120,191} Σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα Β, το HBeAg μπορεί να ανιχνεύεται για διάστημα πολλών ετών. Κατά τη διάρκεια της HBeAg θετικότητας, οι περισσότεροι ασθενείς έχουν HBV DNA (+) στον ορό και ενεργό ηπατική νόσο.^{194,195} Και αυτό, γιατί το HBeAg σχετίζεται με τον ενεργό πολλαπλασιασμό του ιού και αυξημένη μολυσματικότητα. Μητέρες με θετικό το HBeAg έχουν περισσότερες πιθανότητες να μεταδώσουν τη λοίμωξη στα νεογνά κατά την περιγεννητική περίοδο, από ότι οι μητέρες με αντί-HBe.¹⁴¹

δ) Τα αντί-HBe: Είναι IgG αντισώματα που στη χρόνια ηπατίτιδα Β υποδηλώνουν συνήθως μειωμένη μολυσματικότητα και καλή έκβαση. Εντούτοις, οι μακροχρόνιες επιπλοκές και ιδιαίτερα σε παρουσία του προπυρηνικά μεταλλαγμένου στελέχους, οι συνεχιζόμενες βλάβες του ηπατικού παρεγχύματος δεν είναι σπάνιες. Τα αντί-HBe μπορεί να ανιχνεύονται για χρόνια μετά από ίαση από οξεία ηπατίτιδα Β.^{120,191}

ε) Τα IgM αντί-HBc: Ανιχνεύονται σε πολύ υψηλούς τίτλους με ανοσοενζυμικές ή ραδιοανοσομετρικές μεθόδους στην οξεία ηπατίτιδα Β λίγο

μετά την εμφάνιση των HBsAg και HBeAg και περίπου 1-2 εβδομάδες πριν την άνοδο των αμινοτρανφερασών.¹⁹¹ Συνήθως ανιχνεύονται για διάστημα 3-12 μηνών από την προσβολή και αποτελούν τα πρώτα από τα αντισώματα που ανιχνεύονται σε μια λοίμωξη από τον HBV. Σε περίπτωση ταχείας κάθαρσης του HBsAg, το IgM αντί-HBc αποτελεί το μοναδικό ορολογικό δείκτη οξείας ηπατίτιδας (περίοδος παραθύρου του πυρήνα ή core window period).¹²⁰ Στο φαινόμενο αυτό οφείλονται σήμερα οι περισσότερες οξείες μετα-μετάγγιση ηπατίτιδες B, αφού αντίθετα με τις Η.Π.Α. στα τμήματα αιμοδοσίας της Ευρώπης δε γίνεται έλεγχος των αιμοδοτών για το αντί-HBc. Εκτός από την οξεία λοίμωξη, το IgM αντί-HBc μπορεί να συνυπάρχει επί σειρά ετών με το HBsAg και στη χρόνια μορφή της νόσου σε κυμαινόμενους μάλιστα τίτλους (υψηλότερους σε εξάρσεις της νόσου). Δεν παρέχει ανοσία, δεν παράγεται με τον εμβολιασμό και αποτελεί ίσως τον κυριότερο ορολογικό δείκτη επαφής με τον ιό.^{120,191}

Σχήμα 7. Τυπικό ορολογικό προφίλ στη χρόνια ηπατίτιδα B.



στ) Τα IgG αντί-HBc: Δεν είναι προστατευτικά αντισώματα, εμφανίζονται σχετικά νωρίς στην οξεία λοίμωξη μετά την ανίχνευση των HBsAg και HBeAg και βαίνουν αυξανόμενα, ενώ τα IgM αντί-HBc μειώνονται. Τα

IgG αντί-HBc ανιχνεύονται μαζί με τα αντί-HBs, εάν ο ασθενής αναρρώσει μετά την οξεία μορφή, και μαζί με το HBsAg στη χρόνια λοίμωξη.^{120,191} Η ανίχνευση των IgG αντί-HBc φτάνει στο 1,7% των αιμοδοτών στις χώρες με χαμηλό επιπολασμό και το 22% στις ενδημικές χώρες.^{133,196,197} Αυτό μπορεί να οφείλεται σε ψευδώς θετικό αποτέλεσμα, σε οξεία λοίμωξη στην περίοδο του παραθύρου (διευκρινίζεται εύκολα με την ανίχνευση ή όχι του IgM αντί-HBc), σε αποδραμούσα λοίμωξη με χαμηλούς τίτλους αντί-HBs και τέλος, σε χρόνια ηπατίτιδα Β όπου το HBsAg είναι μη ανιχνεύσιμο λόγω χαμηλών συγκεντρώσεων. Ο έλεγχος για την παρουσία των IgM αντί-HBc, η χορήγηση μίας δόσης εμβολίου και η αναζήτηση του HBV DNA με μέθοδο PCR αποτελούν χρήσιμα όπλα για την διαφορική διάγνωση των παραπάνω περιπτώσεων. Γενικά, κατά την κλασσική διαδρομή της οξείας ηπατίτιδας Β, τα IgG αντισώματα κατά των πρωτεϊνών του ιού ανιχνεύονται με την ακόλουθη σειρά: πρώτα τα αντί-HBc, στη συνέχεια τα αντί-HBe και τελευταία τα αντί-HBs.¹²⁰

ζ) Το HBcAg: Δεν ανιχνεύεται στον ορό. Η ανεύρεσή του στον ηπατικό ιστό (επιφάνεια, πρωτόπλασμα ή πυρήνα των ηπατοκυττάρων), με τη βοήθεια της ανοσοϊστοχημείας ή του ανοσοφθορισμού, αποτελεί δείκτη ιικού πολλαπλασιασμού.¹⁹¹

η) HBV DNA: Στην καθημερινή πρακτική τρεις είναι οι συνήθεις μέθοδοι που μπορεί να προσδιορισθεί:^{198,199} α) με υβριδισμό υγρής φάσης (π.χ. Genostics, Abbott Laboratories, Abbott Park, Chicago, IL και Digene Hybrid-Capture, Digene Diagnostics, Beltsville, MD), β) με τη μέθοδο του διακλαδιζόμενου DNA (bDNA) (π.χ. Versant™ HBV DNA, HBV Quantiplex™, Chiron Diagnostics, Emeryville, CA) και γ) με αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR) (π.χ. HBV Monitor™, Roche Molecular Diagnostics, Branchburg, NJ και πρωτόκολλα in-House PCR).^{198,199}

Το HBV DNA ανιχνεύεται στην αρχική φάση της οξείας λοίμωξης, περίπου 1 εβδομάδα μετά το HBsAg με υβριδισμό, και 2-3 εβδομάδες πριν την εμφάνιση του HBsAg με PCR. Εξαφανίζεται πριν την οροαναστροφή του HBeAg σε αντί-HBe και σχετίζεται με ενεργό πολλαπλασιασμό του ιού και αυξημένη μολυσματικότητα, ενώ η πτώση του τίτλου του αποτελεί το πρώτο σημείο ένδειξης απερχόμενης ανάρρωσης από οξεία λοίμωξη.^{120,200,201}

Η ευαισθησία των μεθόδων ποσοτικής μέτρησης του HBV DNA ποικίλλει ανάλογα με την ανίχνευση ή μη του HBeAg στον ασθενή και με το αν ο ασθενής είναι υπό θεραπευτική αγωγή (Πίνακας 8). Στους HBsAg θετικούς ασθενείς, η μέθοδος b DNA ανιχνεύει το HBV DNA στο 73-100% των HBeAg θετικών δειγμάτων και στο 25-31% των HBeAg αρνητικών δειγμάτων.²⁰² Η μέθοδος υβριδισμού Genostics παρουσιάζει ελαφρώς μειωμένη ευαισθησία και ανιχνεύει HBV DNA στο 67% των HBeAg θετικών και στο 13% των HBeAg αρνητικών ασθενών. Τα όρια ευαισθησίας των ανωτέρω δοκιμασιών είναι μειωμένα κατά 100.000 και 10.000 φορές αντίστοιχα, σε σχέση με την PCR.²⁰² Η μέθοδος bDNA φαίνεται να παρουσιάζει μεγαλύτερη ευαισθησία σε σχέση με τις μεθόδους υβριδισμού.^{198,203-205} Λιγότερα συγκριτικά δεδομένα είναι διαθέσιμα για την τυποποιημένη δοκιμασία HBV DNA με PCR. Σε μια μελέτη στην οποία χρησιμοποιήθηκαν διαδοχικές αραιώσεις HBV δειγμάτων αναφοράς από παιδιά με χρόνια ηπατίτιδα Β, τα οποία υποβάλλονταν σε θεραπεία με α-ιντερφερόνη, το όριο ανίχνευσης της PCR δοκιμασίας ήταν 10^3 αντίγραφα/ml, ενώ της μεθόδου υβριδισμού 10^6 - 10^7 αντίγραφα/ml.²⁰⁶

Πρόσφατα, αναπτύχθηκε τροποποίηση του πρωτοκόλλου για τον ποσοτικό προσδιορισμό του HBV DNA με τη μέθοδο PCR. Αναλυτικότερα,

Πίνακας 8. Χαρακτηριστικά ποσοτικών μεθόδων προσδιορισμού του HBV DNA.^{198,199}

Εμπορικά διαθέσιμοι μέθοδοι και μονάδες προσδιορισμού του HBV DNA	Κατώτερο όριο ευαισθησίας	Εύρος	Ειδικότητα	Ευαισθησία	Επαναληψιμότητα
Versant™ HBV DNA 1.0 Assay, eq/ml	7 x 10 ⁵	4 logs	+++	++	+++
Versant™ HBV DNA 3.0 Assay, copies/ml	2 x 10 ³	5 logs	+++	++	+++
Digene pg/ml	7 x 10 ⁵	2 logs	+++	+	+++
Amplicor HBV Monitor copies/ml	2 x 10 ²	4-5 logs	++	+++	++
In-House PCR	10-10 ²	3-10 logs	++	+++	++

μετά την τροποποίηση αυτή όλες οι φάσεις της PCR (extraction, amplification, colorimetric detection, quantitative determination) γίνονται αυτόματα σε αναλυτή με αποτέλεσμα απλοποίηση της τεχνικής και μεγαλύτερη ευαισθησία με πολύ χαμηλό όριο ανίχνευσης της τάξης των 200 αντιγράφων/ml.²⁰⁷ Τέλος, πολύ πρόσφατα αναπτύχθηκε δοκιμασία που ονομάζεται PCR «πραγματικού χρόνου» (real-time PCR, RLT-PCR). Στη μέθοδο αυτή οι εκκινητές και οι φθορίζοντες ανιχνευτές (probes) που χρησιμοποιούνται, εντοπίζονται στην επικαλυπτόμενη περιοχή των γονιδίων της ανάστροφης μεταγραφάσης (RT) και του HBsAg. Με RLT-PCR είναι δυνατό να γίνουν ποσοτικές μετρήσεις HBV DNA σε κλίμακα 10-log_{10} με ευαισθησία 1 αντίγραφο/αντίδραση. Η RLT-PCR για τον προσδιορισμό του HBV DNA είναι εξαιρετικά ταχεία και παρουσιάζει σημαντικά πλεονεκτήματα, όπως μεγάλη ευαισθησία, επαναληψιμότητα και μεγάλο εύρος ποσοτικοποίησης σε σχέση με τις άλλες μεθόδους.²⁰⁸

Η ποσοτικοποίηση του HBV DNA είναι καλύτερος δείκτης του ενεργού ιικού πολλαπλασιασμού σε σχέση με τους ορολογικούς δείκτες. Εντούτοις, στην οξεία λοίμωξη οι ορολογικοί δείκτες αποτελούν τη βάση τόσο στον τομέα της διάγνωσης όσο και στον καθορισμό της πρόγνωσης, με αποτέλεσμα η μέτρηση του HBV DNA να έχει περιορισμένη θέση. Αντίθετα στη χρόνια λοίμωξη τα επίπεδα του HBV DNA αποτελούν σημαντικότερο δείκτη για την ενδεχόμενη απόφαση έναρξης της θεραπείας (σε συνδυασμό με άλλους κλινικοεργαστηριακούς δείκτες), στην παρακολούθηση των ασθενών που υποβάλλονται σε αντι-ϊκή αγωγή και των ασθενών που έχουν μεταμοσχευθεί ή είναι ανοσοκατασταλμένοι και αδυνατούν να παράγουν αντισώματα.

Αξίζει να σημειωθεί επίσης ότι με τις τελευταίες γενιές PCR είναι δυνατόν να διαγνωσθούν περιπτώσεις λανθάνουσας (occult) ηπατίτιδας Β.^{209,210} Πρόκειται για χρόνια ηπατίτιδα Β με χαμηλά επίπεδα HBV DNA στον ορό και/ή το ήπαρ και HBsAg αρνητικό στον ορό.²⁰⁹⁻²¹¹ Από τις μέχρι τώρα μελέτες το 35% αυτών των ασθενών είναι θετικοί για το αντί-HBs, το 42% είναι θετικοί για το αντί-HBc και το 22% είναι αρνητικοί και για τα δύο αυτά αντισώματα²¹¹ (Πίνακας 7). Η λανθάνουσα ηπατίτιδα Β έχει ανευρεθεί σε διάφορες ομάδες ασθενών (π.χ. νοσούντες με HCV, HIV, ΗΚΚ και κρυψιγενή κίρρωση).^{209,211-215}

Πρέπει να τονιστεί επίσης η μεγάλη χρησιμότητα των μεθόδων προσδιορισμού του HBV DNA, και ειδικά των PCR μεθόδων, στον τομέα της έρευνας και της αποτελεσματικότητας των νέων φαρμάκων.²¹⁶ Για παράδειγμα χαμηλοί τίτλοι ιαμίας αποτελούν καλό προγνωστικό δείκτη ανταπόκρισης στη θεραπεία σε ασθενείς με HBV λοίμωξη,²¹⁷ ενώ αντίθετα υψηλοί τίτλοι HBV DNA προ θεραπείας έχουν συσχετιστεί με αποτυχία στη χορήγηση λαμβουδίνης.^{218,219} Επιπλέον, αύξηση του τίτλου του HBV DNA κατά τη διάρκεια της θεραπείας, μετά από μια αρχική μείωση του τίτλου, είναι ενδεικτική της αποτυχίας της θεραπευτικής αγωγής λόγω ανάπτυξης ανθεκτικών στελεχών.²¹⁹

Σε αντίθεση με τα παραπάνω, οι νέες μέθοδοι ανίχνευσης του HBV DNA δημιούργησαν νέα ερωτήματα και έθεσαν και νέα διλήμματα. Για παράδειγμα, με τις μεθόδους υβριδισμού που χρησιμοποιούνταν παλαιότερα, ασθενείς με μη ανιχνεύσιμο HBV DNA και χρόνια λοίμωξη από τον HBV εθεωρείτο ότι δεν χρειαζόταν θεραπεία ή ότι είχαν ανταποκριθεί μετά από θεραπευτικά σχήματα. Με τις PCR μεθόδους όμως, στους περισσότερους ανιχνεύεται το HBV DNA. Γεννιέται λοιπόν το ερώτημα για το ποια θα πρέπει να είναι τα επίπεδα HBV DNA που θα σηματοδοτούν την έναρξη

ή τη λήξη της θεραπείας καθώς επίσης και της εκτίμησης του θεραπευτικού αποτελέσματος.^{210,220,221} Το ερώτημα αυτό αναμένεται να απαντηθεί τα επόμενα χρόνια μετά από την ανάλυση πολυκεντρικών μελετών.

3.1.3. ΒΙΟΨΙΑ ΗΠΑΤΟΣ

Η βιοψία ήπατος δεν απαιτείται για τη διάγνωση της οξείας ηπατίτιδας Β, αντίθετα στη χρόνια ηπατίτιδα Β φαίνεται να είναι χρήσιμη καθώς συμβάλλει στην εκτίμηση της δραστηριότητας (grading) και της ίνωσης (staging) της νόσου. Η ανοσοϊστοχημική ανίχνευση των πρωτεϊνών του ιού στο ηπατικό παρέγχυμα έχει υψηλή ειδικότητα και ευαισθησία. Σε ορισμένες περιπτώσεις η χρόνια ηπατίτιδα Β μπορεί να εκδηλωθεί με οξέα συμπτώματα (παρόξυνση) και να θεωρηθεί εσφαλμένα ως οξεία μορφή της νόσου. Η βιοψία ήπατος μαζί με το ιστορικό, τον ειδικό ορολογικό και ιολογικό έλεγχο θα οδηγήσουν με ασφάλεια στην τελική διάγνωση.^{141,210,222}

Παραδοσιακά, η χρόνια ηπατίτιδα Β διακρινόταν ιστολογικά σε τρεις κατηγορίες: α) τη χρόνια επιμένουσα, β) τη χρόνια λοβιδιακή και γ) τη χρόνια ενεργό με ή χωρίς συνοδό κίρρωση. Στην πρώτη κατηγορία, χαρακτηριστική είναι η διεύρυνση των πυλαίων διαστημάτων λόγω διήθησης από μονοκύτταρα και η ανάπτυξη ήπιας ίνωσης. Στη χρόνια λοβιδιακή, χαρακτηριστική είναι η ενδολοβιακή φλεγμονή και νέκρωση. Τέλος, η χρόνια ενεργός ηπατίτιδα χαρακτηρίζεται από φλεγμονώδη διήθηση (κυρίως από λεμφοκύτταρα) που προκαλεί σημαντική διεύρυνση των πυλαίων διαστημάτων. Η φλεγμονώδης διήθηση επεκτείνεται μέσα στα ηπατικά λοβία, προκαλώντας διάσπαση της αφοριστικής πλάκας και διαβρωτική νέκρωση. Σε σοβαρής μορφής χρόνια ενεργό ηπατίτιδα, παρατηρείται ανάπτυξη διαφραγμάτων από ινώδη ιστό, που επεκτείνονται στις δοκίδες

των ηπατικών κυττάρων. Μεμονωμένες ομάδες ηπατοκυττάρων εμφανίζονται να σχηματίζουν «ροζέτες» και παρατηρείται ενδοηπατική γεφυροποιός νέκρωση και ίνωση.^{120,222}

Στην πραγματικότητα, έχει διαπιστωθεί ότι οι παραπάνω ιστολογικές κατηγορίες δεν αντιπροσωπεύουν ξεχωριστές νοσολογικές οντότητες αλλά μάλλον φωτογραφικά στιγμιότυπα του ιστολογικού φάσματος της νόσου σε συγκεκριμένα χρονικά σημεία. Έχει γίνει σαφές ότι οι ασθενείς είναι δυνατό να μεταπέσουν από τη μία ιστολογική κατηγορία στην άλλη είτε από τις κατηγορίες αυτές να οδηγηθούν σε κίρρωση και/ή ΗΚΚ (χωρίς ορισμένες φορές να προηγείται απαραίτητα το στάδιο της κίρρωσης).^{120,223,224}

Πίνακας 9. Βαθμοποίηση (grading) και σταδιοποίηση (staging) χρόνιας ηπατίτιδας Β.

Βαθμός δραστηριότητας	Περιγραφή	Βαθμός ίνωσης	Περιγραφή
0-3	Χρόνια ηπατίτιδα με ελάχιστες αλλοιώσεις	0	Χωρίς ίνωση
4-8	Χρόνια ηπατίτιδα ήπιας δραστηριότητας	1	Ήπια ίνωση
9-12	Χρόνια ηπατίτιδα μέτριας δραστηριότητας	2	Μέτρια ίνωση
13-18	Χρόνια ηπατίτιδα έντονης δραστηριότητας	3	Έντονη ίνωση
		4	Κίρρωση

Στις μέρες μας, η χρόνια ηπατίτιδα Β, όπως άλλωστε όλες οι χρόνιες ηπατίτιδες, βαθμοποιείται και σταδιοποιείται σύμφωνα με ένα σύστημα που έχει γίνει διεθνώς αποδεκτό από το 1981²²³ και τροποποιήθηκε το 1995²²⁴ (Πίνακας 9). Σύμφωνα με αυτό εκτιμάται ο βαθμός δραστηριότητας

(grading) και το στάδιο (staging) της νόσου. Ο πρώτος όρος αφορά στην ιστολογική εκτίμηση της βαρύτητας της ηπατοκυτταρικής νέκρωσης και της φλεγμονής (κλίμακα βαθμών: 0-18). Ο όρος «στάδιο» αφορά στην έκταση της ίνωσης, τη διαταραχή της αρχιτεκτονικής και την πιθανή ανάπτυξη κίρρωσης. (κλίμακα βαθμών: 0-4).^{120,223,224}

3.1.4. ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΟΣ ΑΛΓΟΡΙΘΜΟΣ ΓΙΑ ΤΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΤΗΣ ΛΟΙΜΩΞΗΣ ΑΠΟ ΤΟΝ HBV

Η ορολογική διάγνωση της οξείας ηπατίτιδας Β βασίζεται στην ανίχνευση του HBsAg και του IgM αντί-HBc.²¹⁰ Κατά τη διάρκεια της αρχικής φάσης της λοίμωξης ανιχνεύονται και δείκτες ιικού πολλαπλασιασμού, δηλαδή το HBV DNA και το HBeAg. Η ίαση σηματοδοτείται από την εμφάνιση των αντί-HBs και συνοδεύεται από την εξαφάνιση του HBV DNA και την ορομετατροπή του HBeAg σε αντί-HBe. Προηγούμενη λοίμωξη από τον HBV διαγιγνώσκεται με την ανίχνευση του αντί-HBs και του IgG ή ολικού αντί-HBc.²¹⁰ Η παρουσία μόνο των αντί-HBs είναι ενδεικτική της επίτευξης ανοσίας μετά από επιτυχή εμβολιασμό.

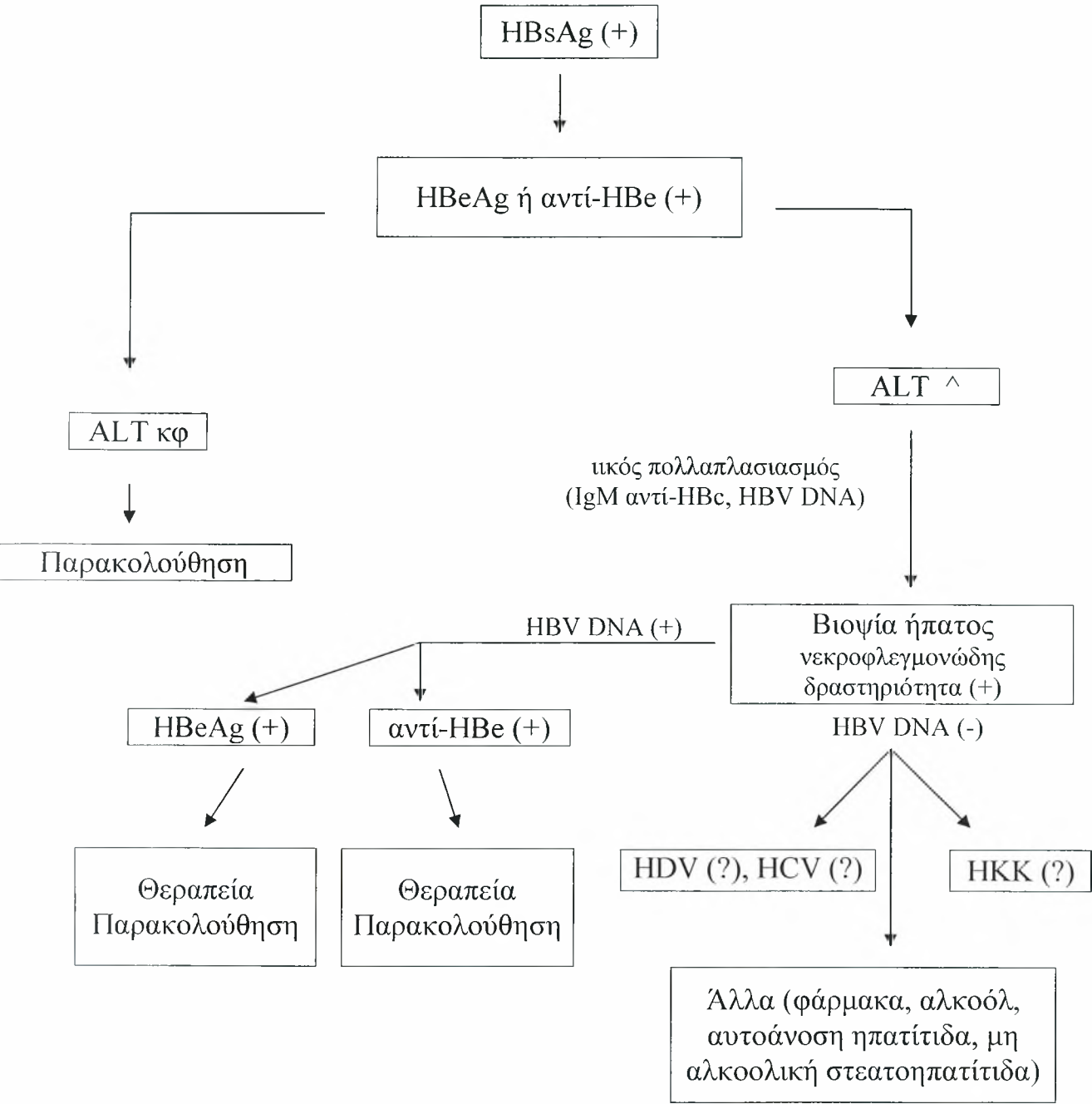
Η χρόνια λοίμωξη από τον HBV ορίζεται από την παραμονή του HBsAg πέραν του εξαμήνου.²¹⁰ Στην περίπτωση που υπάρχει διαθέσιμη βιοψία ήπατος με ευρήματα συμβατά με χρόνια λοίμωξη, είναι δυνατό να τεκμηριωθεί νωρίτερα η χρονιότητα. Η λήψη του ιστορικού και η κλινική εκτίμηση θεωρείται απαραίτητη και θα βοηθήσει ενδεχομένως στην ανεύρεση της πηγής της λοίμωξης, της διάρκειάς της και των εκδηλώσεων χρόνιας προχωρημένης ή ενεργού ηπατικής νόσου. Ακολουθώντας συνιστάται βιοχημικός και λειτουργικός έλεγχος του ήπατος, έλεγχος των ορολογικών δεικτών της λοίμωξης από τον HBV και απεικονιστικός έλεγχος ήπατος και

σπληνός καθώς και εκτίμηση του σπληνοπυλαίου άξονα αρχικά με υπερηχοτομογράφημα. Σε περίπτωση ενδείξεων κίρρωσης και πυλαίας υπέρτασης απαιτείται ενδοσκόπηση του ανώτερου πεπτικού για έλεγχο ύπαρξης γαστροοισοφαγικών κισμών και πυλαίας γαστροπάθειας.^{120,141}

Οι περαιτέρω διαγνωστικές προσεγγίσεις (Σχήμα 8) εξαρτώνται από το αν οι τιμές των αμινοτρανσφερασών κυμαίνονται εντός φυσιολογικών ορίων (σε περισσότερες των δύο εξετάσεων). Οι ασθενείς με φυσιολογικές αμινοτρανσφεράσες είναι συνήθως αντί-HBe θετικοί, δεν παρουσιάζουν ανιχνεύσιμο HBV DNA στον ορό με τη μέθοδο του υβριδισμού και/ή PCR και δεν εμφανίζουν συμπτώματα και σημεία δραστήριας ηπατικής νόσου. Τα άτομα αυτά χρήζουν μόνο παρακολούθησης ανά 6-8 μήνες (βλέπε κεφ 6). Αντίθετα, οι ασθενείς με χρόνια λοίμωξη και παθολογικές αμινοτρανσφεράσες πρέπει να υποβληθούν σε περαιτέρω έλεγχο (Σχήμα 8).^{141,225}

Τέλος, έλεγχος για την διάγνωση της λανθάνουσας ηπατίτιδας B (προσδιορισμός του HBV DNA με PCR σε HBsAg αρνητικούς ασθενείς) θα μπορούσε να γίνει σε ασθενείς με λοίμωξη από τον HCV και μη ανιχνεύσιμο HCV RNA μετά από θεραπεία, στους οποίους όμως τα επίπεδα της ALT παραμένουν ανεξήγητα υψηλά. Επίσης, σε όσους έχουν παράγοντες κινδύνου λοίμωξης από τον HBV (π.χ. λοίμωξη στο οικογενειακό περιβάλλον) και στους οποίους αναμένεται ανοσοκαταστολή (π.χ. χημειοθεραπεία), σε ασθενείς με ανεξήγητη ηπατική νόσο καθώς και σε αυτούς που ανιχνεύεται θετικό μόνο το αντί-HBe και η ενδεχόμενη διάγνωση της λανθάνουσας ηπατίτιδας B θα επηρεάσει κλινικές αποφάσεις (π.χ. δωρεά οργάνων, εμβολιασμός).²¹¹ Εντούτοις, η κλινική σημασία της παρουσίας λανθάνουσας ιαιμίας από τον HBV-ιδιαίτερα σε ασθενείς με λοίμωξης από τον HCV-δεν έχει μέχρι στιγμής αποσαφηνιστεί.²⁰⁹

Σχήμα 8. Αλγόριθμος διαγνωστικής προσέγγισης χρόνιας λοίμωξης από τον HBV.



ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

4.1. ΦΥΣΙΚΗ ΙΣΤΟΡΙΑ ΤΗΣ ΛΟΙΜΩΞΗΣ ΑΠΟ ΤΟΝ HBV

Η φυσική ιστορία της ηπατίτιδας Β καθορίζεται από την ισορροπία μεταξύ του ιικού πολλαπλασιασμού και της ανοσολογικής ανταπόκρισης του ξενιστή. Άλλοι παράγοντες που ενέχονται στην εξέλιξη της λοίμωξης είναι το φύλο, η κατανάλωση αλκοόλ και η επιλοίμωξη με άλλους ιούς. Σήμερα υπάρχουν αποτελεσματικές θεραπείες που ενδεχομένως να τροποποιούν τη φυσική πορεία της νόσου. Πριν γίνει αναφορά στη φυσική ιστορία και έκβαση της λοίμωξης δίνονται εν συντομία ανοσοπαθογενετικοί μηχανισμοί που πιστεύεται ότι καθορίζουν σημαντικά την πορεία της.

4.2. ΑΝΟΣΟΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ ΤΗΣ ΛΟΙΜΩΞΗΣ

Η ανοσολογική απάντηση έναντι των ιών διακρίνεται σε δύο φάσεις, τη μη ειδική και την ειδική. Στους μη ειδικούς μηχανισμούς συγκαταλέγεται η δράση των ιντερφερονών α (IFN- α) και β , του TNF, των NK κυττάρων και των μακροφάγων, ενώ οι ειδικοί μηχανισμοί περιλαμβάνουν τη δράση των T και B λεμφοκυττάρων. Η ανοσολογική αυτή απάντηση, που αρχικά προκαλείται για την εξουδετέρωση του ιού, είναι τελικά υπεύθυνη για τη φλεγμονώδη αντίδραση και την πρόκληση της ιστικής βλάβης.

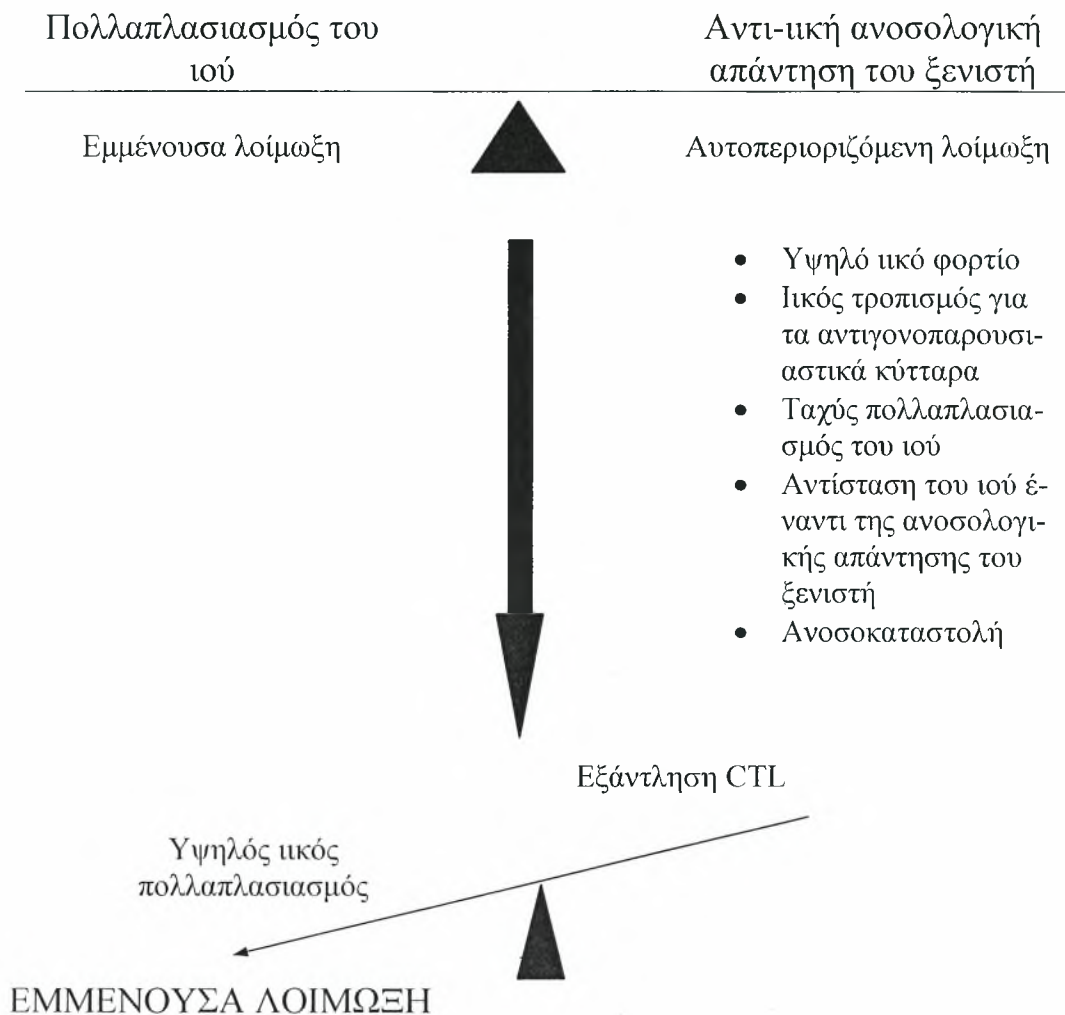
Κατά την έναρξη της λοίμωξης, σημαντικότερο ρόλο προς την εξέλιξη της (ίαση ή χρονιότητα) πιστεύεται ότι έχει η αρχική διαφοροποίηση/ απάντηση των ειδικών T κυττάρων προς TH1 ή TH2 κύτταρα,²²⁶⁻²²⁸ καθώς η T κυτταρική απάντηση αποτελεί την κατεξοχήν απάντηση έναντι των ιών.

Τα κυτταροτοξικά CD8⁺ T-λεμφοκύτταρα είναι τα βασικά κύτταρα της ανοσοεπιτήρησης των ιών. Αυτά, αφού αναγνωρίσουν τα ιικά πεπτίδια μαζί με μόρια της τάξης I του μείζονος συστήματος ιστοσυμβατότητας (MHC), στη συνέχεια τα καταστρέφουν. Εντούτοις, είναι δυνατό να παρουσιαστεί μια ειδική για τον ιό διαταραχή της απάντησης των T-λεμφοκυττάρων στην περίπτωση που τα τελευταία εκτεθούν σε πολύ υψηλό ιικό φορτίο. Τότε, τα κυτταροτοξικά T-λεμφοκύτταρα (CTL) υπερδιεγείρονται, εξαντλούνται και οδηγούνται σε αποπτωτικό θάνατο (Σχήμα 9).²²⁹

Στην οξεία αυτοπεριοριζόμενη ηπατίτιδα Β τα CD4⁺ T-λεμφοκύτταρα παρουσιάζουν μία πολύ έντονη πολυκλωνική απάντηση έναντι ικών επιτόπων του νουκλεοκαψιδίου αλλά και του περιβλήματος και της DNA πολυμεράσης. Η απάντηση είναι ανεξάρτητη του γενετικού προφίλ των ασθενών (HLA) και προσδιορίζεται από την ικανότητα των περιφερικών λεμφοκυττάρων να πολλαπλασιάζονται *in vitro* παρουσία ανασυνδυασμένων πρωτεϊνών ή συνθετικών πεπτιδίων του HBV. Το αποτέλεσμα της ειδικής αυτής αντίδρασης είναι η εξάλειψη του HBV DNA και του HBsAg από τον ορό με την επίδραση των CD4⁺ T-λεμφοκυττάρων στα CTL, την παραγωγή κυτταροκινών και τη δράση στα Β λεμφοκύτταρα προς παραγωγή αντισωμάτων. Η T κυτταρική απάντηση έναντι του HBcAg διατηρείται επί δεκαετίες ακόμα και μετά την πλήρη ίαση, επειδή πιθανόν συντηρείται από ίχνη του HBV στο ήπαρ ή και το περιφερικό αίμα.^{230,234}

Στη χρόνια ηπατίτιδα Β διαπιστώνεται επίσης ειδική για τον HBV CD4⁺ απάντηση και απομονώνονται ειδικά για τον ιό CD4⁺ T-λεμφοκύτταρα τόσο στο περιφερικό αίμα όσο και στο ήπαρ. Όμως η απόκριση είναι ασθενής με αποτέλεσμα μειωμένη ή και απύσχα κυτταροτοξική απάντηση που οδηγεί στη χρονιότητα. Στις οξείες εξάρσεις της νόσου αυξάνεται η ένταση της κυτταρικής απόκρισης, αλλά δεν είναι ικανή να εξαλείψει τον ιό.

Σχήμα 9. Διάγραμμα της ισορροπίας μεταξύ του ιικού πολλαπλασιασμού και της ανοσολογικής απάντησης.



Αντίθετα, ευθύνεται περισσότερο για την επιβάρυνση της ιστολογικής βλάβης. Υπέρ του σημαντικού ρόλου των CTL στην παθογένεια της χρόνιας ηπατίτιδας Β αποτελεί το γεγονός ότι ασθενείς που απαντούν στη θεραπεία με IFN-α παρουσιάζουν μια κυτταροτοξική αντίδραση παρόμοιας έντασης με αυτή που παρατηρείται στην οξεία αυτοπεριοριζόμενη νόσο.^{232,233} Σήμερα είναι γνωστό ότι στην οξεία αυτοπεριοριζόμενη ηπατίτιδα

B έχει διαπιστωθεί η επικράτηση TH1 απόκρισης (IL-2, ινερφερόνη γ), ενώ στη χρόνια νόσο επικρατεί η TH2 απόκριση (IL-4, IL-5, IL-10).²³⁴

4.3. ΟΞΕΙΑ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ Β. ΕΞΕΛΙΞΗ ΣΕ ΧΡΟΝΙΟΤΗΤΑ.

Η οξεία λοίμωξη από τον HBV έχει ένα ευρύ φάσμα κλινικής έκφρασης που κυμαίνεται από την ασυμπτωματική μορφή, την τυπική για οξεία ιογενή ηπατίτιδα κλινική εικόνα μέχρι τη βαριά ικτερική ηπατίτιδα, και σε ελάχιστες περιπτώσεις (1/1000) την κεραυνοβόλο μορφή. Καθώς η οξεία ηπατίτιδα Β οδεύει προς ίαση, ο τίτλος του HBsAg προοδευτικά υποχωρεί, ενώ παραμένει υψηλός σε εκείνους που θα μεταπέσουν σε χρονιότητα. Η ανάρρωση από την οξεία λοίμωξη εξαρτάται από τη λειτουργική επάρκεια του ανοσολογικού συστήματος του ξενιστή. Η ισχυρότερη ανοσολογική απάντηση σχετίζεται με τη σοβαρότερη κλινική εικόνα, τη μεγαλύτερης έκτασης κυτταρόλυση των ηπατοκυττάρων και τελικά την κάθαρση του ιού. Γι' αυτό μετά από κεραυνοβόλο ηπατίτιδα Β, εφ' όσον ο ασθενής επιζήσει, δεν παρατηρείται μετάπτωση σε χρονιότητα. Η εξέλιξη σε χρονιότητα είναι έξι φορές συχνότερη στους άνδρες και εξαρτάται από την κλινική έκφραση της οξείας λοίμωξης, καθώς η οξεία ικτερική ηπατίτιδα Β σπάνια οδηγεί σε χρόνια νόσο. Κατά την κάθετη μετάδοση του HBV, η παρουσία του HBeAg στις μητέρες φορείς έχει σαν αποτέλεσμα τη μετάδοση της νόσου στο 70-90% των νεογνών, ενώ σε HBeAg (-)/αντί-HBeAg (+) μητέρες το αντίστοιχο ποσοστό είναι 5-10%. Η ηλικία νόσησης αποτελεί ίσως το σημαντικότερο παράγοντα κινδύνου μετάπτωσης σε χρονιότητα. Το 90-95% των νεογνών, το 30% των μεγαλύτερων παιδιών και μόλις το 3-5% των εφήβων και των ενηλίκων που μολύνονται, μεταπίπτουν σε χρονιότητα.

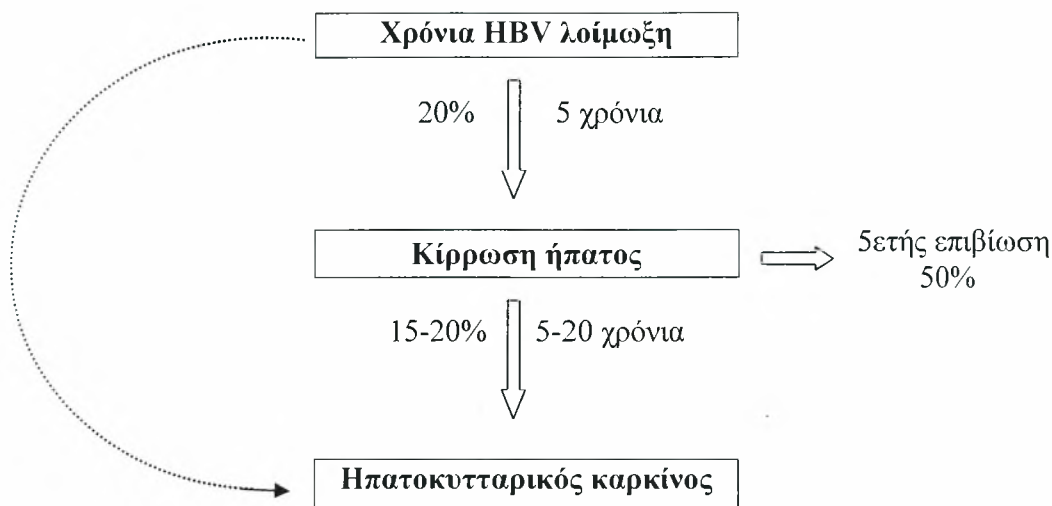
Τέλος, η εξέλιξη σε χρονιότητα είναι πολύ συχνή στους ανοσοκατασταλμένους.^{120,141}

Η ανάπτυξη χρόνιας ηπατίτιδας Β αποδίδεται τόσο σε ιολογικούς όσο και σε γενετικούς ή επίκτητους παράγοντες του ξενιστή που οδηγούν σε μειονεκτική ανοσολογική απάντηση. Ο ιός προσπαθεί να διαλάθει της προσοχής του ανοσολογικού συστήματος με την έκκριση του HBeAg, με την παραγωγή σε περίσσεια του HBsAg, με την ενσωμάτωσή του στο DNA των ηπατοκυττάρων και με την ανάπτυξη μεταλλαγών στο γονιδίωμα. Όσον αφορά στην ανοσολογική αντίδραση του ξενιστή, μειονεκτική απάντηση έχει παρατηρηθεί σε ασθενείς με μειωμένη παραγωγή IFN-α, αδυναμία ανταπόκρισης στην IFN-α, μη παραγωγή αντί-HBs, μειωμένη παραγωγή IL-1 και μειωμένη δραστηριότητα των Τ-λεμφοκυττάρων (βλέπε και ανοσοπαθολογία).^{120,141,235}

4.4. ΦΑΣΕΙΣ ΤΗΣ ΧΡΟΝΙΑΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ Β

Η φυσική ιστορία της χρόνιας ηπατίτιδας Β χωρίζεται σε τρεις κύριες φάσεις, ενώ στις Μεσογειακές χώρες (κυρίως Ιταλία, Ελλάδα) και τελευταία και την Άπω Ανατολή διακρίνεται μια τέταρτη φάση που οφείλεται στην επικράτηση μεταλλαγμένου στελέχους του HBV. Οι φάσεις αυτές διαρκούν από μερικούς μήνες έως δεκαετίες, αποτελούν στιγμιότυπα της νόσου και μεταπίπτουν η μία στην άλλη είτε αυτόματα είτε μετά από θεραπεία. Η έναρξη της νόσου δεν είναι συνήθως γνωστή, αφού τόσο η πρωτογενής λοίμωξη όσο και η μετέπειτα εξέλιξή της είναι συνήθως ασυμπτωματική και διαρκεί επί δεκαετίες. Εκτός από την ασυμπτωματική μορφή, η χρόνια ηπατίτιδα Β μπορεί να εκδηλωθεί με μη ειδικά γενικά συμπτώματα όπως κόπωση, αδυναμία, γενική κακουχία, αρθραλγίες και εμφάνιση εξανθημά-

Σχήμα 10. Κλινική εξέλιξη της χρόνιας ηπατίτιδας Β.



των (συνηθέστερα στις γυναίκες). Η ναυτία, η απώλεια βάρους και η ανορεξία παρουσιάζονται σε ασθενείς με σοβαρότερης μορφής ηπατική νόσο ή κατά τις παροξύνσεις της νόσου.

Στην πενταετία ένα σημαντικό ποσοστό θα αναπτύξει κίρρωση και τα επακόλουθα αυτής (πυλαία υπέρταση, ασκίτης, σπληνομεγαλία, κίρσοι οισοφάγου κλπ.), ενώ το 15-20% των κίρρωτικών θα αναπτύξουν ηπατοκυτταρικό καρκίνο (συνήθως σε 5-20 έτη από την ανάπτυξη κίρρωσεως, αν και η παρουσία της σήμερα δεν θεωρείται απαραίτητη) (Σχήμα 10, Πίνακας 10). Έτσι, αρκετοί ασθενείς με χρόνια λοίμωξη από τον HBV συχνά διαγιγνώσκονται κατά το στάδιο της κίρρωσης (σκουρόχρωμα ούρα, ίκτερος, σημαντική απώλεια βάρους/απίσχυση, και αραχνοειδείς τηλεαγγειεκτασίες) ή στο στάδιο των επακόλουθων της κίρρωσης (σημειολογία πυλαίας υπέρτασης, ηπατικής εγκεφαλοπάθειας ή ΗΚΚ). Η εξέλιξη σε κίρρωση είναι συχνότερη (40%) στις λοιμώξεις της νεογνικής, βρεφικής ή παιδικής ηλικίας σε σχέση με τους ενήλικες (20%).²³⁵

Πίνακας 10. Χαρακτηριστικά της φυσικής ιστορίας της χρόνιας HBeAg(-) και HBeAg (+) λοίμωξης από τον HBV με σημαντική ιαιμία και αυξημένες αμινοτρανσφεράσες.

	HBeAg (+)	HBeAg (-)
Κίρρωση/χρόνο	2,4-5,9%	10%
Ρήξη της αντιρρόπησης/χρόνο	5%	3,7-5%
5ετής επιβίωση	70-84%	97%
10ετής επιβίωση	68%	68%
ΗΚΚ/χρόνο	1-3%	1,5-3,5%

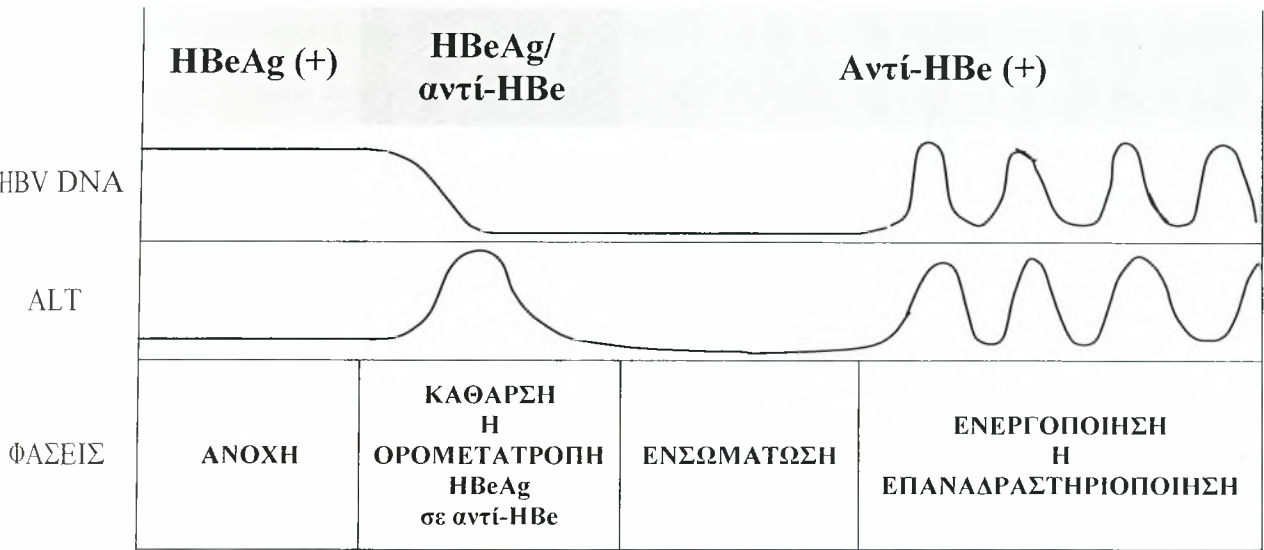
4.4.α ΦΑΣΗ ΤΗΣ ΑΝΟΧΗΣ

Στη φάση της ανοχής ο ιός διαφεύγει του ανοσολογικού συστήματος, με τη βοήθεια της δράσης του HBeAg. Στη φάση αυτή οι αμινοτρανσφεράσες είναι σχεδόν πάντα φυσιολογικές, το HBsAg βρίσκεται θετικό σε υψηλούς τίτλους, το HBV DNA στον ορό με τη μέθοδο του υβριδισμού υγρής φάσης ή της κηλίδας και/ή PCR ανιχνεύεται σε υψηλά επίπεδα, το HBeAg είναι θετικό, το IgM αντί-HBc μπορεί να ανιχνεύεται σε χαμηλούς τίτλους, το ολικό αντί-HBc είναι θετικό και το HBcAg εκφράζεται ανοσοϊστοχημικά στον πυρήνα των ηπατοκυττάρων (Σχήμα 11). Στα νεογνά η φάση αυτή διαρκεί για δεκαετίες, ενώ στους ενήλικες είναι μάλλον σημαντικά βραχύτερη. Στη φάση της ανοχής δεν αναπτύσσεται κίρρωση, αφού η ηπατοκυτταρική νέκρωση είναι ασήμαντη.^{120,141}

4.4.β. ΦΑΣΗ ΤΗΣ ΚΑΘΑΡΣΗΣ ή ΟΡΟΜΕΤΑΤΡΟΠΗΣ ΤΟΥ HBeAg ΣΕ αντί-HBe

Κατά τη φάση αυτή ο ιός συνεχίζει να πολλαπλασιάζεται, αλλά αναγνωρίζεται από το ανοσολογικό σύστημα, που επιδιώκει πλέον την εκκρί-
ζωσή του. Συμβαίνει ορομετατροπή του HBeAg σε αντί-HBe, οι αμινοτραν-
σφεράσες είναι αυξημένες, το HBsAg είναι θετικό, το HBV DNA στον ορό
είναι σχετικά χαμηλό, το IgM αντί-HBc είναι συνήθως υψηλό (μέχρι και σε
επίπεδα διαγνωστικά οξείας ηπατίτιδας B) με θετικό και το ολικό αντί-HBc,
ενώ το HBcAg εκφράζεται ανοσοϊστοχημικά στον πυρήνα, αλλά και στο
πρωτόπλασμα των ηπατοκυττάρων. Ιστολογικά διαπιστώνεται σημαντική
φλεγμονή (Σχήμα 11).^{120,141}

Σχήμα 11. Φυσική πορεία (φάσεις) της χρόνιας ηπατίτιδας B.



Η παρουσία του HBeAg χαρακτηρίζει την περίοδο της χρόνιας
λοίμωξης με έντονο πολλαπλασιασμό του ιού και υψηλή μολυσματικότητα,
ενώ η ορομετατροπή σε αντί-HBe σηματοδοτεί τον περιορισμό του πολλα-
πλασιασμού και τη βελτίωση της ιστολογικής εικόνας του ήπατος. Ο μέσος
ετήσιος ρυθμός αυτόματης ορομετατροπής είναι 10-15%, και ποικίλλει από
0% σε παιδιά στην Κίνα, 16-19% σε παιδιά της Ιταλίας και 16% στους

ενήλικες.²³⁶⁻²³⁸ Όταν η ανοσολογική απάντηση είναι έντονη, η ορομετατροπή μπορεί να συνοδευτεί μετά από μερικά χρόνια από κάθαρση του HBsAg και ανάπτυξη αντί-HBs. Η φάση της κάθαρσης είναι συνήθως ασυμπτωματική, ενώ μπορεί να διαπιστωθεί και αύξηση των επιπέδων της α1 εμβρυικής πρωτεΐνης λόγω της ηπατοκυτταρικής αναγέννησης. Σπάνια, η ορομετατροπή συνοδεύεται από ίκτερο και εκδηλώσεις ηπατικής ανεπάρκειας.²³⁹ Η διάρκεια αυτής της φάσης ποικίλλει από εβδομάδες μέχρι αρκετούς μήνες. Οι ασθενείς της φάσης αυτής που παραμένουν HBeAg θετικοί είναι δυνατό να αναπτύξουν κίρρωση του ήπατος με ετήσιο ρυθμό 1,5-2,5%, που μπορεί όμως να φτάσει μέχρι και το 50% σε πέντε χρόνια.^{120,239,240,241} Η πενταετής επιβίωση των ασθενών με HBV κίρρωση του ήπατος είναι περίπου 50% και εξαρτάται από την ηλικία, από τον βαθμό αύξησης της χολερυθρίνης, από την παρουσία ασκίτη και του HBeAg (σε κίρρωτικούς HBeAg θετικούς είναι 72% έναντι 97% σε HBeAg αρνητικούς).^{221,242-244,245}

4.4.γ. ΦΑΣΗ ΤΗΣ ΕΝΣΩΜΑΤΩΣΗΣ

Ο ιός βρίσκεται ενσωματωμένος στο γενετικό υλικό του ξενιστή. Στην ήρεμη μακροχρόνια αυτή φάση, οι αμινοτρανσφεράσες είναι φυσιολογικές, το HBsAg βρίσκεται θετικό αλλά σε χαμηλούς τίτλους, το HBV DNA δεν ανιχνεύεται με τη μέθοδο της κηλίδας ή με τον υβριδισμό υγρής φάσης αλλά μόνο με PCR, το HBeAg είναι αρνητικό, το αντί-HBe είναι συνήθως θετικό, το IgM αντί-HBc μπορεί να ανιχνεύεται σε πολύ χαμηλούς τίτλους ή να είναι αρνητικό, το ολικό αντί-HBc είναι θετικό και το HBcAg δεν εκφράζεται στα ηπατοκύτταρα (Σχήμα 11). Ιστολογικά το στάδιο αυτό χαρακτηρίζεται από την παρουσία ηπατοκυττάρων σα «θαμπό τζάμι» ή κυττάρων «Χατζηγιάννη» (groundglass cells), που παρουσιάζουν πρωτόπλασμα πλού-

σιο σε πρωτεΐνες επιφανείας. Το εύρημα αυτό είναι σχεδόν παθογνωμονικό της μετάπτωσης της HBV λοίμωξης σε χρονιότητα, καθώς σπάνια ανευρίσκεται στην οξεία ηπατίτιδα Β.^{120.141}

Ο συνεχιζόμενος πολλαπλασιασμός του ιού γίνεται με πολύ χαμηλό ρυθμό, γεγονός που προκαλεί την υπολειμματική ιαιμία και δεν οδηγεί σε ανοσολογική απάντηση με συνοδό φλεγμονή του ηπατικού κυττάρου. Μικρό ποσοστό (5%) των ατόμων στη φάση της ενσωμάτωσης παρουσιάζουν ιστολογικά ίνωση ή ακόμα και κίρρωση του ήπατος, που είχε δημιουργηθεί κατά το στάδιο της κάθαρσης ή ορομετατροπής (2^η φάση). Γενικά, η ιστολογική εικόνα του ήπατος δεν επιδεινώνεται παρά μόνο εάν επαναστασιοποιηθεί ο HBV (βλέπε επόμενη φάση) ή εάν επιπροστεθεί άλλος παράγοντας (επιλοίμωξη με άλλον ιό, κατανάλωση οινόπνεύματος, φάρμακα, κλπ).^{120.141.246} Λόγω της ενσωμάτωσης του HBV στο γενετικό υλικό των ηπατοκυττάρων, η εξαφάνιση του HBsAg με τη σύγχρονη ανάπτυξη υψηλού τίτλου αντί-HBs είναι σπάνια (ετήσιος ρυθμός 1-2% σε χώρες χαμηλής ενδημικότητας και <1% σε χώρες υψηλής ενδημικότητας). Όμως και στις περιπτώσεις αυτές, μπορεί να παραμείνει υπολειμματική ιαιμία, καθώς HBV DNA έχει ανιχνευθεί με PCR στο ήπαρ.

Η επιβίωση των ατόμων που παραμένουν για μακρύ χρονικό διάστημα στη φάση ενσωμάτωσης φαίνεται να είναι σε γενικές γραμμές πολύ καλή, αν και ο κίνδυνος ανάπτυξης κίρρωσης και ιδιαίτερα ΗΚΚ εξακολουθεί να υπάρχει, αφού ο ιός διατηρεί τη δυνατότητα επαναστασιοποίησης. Δεν είναι γνωστές οι αιτίες επαναστασιοποίησης του HBV εκτός από τις περιπτώσεις ανοσοκαταστολής από τον HIV και της χορήγησης ανοσοκατασταλτικών φαρμάκων λόγω νεοπλασίας. Άτομα με χρόνια ηπατίτιδα Β και νεόπλασμα, που βρίσκονται στην ήρεμη από κλινική, βιοχημική και ιολογική σκοπιά, φάση ενσωμάτωσης του HBV («φορείς» του ιού)

μπορεί να παρουσιάσουν οξεία ηπατοκυτταρική βλάβη, συνήθως 3 - 4 εβδομάδες μετά τη διακοπή χημειοθεραπευτικού σχήματος, που συνήθως περιλαμβάνει κορτικοειδή (διεγείρουν περιοχή του ιικού γονιδιώματος που δρα σαν υποδοχέας κορτικοειδούς). Κατά τη διάρκεια της χημειοθεραπείας ο ιικός πολλαπλασιασμός αυξάνεται σημαντικά. Μετά τη διακοπή της ανοσοκατασταλτικής αγωγής, η ανοσολογική απάντηση κατά του έντονα πολλαπλασιασθέντος ιού μπορεί να είναι τόσο ισχυρή, ώστε να εκδηλωθεί τυπική βαριά ηπατίτιδα Β, που είναι δυνατό να εξελιχθεί μέχρι και σε θανατηφόρο κεραυνοβόλο μορφή.^{120.247-249}

Για τους παραπάνω λόγους ο όρος *ασυμπτωματικός φορέας* της χρόνιας ηπατίτιδας Β δε θεωρείται σήμερα επιστημονικά ορθός και δεν πρέπει πλέον να χρησιμοποιείται, καθώς η πιθανότητα ενεργοποίησης του ιού υφίσταται. Σήμερα, μετά τις θέσεις ομοφωνίας της Ευρωπαϊκής Εταιρείας Μελέτης του ήπατος, ο παραπάνω όρος έχει αντικατασταθεί με τον όρο «χρόνια HBsAg θετική ανενεργός φάση της λοίμωξης».²⁵⁰ Άτομα με HBsAg (+) που βρίσκονται στη φάση της ενσωμάτωσης θα πρέπει να αξιολογούνται για την ύπαρξη ή μη ενεργότητας του ιού και της υποκείμενης ηπατικής νόσου. Αν από τον κλινικό, εργαστηριακό, ορολογικό και απεικονιστικό έλεγχο δεν υπάρχουν στοιχεία ενεργότητας, τότε τα άτομα αυτά θα πρέπει να παρακολουθούνται ανά 6-12 μήνες για την πιθανότητα ενεργοποίησης της νόσου.

4.4.δ ΦΑΣΗ ΤΗΣ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗΣ (ΕΠΑΝΑΔΡΑΣΤΗΡΙΟΠΟΙΗΣΗΣ)

Στις Μεσογειακές χώρες και την Άπω Ανατολή, το 35-85% των ασθενών με χρόνια ηπατίτιδα Β, παρ' ότι αρνητικοί στο HBeAg και θετικοί στο

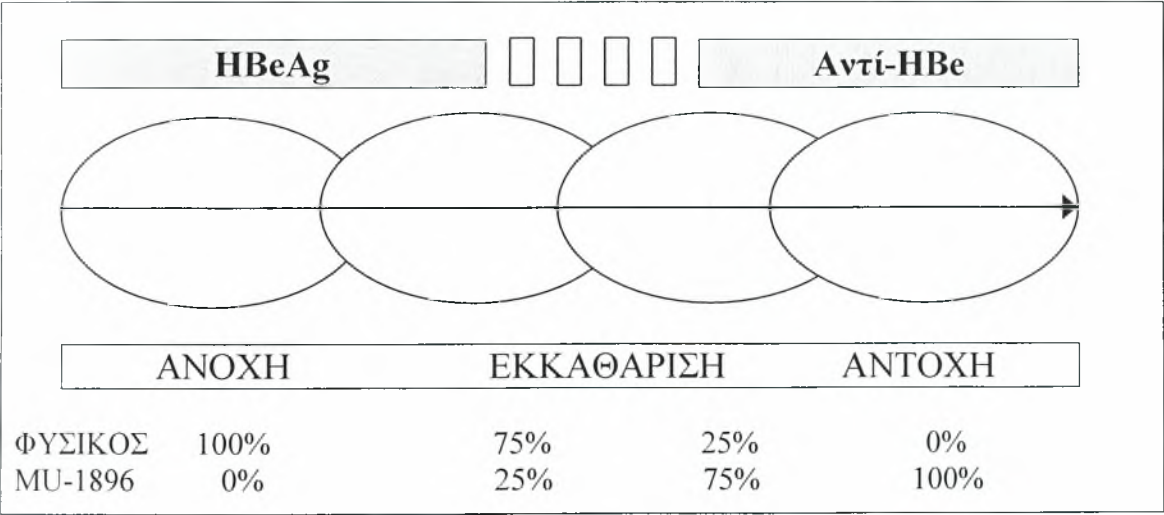
αντί-HBe, έχουν αυξημένες αμινοτρανσφεράσες, θετικό HBV DNA στον ορό, σχετικά υψηλό τίτλο IgM αντί-HBc, ανοσοϊστοχημική έκφραση του HBcAg στον πυρήνα και στο πρωτόπλασμα των μολυσμένων ηπατοκυττάρων και σοβαρή προοδευτικά εξελισσόμενη ηπατοκυτταρική βλάβη (Σχήμα 11). Οι ασθενείς αυτοί εντάσσονται στην τέταρτη φάση της φυσικής ιστορίας της χρόνιας ηπατίτιδας B, τη φάση της ενεργοποίησης ή επαναδραστηριοποίησης.²⁵¹ Η πορεία της νόσου κατά τη φάση αυτή χωρίς θεραπεία είναι πολύ επιθετική, αφού το 75% των ασθενών καταλήγει σε πολύ μικρό χρονικό διάστημα σε κίρρωση (μέσος χρόνος 6 έτη) και/ή ΗΚΚ. Η δεκαετής επιβίωση είναι περίπου 10%.²⁵² Αξοσημείωτη είναι η εμφάνιση ΗΚΚ σε ποσοστό 14% και μέσα σε διάστημα 24 - 40 μηνών μετά την εκδήλωση του οξέως επεισοδίου.²⁵³

Η φάση της ενεργοποίησης είναι σημαντικά συχνότερη στους άνδρες, εκδηλώνεται σε μεγαλύτερη ηλικία, ενώ οι κλινικές της εκδηλώσεις δε διαφέρουν σημαντικά από αυτές της φάσης της κάθαρσης. Η αύξηση των αμινοτρανσφερασών είναι περίπου του ίδιου μεγέθους, αλλά διατηρείται για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα, ενώ οι τιμές τους στα 2/3 των περιπτώσεων παρουσιάζουν διακυμάνσεις και στο 1/3 παραμένουν επί μακρόν αυξημένες.²⁵⁴ Αυτόματη ύφεση παρουσιάζεται στο 15% των ασθενών. Τα επίπεδα του HBV DNA είναι χαμηλότερα από αυτά στη φάση της κάθαρσης, ενώ η αύξηση των επιπέδων της ιαιμίας προηγείται της αύξησης των ηπατικών ενζύμων. Κατά τη φάση αυτή παρατηρούνται σημαντικές και συχνές διακυμάνσεις στην ιολογική και ενζυμική δραστηριότητα, αφού εξάρσεις εναλλάσσονται με υφέσεις, που απηχούν την ανοσολογική εκκαθάριση των προσβεβλημένων ηπατοκυττάρων.

Η ενεργός λοίμωξη από τον HBV σε HBeAg αρνητικούς, αντί-HBe θετικούς ασθενείς αποδόθηκε σε μοριακό επίπεδο στην ύπαρξη μιας σημει-

ακής μεταλλαγής στην προπυρηνική περιοχή (pre-core) του γονιδιώματος του ιού (βλέπε Κεφ 1, μεταλλαγές Σχήμα 5). Πρέπει να σημειωθεί ότι το προπυρηνικά μεταλλαγμένο στέλεχος, αν και μεταδός, φαίνεται να αναπτύσσεται στην πορεία της χρόνιας λοίμωξης από το φυσικό-άγριο στέλεχος κατά τη φάση της ορομετατροπής του HBeAg σε αντί-HBe μετά από κυτταρική ή χυμική ανοσολογική πίεση του ξενιστή (Σχήμα 12). Αυτό εξηγεί, γιατί στις Μεσογειακές χώρες και την Άπω Ανατολή συναντούμε ασθενείς αυτού του σταδίου (αντί-HBe θετικοί). Πρόκειται συνήθως για άτομα ηλικίας άνω των 30 ετών, που μολύνθηκαν κατά την παιδική ηλικία και ακολούθησαν τις φάσεις που αναφέρθηκαν παραπάνω. Αντίθετα, στη Βορειοδυτική Ευρώπη και τις Η.Π.Α. οι μολύνσεις συμβαίνουν σε μεγαλύτερες ηλικίες και οι ασθενείς βρίσκονται στη φάση της HBeAg θετικότητας.¹²⁰

Σχήμα 12. Ανάπτυξη του προπυρηνικά μεταλλαγμένου ιού (mu-1896), κατά την ορομετατροπή. Κατά τη φάση της ανοχής, επικρατεί ο φυσικός ιός με την ανοσοκατασταλτική δράση της πρωτεΐνης e. Κατά τη φάση της κάθαρσης, ο ιός προοδευτικά εξολοθρεύεται και επικρατεί ο mu-1896, ο οποίος παρουσιάζει αντοχή στην ανοσολογική πίεση του ξενιστή.



4.5. ΧΡΟΝΙΑ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ Β ΚΑΙ ΗΠΑΤΟΚΥΤΤΑΡΙΚΟΣ ΚΑΡΚΙΝΟΣ (ΗΚΚ)

Ο ΗΚΚ είναι από τους συχνότερους καρκίνους σε παγκόσμια κλίμακα (έκτος πιο συχνός καρκίνος και το τρίτο σε σειρά συχνότητας αίτιο θανάτου από νεοπλασίες). Η χρόνια λοίμωξη από τον HBV συνδέεται με την εμφάνιση ΗΚΚ. Οι γεωγραφικές κατανομές της ηπατίτιδας Β και του ΗΚΚ συσχετίζονται στενά. Σε ενδημικές περιοχές (Κίνα, Δ. Αφρική) η επίπτωση του ΗΚΚ είναι 150 περιπτώσεις ανά 100.000 κατοίκους κάθε χρόνο.^{255,256} Αντίθετα, στις Η.Π.Α. ο ΗΚΚ είναι ο εικοστός δεύτερος σε συχνότητα τύπος καρκίνου με επίπτωση $4/10^5$ κατοίκους το έτος. Στην Ασία το 85% των ΗΚΚ είναι HBsAg (+), ενώ στις Η.Π.Α. και τη Δυτική Ευρώπη το 10-25%. Το αντίστοιχο ποσοστό στην Ελλάδα είναι 65-70%.^{120,256,257} Επιπλέον, παρατηρείται σημαντική μείωση της επίπτωσης του παιδικού ΗΚΚ ανάλογη της μείωσης της συχνότητας της λοίμωξης από τον HBV στα παιδιά, μετά τον υποχρεωτικό εμβολιασμό όλων των νεογέννητων.²⁵⁸ Εξάλλου, χρόνια λοίμωξη από άλλα στελέχη των Hepadna ιών έχει συσχετιστεί με την ανάπτυξη ΗΚΚ. Σε μία σχετική μελέτη,²⁵⁹ όλα (100%) τα τρωκτικά-Woodchuck (ζώα-μοντέλα της χρόνιας λοίμωξης από τον HBV) ανέπτυξαν ΗΚΚ 2 έως 4 έτη μετά την έναρξη της λοίμωξης από τον ιό της ηπατίτιδας των Woodchuck (WHV).

Η χρόνια λοίμωξη από τον HBV μπορεί να οδηγήσει σε ΗΚΚ είτε άμεσα πυροδοτώντας κυτταρικά ογκογονίδια ή αδρανοποιώντας κατασταλτικά ογκογονίδια είτε έμμεσα μέσω της φλεγμονής της χρόνιας ηπατοκυτταρικής βλάβης και της αναγέννησης (Πίνακας 11). Η κίρρωση του ήπατος είναι μείζων προδιαθεσικός παράγοντας, δεδομένου ότι το 60-80% των περιπτώσεων ΗΚΚ εμφανίζεται σε έδαφος κίρρωσης. Η ιογενούς αιτιολογί-

Πίνακας 11. *Ηπατοκαρκινογένεση και HBV.*

-
- Χρόνια νεκροφλεγμονώδης δραστηριότητα με συνοδό αναγέννηση και τελική εμφάνιση κίρρωσης
 - Ενσωμάτωση HBV DNA εντός ή πλησίον κυτταρικών γονιδίων αύξησης
 - Πρωτεΐνη x: Διενεργοποιητική δράση, καταστολή p53
 - Ενεργοποίηση ογκογονιδίων
-

ας κίρρωση έχει βρεθεί ότι ενέχει το μέγιστο κίνδυνο. Ο HBV βρίσκεται ενσωματωμένος στο DNA των νεοπλασματικών κυττάρων ασθενών με ΗΚΚ που αναπτύχθηκε σε φορείς του. Έχει αποδειχθεί ότι άτομα με ασυμπτωματική χρόνια λοίμωξη από τον HBV, έχουν 150-250 φορές μεγαλύτερη πιθανότητα να αναπτύξουν ΗΚΚ συγκριτικά με άτομα χωρίς ενδείξεις λοίμωξης, ενώ ο κίνδυνος είναι 800 φορές μεγαλύτερος, αν συνυπάρχει κίρρωση. Ο ΗΚΚ αναπτύσσεται μετά από 25-30 έτη λοίμωξης (1-3% το χρόνο στους κίρρωτικούς), ενώ η μείωση του ιικού πολλαπλασιασμού φαίνεται να μειώνει και την πιθανότητα καρκινογένεσης.^{120,260}

Ο ακριβής παθογενετικός μηχανισμός είναι άγνωστος. Η ενσωμάτωση του HBV στο χρωμοσωμιακό υλικό του ξενιστή θεωρήθηκε αρχικά ως η απαρχή της νεοπλασματικής εκτροπής. Όμως η απλή ενσωμάτωση στο γονιδίωμα των κυττάρων, δεν επαρκεί για την επιστημονική τεκμηρίωση της ογκογένεσης, αφού έχει διαπιστωθεί σε ποικίλες και τυχαίες χρωμοσωμιακές θέσεις. Επιπλέον, σε πολυεστιακά καρκινώματα, η ενσωμάτωση γίνεται σε διαφορετικά σημεία του γενετικού υλικού στα διάφορα νεοπλασματικά οζίδια.²⁶¹ Επίσης, ο ΗΚΚ αναπτύσσεται και σε μη κίρρωτικούς ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα Β. Γι' αυτό είναι πολύ πιθανό, ο HBV να ασκεί άμεση ογκογόνο δράση και να μην προαπαιτείται ο παράγοντας της χρόνιας φλεγμονής και της συνεχούς ηπατοκυτταρικής αναγέννησης. Ο HBV προκαλεί ανακατατάξεις στο χρωμοσωμιακό υλικό του ξενιστή και πιθανό να προκαλεί διέγερση πρωτο-ογκογονιδίων (όπως του υποδοχέα του

ρετινοϊκού οξέως ή της κυκλίνης Α).²⁶² Οι κυκλίνες είναι γονίδια σημαντικά στον έλεγχο της κυτταρικής διαίρεσης και η τροποποιημένη έκφρασή τους μετά από την ενσωμάτωση του ιικού DNA μπορεί να συνεισφέρει στην κακοήθη εξαλλαγή.

Πρόσφατα βρέθηκε ότι η ενσωμάτωση του ιικού DNA μπορεί να αυξήσει την πιθανότητα καρκινογένεσης μέσω διαδιεγερτικής δράσης. Η HBx πρωτεΐνη είναι ισχυρός και μαζικός διεγέρτης ποικίλων ικών ενισχυτών.^{30.263.264} Η ενσωμάτωση του X γονιδίου αυτούσιου ή κατά τμήματα έχει βρεθεί στις περισσότερες περιπτώσεις που σχετίζονται με τον HBV. Επίσης, η X πρωτεΐνη «καταπιέζει» το κατασταλτικό ογκογονίδιο p53 με αποτέλεσμα μειωμένη ανασταλτική δράση του τελευταίου στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό.²⁶⁵⁻²⁶⁷

Για την ανάπτυξη ΗΚΚ έχουν ενοχοποιηθεί και χρωμοσωμιακές μεταλλαγές (αφαιρέσεις ή μεταθέσεις). Μία αφαίρεση ή παράλειψη μπορεί να οδηγήσει στην εξάλειψη ενός κατασταλτικού ογκογονιδίου, όπως συμβαίνει στο ρετινοβλάστωμα.^{267.268}

Κατά την αναγέννηση από την ηπατοκυτταρική βλάβη, κύτταρα που έχουν πλεονέκτημα ανάπτυξης (μέσω μεταλλαγών) επιλέγονται, με αποτέλεσμα την κλωνική αύξησή τους και τελικά ογκογένεση. Πειραματικά αυτή η υπόθεση έχει επιβεβαιωθεί σε ποντίκια, στα οποία παρατηρείται υπερ-έκφραση της μεγάλης προεπιφανειακής πρωτεΐνης 1 του HBV. Αυτά αναπτύσσουν βαριά εξελισσόμενη ηπατοκυτταρική βλάβη, που αποτελεί την αφετηρία της αντίδρασης που περιλαμβάνει διαδοχικά φλεγμονή, αναγεννητική υπερπλασία, ανώμαλη μεταγραφή, ανευπλοειδία και τελικά την ανάπτυξη νεοπλασίας.^{269.270} Δηλαδή, η χρόνια νεκροφλεγμονώδης δραστηριότητα με την επακόλουθη αναγέννηση του ηπατικού ιστού και την τελική κατάληξη της κίρρωσης, οδηγεί πιθανότατα σε κακοήθη εξαλλαγή μέσω της

εξαιρετικά μεγάλης αύξησης του αριθμού των μιτώσεων των ηπατοκυττάρων κατά τη διάρκεια των ετών της χρόνιας λοίμωξης.

Άλλοι παράγοντες κινδύνου που έχουν ενοχοποιηθεί για την εξέλιξη μιας χρόνιας λοίμωξης από τον HBV σε ΗΚΚ είναι το κάπνισμα, η κατανάλωση οινοπνεύματος, η συλλοίμωξη με τον HCV και η έκθεση σε αφλατοξίνες.²⁷¹⁻²⁷³

4.6. ΟΞΕΙΑ ΕΞΑΡΣΗ ΧΡΟΝΙΑΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ Β

Επεισόδια οξείας εξάρσης παρατηρούνται συχνά κατά την πορεία της χρόνιας ηπατίτιδας Β και αποτελούν το συχνότερο αίτιο «οξείας ηπατίτιδας» στους ενήλικες σε περιοχές υψηλής ενδημικότητας, ενώ η συχνότητα παρόμοιων εξάρσεων στην Ελλάδα υπολογίζεται περίπου στο 6%.²⁵³ Σαν αίτια

Πίνακας 12. *Αίτια οξείας παρόξυνσης σε HBsAg (+) ασθενείς.*

-
- Ορομετατροπή: HBeAg > αντί-HBe
 - Επαναδραστηριοποίηση του HBV
 - Οξεία επι-λοίμωξη (HAV, HCV, HDV)
 - Μη ιογενής ηπατοκυτταρική βλάβη (φάρμακα, αλκοόλ, ισχαιμία κά.)
-

θεωρούνται η ενεργοποίηση της χρόνιας λοίμωξης, η επιλοίμωξη με άλλους ηπατοτρόπους ιούς και σπανιότερα η επίδραση άλλων ηπατοτοξικών παραγόντων (οινόπνευμα, φάρμακα κά.).^{274,275} Οξεία παρόξυνση μπορεί να παρατηρηθεί στη φάση της ορομετατροπής του HBeAg σε αντί-HBe. Σπανιότερα πρόκειται για επεισόδια ατελούς ορομετατροπής,^{239,276} ενώ, όπως αναφέρθηκε, η ανοσοκαταστολή μπορεί να οδηγήσει σε ενεργοποίηση του αγρίου στελέχους του ιού (Πίνακας 12). Στις Μεσογειακές Χώρες και

την Άπω Ανατολή η ενεργοποίηση του προπυρηνικά μεταλλαγμένου ιού είναι πολύ σημαντικό αίτιο οξείας έξαρσης της χρόνιας ηπατίτιδας Β.

Οι οξείες εξάρσεις μπορεί να είναι ασυμπτωματικές ή να συνοδεύονται από συμπτωματολογία παρόμοια με την οξεία ηπατίτιδα. Το IgM αντί-HBc ανιχνεύεται ακόμα και σε πολύ υψηλούς τίτλους διαγνωστικούς για την οξεία λοίμωξη, κάτι που πολλές φορές οδηγεί σε λανθασμένη διάγνωση οξείας ηπατίτιδας Β σε μη διαπιστωμένους, μέχρι τότε, φορείς του ιού. Επίσης, μπορεί να παρατηρηθεί αύξηση της α φετοπρωτεΐνης σε επίπεδα υψηλότερα των 400 ng/mL.²⁴¹

Η οξεία παρόξυνση της χρόνιας λοίμωξης από τον HBV αυξάνει τον κίνδυνο ανάπτυξης κίρρωσης και ΗΚΚ, μπορεί δε να οδηγήσει ταχέως σε ηπατική ανεπάρκεια και θάνατο σε ασθενείς με κίρρωση, ενώ μέσα στα πλαίσια της φυσικής ιστορίας ένα σημαντικό ποσοστό ασθενών μπορεί να αρνητικοποιήσει το HBsAg.²⁷⁷ Η κάθαρση του HBsAg εξαρτάται από την ανοσολογική αντίδραση του ασθενούς. Σε περιπτώσεις παρόξυνσης λόγω αυτόματης ορομετατροπής χωρίς συμπτωματολογία οξείας ηπατίτιδας, η κάθαρση του HBsAg συμβαίνει σπάνια.^{195,278} Οι παράγοντες που θεωρούνται ως άμεσα συσχετιζόμενοι με την πρόγνωση των εξάρσεων είναι η αιτιολογία τους και η βαρύτητα της υποκείμενης ηπατικής νόσου. Η οξεία ηπατίτιδα από ορομετατροπή έχει συνήθως ευνοϊκή εξέλιξη. Αντίθετα, η ενεργοποίηση προπυρηνικά μεταλλαγμένου στελέχους συνδέεται με βαριά και ταχέως εξελισσόμενη νόσο.

4.7. ΧΡΟΝΙΑ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ Β ΚΑΙ ΑΛΛΟΙ ΗΠΑΤΟΤΡΟΠΟΙ ΙΟΙ

Οι συν-λοιμώξεις του HBV με τον HCV είναι σχετικά συχνές λόγω κοινών μηχανισμών παρεντερικής μετάδοσης. Ο επιπολασμός των αντί-HCV είναι υψηλότερος στα HBsAg θετικά άτομα σε σχέση με το γενικό πληθυσμό. Ο HCV φαίνεται να μειώνει τη διάρκεια της HBs αντιγοναιμίας καθώς επίσης και το επίπεδο των αμινοτρανσφερασών, σε σύγκριση με τη λοίμωξη μόνο από τον HBV. Αυτό συμβαίνει, γιατί ο HCV ως RNA ιός, φαίνεται να καταστέλλει τον πολλαπλασιασμό του HBV.¹⁴¹ Έτσι, στις περισσότερες περιπτώσεις συν-λοιμώξης με τον HCV, ο τελευταίος αποτελεί την επικρατούσα αιτία της ενεργού ηπατοπάθειας.¹⁴¹ Εντούτοις, πρόσφατα φαίνεται ότι μόνο στο 1/3 των περιπτώσεων B + C συν-λοιμώξεων επικρατεί ο HCV.^{279,280}

Σε ασθενείς με χρόνια συν-λοίμωξη HBV και HCV, τα επίπεδα του HCV RNA είναι χαμηλότερα σε σχέση με ασθενείς με λοίμωξη μόνο από τον HCV, αλλά οι ιστολογικές βλάβες είναι μάλλον βαρύτερες.^{281,282} Σε ενδημικές περιοχές για την ηπατίτιδα Β, η ταυτόχρονη λοίμωξη από τον HCV αποτελεί παράγοντα επιδείνωσης της φυσικής ιστορίας της χρόνιας ηπατοπάθειας, ενώ είναι πιθανό να υπάρχει συνεργική δράση των δύο ιών στην ηπατοκαρκινογένεση. Οι συν-λοιμώξεις HBV και HCV παρουσιάζουν κακή ανταπόκριση στη θεραπεία πιθανόν λόγω των βαρύτερων ιστολογικών ηπατικών αλλοιώσεων.^{283,284}

Η λανθάνουσα ηπατίτιδα Β έχει συνδεθεί με λοίμωξη από τον HCV. Σ' αυτές τις περιπτώσεις ο πολλαπλασιασμός του HBV συσχετίζεται πολλές φορές με τη διακύμανση των αμινοτρανσφερασών. Τα επίπεδα της ALT είναι ελαφρώς υψηλότερα από αυτά που ανιχνεύονται σε λοίμωξη μόνο από

τον HCV,^{211,279} ενώ τα επίπεδα του HCV RNA ποικίλλουν.^{211,285-287} Στις περισσότερες μελέτες ανευρίσκονται υψηλότερα και σε άλλες δεν υπάρχει σημαντική διαφορά. Η συνύπαρξη λανθάνουσας ηπατίτιδας B και λοίμωξης από τον HCV φαίνεται να σχετίζεται με την ανάπτυξη ηπατικής ίνωσης, ελαττωμένη απάντηση στην IFN-α και εξέλιξη σε ΗΚΚ.^{211,279,285-287} Εντούτοις, πολύ πρόσφατες μελέτες σε μεγάλο αριθμό ασθενών δεν έχουν επιβεβαιώσει τα παραπάνω ευρήματα.^{209,279,286,288}

Ο ιός της ηπατίτιδας D (HDV) είναι ελλειμματικός RNA ιός, που χρειάζεται την παρουσία του HBV για την αναπαραγωγή του. Μεταδίδεται με τους ίδιους τρόπους όπως ο HBV, εκτός από την περιγεννητική μετάδοση, που είναι εξαιρετικά σπάνια. Προσβάλλει μόνο ασθενείς που είναι ήδη φορείς του HBV (οξεία επι-λοίμωξη) είτε μολύνονται ταυτόχρονα με τους δύο ιούς (οξεία συν-λοίμωξη). Περίπου 5% του συνόλου των φορέων της ηπατίτιδας B είναι μολυσμένοι από τον HDV. Στην Ελλάδα, ο επιπολασμός της λοίμωξης από τον HDV σε ασυμπτωματικούς φορείς του HBsAg κυμαίνεται από 0-2,4%, αν και στους αιμορροφιλικούς σε παλαιότερες μελέτες κυμαίνονταν από 27-100%, ενώ σε ενδημικές περιοχές για την ηπατίτιδα B είναι περίπου 30%. Στις μέρες μας ο υψηλότερος επιπολασμός του HDV ανευρίσκεται σε τοξικομανείς, στους οποίους και προκαλεί μεγάλη νοσηρότητα.^{120,141}

Στην περίπτωση της συν-λοίμωξης από τους ιούς HBV και HDV, η οξεία ηπατίτιδα αν και βαριά συνήθως αυτοπεριορίζεται (90%). Συχνά παρατηρείται διφασική αύξηση των αμινοτρανσφερασών με την οφειλόμενη στον HDV να προηγείται ή συνηθέστερα να ακολουθεί κατά 2-4 εβδομάδες αυτής που οφείλεται στον HBV. Κεραυνοβόλος πορεία παρουσιάζεται στο 1-2%, και μετάπτωση σε χρόνια στο 10-20%. Στην οξεία επι-λοίμωξη, η κλινική πορεία της οξείας ηπατίτιδας είναι συνήθως ήπια (σοβαρότερη

στα HBeAg θετικά άτομα και ηπιότερη στα HBeAg αρνητικά). Μεταπίπτει σε χρονιότητα σε πολύ υψηλό ποσοστό (70-90%), ενώ η κεραυνοβόλος D ηπατίτιδα εμφανίζει υψηλότερη θνησιμότητα από ότι η κεραυνοβόλος μορφή κατά την οξεία συν-λοίμωξη.^{120,141,260}

Η χρόνια λοίμωξη από τον HDV οδηγεί σε σοβαρής μορφής ηπατοπάθεια ακόμα και σε παιδιά. Η νόσος εξελίσσεται συνήθως πολύ γρήγορα σε κίρρωση του ήπατος και στα επακόλουθά της. Η εξέλιξη είναι τόσο γρήγορη, ώστε ο επιπολασμός του ΗΚΚ να είναι πρακτικά μηδενικός, αφού οι ασθενείς καταλήγουν νωρίτερα λόγω τελικού σταδίου ηπατικής νόσου (ανθεκτικός ασκίτης, ηπατονεφρικό σύνδρομο, ηπατική εγκεφαλοπάθεια).¹²⁰

Παρά το ότι ο HDV θεωρείται εξαιρετικά παθογόνος και σχεδόν πάντα επιβαρύνει σημαντικά τη φυσική ιστορία της υποκείμενης λοίμωξης από τον HBV, έχει αναφερθεί Ελληνική περιοχή (Αρχάγγελος Ρόδου), όπου η HDV λοίμωξη συνδυαζόταν με σχεδόν φυσιολογική ηπατική λειτουργία. Το γεγονός αυτό υποδηλώνει ότι είναι δυνατό να υπάρχουν σημαντικές διαφορές στην έκφραση και τη βαρύτητα της νόσου, οι οποίες να έχουν γενετική βάση. Παράγοντες που επιδεινώνουν τη φυσική πορεία της χρόνιας ηπατίτιδας D είναι ο πολλαπλασιασμός του HBV και η συν-λοίμωξη με άλλον ιό (HIV και HCV).^{120,260}

4.8. ΧΡΟΝΙΑ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ Β ΚΑΙ ΧΡΗΣΗ ΟΙΝΟΠΝΕΥΜΑΤΟΣ

Ο επιπολασμός των ορολογικών δεικτών προηγούμενης λοίμωξης από τον HBV στους αλκοολικούς κυμαίνεται στο 30-50% (δύο με τέσσερις φορές υψηλότερος από τον αντίστοιχο στο γενικό πληθυσμό). Παρόλα αυτά,

η συχνότητα του HBsAg ανέρχεται στο 5%, δείχνοντας ότι η χρόνια ηπατίτιδα Β δεν είναι κατά πολύ συχνότερη στους αλκοολικούς.¹⁴¹ Όμως, στο 10% των HBsAg αρνητικών αλκοολικών με ηπατική νόσο ανιχνεύεται το HBV DNA (στον ορό και τον ηπατικό ιστό), κάτι που συνιστά πιθανή επίδραση της λανθάνουσας ηπατίτιδας Β στην εξέλιξη της αλκοολικής νόσου του ήπατος. Η κατανάλωση αλκοόλ σε συνδυασμό με τη χρόνια λοίμωξη από τον HBV επιταχύνει την εμφάνιση της ηπατικής βλάβης, αυξάνει το σχετικό κίνδυνο εμφάνισης κίρρωσης και ΗΚΚ και μειώνει την επιβίωση, σε σχέση με τους αλκοολικούς που δε νοσούν συγχρόνως και από χρόνια ηπατίτιδα Β.^{273,289-291} Τελευταία, βρέθηκε ότι η αιθανόλη αυξάνει, τουλάχιστον σε πειραματόζωα, τον πολλαπλασιασμό και την αντιγραφή του ιού και μεταβάλλει την έκφραση των γονιδίων του.²⁹²

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

5.1. ΠΡΟΦΥΛΑΞΗ ΚΑΤΑ ΤΟΥ HBV

Ο πιο αποτελεσματικός τρόπος περιορισμού της λοίμωξης από τον HBV είναι η προφύλαξη όσων δεν έχουν μολυνθεί (ευαίσθητος πληθυσμός), παρά η θεραπεία των ήδη προσβεβλημένων. Αυτό γίνεται με: α) μέτρα πρωτογενούς πρόληψης (γενικά μέτρα προφύλαξης) και β) μέτρα δευτερογενούς πρόληψης, που περιλαμβάνουν την **παθητική** και την **ενεργητική ανοσοποίηση**.

Τα σημαντικότερα από τα γενικά μέτρα προφύλαξης περιλαμβάνουν τη χρήση γαντιών σε οποιαδήποτε αιματηρή ιατρική πράξη, την άριστη αποστείρωση χειρουργικών, οδοντιατρικών και ενδοσκοπικών εργαλείων, την προσεκτική επιλογή των αιμοδοτών, τον εκτενή εργαστηριακό έλεγχο από τις Αιμοδοσίες με σύγχρονες μεθόδους ανίχνευσης, τη χρήση συριγγών μίας χρήσης, την ενημέρωση του ιατρικού, οδοντιατρικού και παραϊατρικού προσωπικού, την αιμοκάθαρση των φορέων της ηπατίτιδας Β σε ξεχωριστούς θαλάμους και διαφορετικά μηχανήματα και τέλος, τον υποχρεωτικό προγεννητικό έλεγχο των εγκύων. Η ενημέρωση θα πρέπει να επεκταθεί σε όλο τον πληθυσμό με έμφαση στους τρόπους μετάδοσης, ιδιαίτερα μέσα από καθημερινές δραστηριότητες (σεξουαλική επαφή χωρίς προφύλαξη, κοινή χρήση προσωπικών αντικειμένων π.χ. ξυραφάκια). Επιπλέον, θα πρέπει να γίνει ενημέρωση, ιδιαίτερα στις ομάδες υψηλού κινδύνου, για τον ύπουλο και ασυμπτωματικό χαρακτήρα της ασθένειας.^{116.120.293.294}

5.2. ΠΑΘΗΤΙΚΗ ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΤΑ ΤΟΥ HBV

Η παθητική ανοσοποίηση επιτυγχάνεται με τη χορήγηση ειδικής κατά του HBV υπεράνοσης γ-σφαιρίνης (HBIG), η οποία περιέχει υψηλούς τίτλους αντί-HBs ($>1:100.000$), και ακολουθείται από την έναρξη των δόσεων του εμβολίου (αν δεν έχει ήδη προηγηθεί) στον άλλο δελτοειδή μυ ή στον άλλο μηρό για τα νεογνά. Η επίτευξη μέγιστου βαθμού προστασίας πραγματοποιείται, όταν η ανοσοπροφύλαξη αρχίσει εντός 12 ωρών από την πιθανή έκθεση ή τη γέννηση. Ειδικότερα, η χορήγηση HBIG συνιστάται:^{120,141,295}

- Σε νεογνά θετικών μητέρων. Χορηγείται μία δόση 0,05ml ενδομυϊκά εντός 12 ωρών από τη γέννηση. Ο εμβολιασμός πρέπει να αρχίσει εντός 24 ωρών από τη γέννηση.
- Μετά από διαδερμική ή βλεννογόνιο έκθεση σε HBsAg θετικά βιολογικά υγρά ή υλικά. Χορηγείται μία δόση 0,06 ml/kg βάρους σώματος ή 5 ml στους ενήλικες μέσα σε 24 ώρες από την έκθεση και άμεση έναρξη ταχείος σχήματος εμβολιασμού (0,1,2). Διαφορετική θα είναι η στρατηγική που ακολουθείται ανάλογα με την ανοσολογική κατάσταση του εκτεθέντος (ευαίσθητος, με χαμηλό ή υψηλό τίτλο αντισωμάτων) από προηγούμενη λοίμωξη ή μετά από εμβολιασμό (Πίνακας 13).
- Μετά από σεξουαλική επαφή με HBsAg θετικό άτομο. Χορηγείται μία δόση (0,06 ml/kg βάρους σώματος) σε 14 το πολύ ημέρες από την έκθεση ακολουθούμενη από ταχύ σχήμα εμβολιασμού (0,1,2).

Σε περίπτωση εμφάνισης δύο ή περισσότερων κρουσμάτων που συνδέονται με κοινή έκθεση θα πρέπει: α) Να επιβεβαιωθεί η διάγνωση

Πίνακας 13. Στρατηγική ανοσοπροφύλαξης μετά από πιθανή έκθεση στον HBV.

Δέκτης	Πηγή έκθεσης στον HBV		
	Άγνωστη	Αρνητική	Θετική
Ανεμβολίαστος	Εμβολιασμός + HBIG	Εμβολιασμός	Εμβολιασμός + HBIG
Εμβολιασμένος (αντί-HBs <10IU/L)	Αναμνηστική δόση	Αναμνηστική δόση	Αναμνηστική δόση + HBIG
Εμβολιασμένος (αντί-HBs >10IU/L)	Ουδέν	Ουδέν	Ουδέν

HBIG = ειδική κατά του HBV υπεράνοση γ-σφαιρίνη

κλινικά και εργαστηριακά, β) να γίνει έρευνα για την ανεύρεση της κοινής πηγής της λοίμωξης με σκοπό τη νοσηλεία και τον περιορισμό της περαιτέρω επέκτασης της επιδημίας, γ) να γίνει έρευνα για τη διαπίστωση και άλλων κρουσμάτων μεταξύ ατόμων που μπορεί να εκτέθηκαν στην πηγή της λοίμωξης π.χ. τοξικομανείς που χρησιμοποίησαν την ίδια σύριγγα.

5.3. ΕΝΕΡΓΗΤΙΚΗ ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΤΑ ΤΟΥ HBV

Η ενεργητική ανοσοποίηση επιτυγχάνεται με τον έγκαιρο και σωστό εμβολιασμό. Το πρώτο διαθέσιμο εμβόλιο κατά του HBV παρασκευάστηκε από κεκαθαρμένο πλάσμα φορέων το 1982.¹⁴¹ Αρχικά, λόγω του υψηλού του κόστους, χρησιμοποιήθηκε μόνο για την προφύλαξη των ομάδων υψηλού κινδύνου των ανεπτυγμένων χωρών, όπου βεβαίως ο επιπολασμός της νόσου είναι πολύ χαμηλός σε σχέση με τις υποανάπτυξη χώρες. Αργότερα κατέστη ευρύτερα διαθέσιμο, και σήμερα η παραγωγή εμβολίου από κεκαθαρμένο πλάσμα υγιών φορέων εξακολουθεί να είναι πηγή φτηνού και αποτελεσματικού εμβολίου. Σε ορισμένες χώρες, όπου η ιοφορία είναι υψηλή, η πηγή πλάσματος είναι ευχερής. Γι’ αυτό αναπτύχθηκαν εγκατα-

στάσεις παραγωγής εμβολίου με σκοπό τη χρήση του σε τοπική κλίμακα ή σε άλλες αναπτυσσόμενες χώρες.

Στις μέρες μας και κυρίως στις αναπτυγμένες χώρες, το εμβόλιο αντικαταστάθηκε από άλλα παραγόμενα με γενετικά ανασυνδυασμένο DNA.¹¹⁸ Τα εμβόλια αυτά είναι ασφαλή και προσφέρουν προφύλαξη στο 95% περίπου των περιπτώσεων.^{119,296} Λόγω της παγκόσμιας διάστασης του προβλήματος της ηπατίτιδας Β αλλά και της πολύ καλής αποτελεσματικότητας του εμβολίου, η Παγκόσμια Οργάνωση Υγείας (ΠΟΥ) συνέστησε την εισαγωγή του εμβολίου της ηπατίτιδας Β στο πρόγραμμα υποχρεωτικού εμβολιασμού των βρεφών και των παιδιών από το 1995 σε χώρες με επιπολασμό >8% και σε όλες τις χώρες (ανεξάρτητα από τη συχνότητα δεικτών λοίμωξης) από το 1997.¹¹⁸

Η αποδοχή από τους γονείς και η μείωση του κόστους του εμβολιασμού είναι δύο βασικά προβλήματα που πρέπει να αντιμετωπιστούν, ώστε να εφαρμοσθεί ο άμεσος εμβολιασμός όλων των βρεφών σε όλες τις χώρες. Αυτό φαίνεται να επιτυγχάνεται, εκτός από τον απλό μονοεμβολιασμό κατά του HBV, και με το συνδυασμό του εμβολίου κατά του ιού της ηπατίτιδας Β με τα βασικά παιδικά εμβόλια. Ήδη κυκλοφορεί συνδυασμένο εμβόλιο κατά διφθερίτιδας – τετάνου – κοκκύτη και κατά του HBV, που αποδείχθηκε εξίσου αποτελεσματικό και για τα τέσσερα αντιγόνα.²⁹⁷ Συνδυασμός επίσης επιτεύχθηκε με το εμβόλιο κατά του ιού της ηπατίτιδας Α. Το τελευταίο θα είναι πολύ χρήσιμο για ορισμένες περιοχές, όπου ενδημούν τόσο η ηπατίτιδα Α όσο και η Β.²⁹⁸ Επιπλέον, στις μέρες μας εφαρμόζονται συνδυασμένα εμβόλια κατά διφθερίτιδας – τετάνου – κοκκύτη, αιμόφιλου, HBV και πολιομυελίτιδας, που προφυλάσσουν από τα έξι κυριότερα παιδικά νοσήματα συγχρόνως.²⁹⁹

Τα προτεινόμενα από την Π.Ο.Υ. σχήματα εμβολιασμού είναι δύο. Το πρώτο περιλαμβάνει 3 δόσεις στους 0, 1 και 6 μήνες και το δεύτερο (εντατικό σχήμα) 4 δόσεις στους 0, 1, 2, 12 μήνες. Η δόση σε παιδιά έως 10 ετών είναι το ήμισυ της αντίστοιχης δόσης του ενήλικα. (Πίνακας 14). Η χορήγηση του γίνεται ενδομυϊκά στο δελτοειδή για τους ενήλικες, ενώ για τα βρέφη στην εξωτερική επιφάνεια του μηρού. Το εμβόλιο είναι ασφαλές και έχει την ίδια ανοσογονικότητα ακόμα και κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης.^{120,141}

Πίνακας 14. Περιεκτικότητα (μg) HBsAg των εμπορικά διαθέσιμων εμβολίων *Engerix* και *HBvax-PRO* ανάλογα με την ηλικία.

Ομάδες	<i>Engerix</i>		<i>HBvax-PRO</i>	
	Mg	ml	μg	ml
Νεογνά HBsAg θετικών μητέρων	10	0,5	5	0,5
Βρέφη και παιδιά <11 ετών HBsAg αρνητικών ή HBsAg θετικών μητέρων	10	0,5	5	0,5
Έφηβοι και νεαροί ενήλικες 11-19 ετών	20	1	10	1
Ενήλικες >20 ετών	20	1	10	1
Ανοσοκατασταλμένοι	40	2	40	4

Παρόλα αυτά, τα πρώτηs και δεύτερης γενιάs εμβόλια παρουσιάζουν κάποια μειονεκτήματα. Για παράδειγμα, μικρό αλλά σημαντικό ποσοστό εμβολιασθέντων δεν καταφέρνει να ανταποκριθεί επαρκώς στο εμβόλιο, καθώς δεν εγείρει ικανή ανοσολογική απάντηση. Τα τρίτης γενιάs εμβόλια από κατάλληλα γενετικά ανασυνδυασμένο DNA περιέχουν εκτός από το S αντιγόνο και τα προ-s1 και προ-s2 και παρουσιάστηκαν ως λύση στο παραπάνω πρόβλημα.³⁰⁰ Το προ-s2 αντιγόνο θεωρείται ότι αυξάνει σημαντικά την ανοσογονικότητα του εμβολίου τόσο μέσω της πρόκλησης αύξησηs

της παραγωγής των αντί-HBs, όσο και μέσω της διέγερσης της T-κυτταρικής ανοσίας, βοηθώντας έμμεσα προς την κατεύθυνση της σωστής ανοσολογικής απάντησης.³⁰¹ Κλινικές μελέτες έχουν καταδείξει ότι το εμβόλιο είναι καλά ανεκτό στον ανθρώπινο πληθυσμό που δοκιμάστηκε, και πως μία δόση επαρκεί για τη σωστή ενεργητική ανοσοποίηση.³⁰⁰

Αρκετές προσπάθειες έχουν γίνει και για την παραγωγή συνθετικών εμβολίων. Αυτά δε βρήκαν τουλάχιστον μέχρι σήμερα πρακτική εφαρμογή. Σήμερα, γίνεται προσπάθεια παρασκευής γονιδιακού εμβολίου. Αυτό επιτυγχάνεται με σύνδεση των υπευθύνων γόνων με πλασμίδια φορείς. Η ενδομυϊκή χορήγηση αυτού προκαλεί ενσωμάτωση στις μυϊκές ίνες, οι οποίες επί δύο τουλάχιστον μήνες παράγουν συνεχώς το αντίστοιχο αντιγόνο.³⁰² Έτσι, επιτυγχάνεται συνεχής αύξηση σε υψηλά επίπεδα του τίτλου αντισωμάτων επί τέσσερις συνεχείς μήνες. Το γονιδιακό εμβόλιο τουλάχιστον σε πειραματόζωα, αυξάνει τη CD4+ T-λεμφοκυτταρική και τη CD8+ T-κυτταροτοξική αντίδραση, ενώ χορηγούμενο ενδοδερμικά αυξάνει τα IgM και IgG αντί-HBs και άρα μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε άτομα που δεν παρουσίασαν ανοσολογική ανταπόκριση στο κλασσικό σχήμα εμβολιασμού, αλλά και σε αυτά που ο τίτλος των αντί-HBs είναι $< 10\text{IU/L}$.³⁰³ Τέλος, μεγάλο πλεονέκτημα του εμβολίου αυτού είναι η χορήγησή του σε μία μόνο δόση.

Στην Ελλάδα η εφαρμογή του μαζικού εμβολιασμού των βρεφών άργησε να εφαρμοσθεί. Εντούτοις, οι προσπάθειες της Εθνικής Επιτροπής Ηπατίτιδας, του ΚΕΕΛ, της Εθνικής Επιτροπής Εμβολιασμών, της Ελληνικής Εταιρείας Μελέτης του Ήπατος και της Ελληνικής Παιδιατρικής Εταιρείας συνετέλεσαν, ώστε να αρχίσει νωρίτερα ο εμβολιασμός των βρεφών. Το 1996 οι μαθητές της Α΄ Δημοτικού ήταν εμβολιασμένοι σε ποσοστό 36,3%, ενώ το 1997 το ποσοστό ανήλθε στο 56,9%.³⁰⁴ Στις αρχές

του 1998 καθιερώθηκε ο υποχρεωτικός εμβολιασμός των βρεφών σε ολόκληρο τον πληθυσμό. Ο δωρεάν εμβολιασμός καλύπτεται από το Υπουργείο Υγείας και από τα διάφορα ασφαλιστικά ταμεία. Εφαρμόζεται υποχρεωτικά η έγκαιρη ενεργητική ανοσοποίηση των νεογέννητων στο μαιευτήριο ή τουλάχιστον κατά τη διάρκεια του πρώτου έτους της ζωής. Επίσης, άρχισε ο υποχρεωτικός εμβολιασμός των εφήβων ηλικίας 11 ετών, ώστε εντός δεκαετίας να έχει ολοκληρωθεί η κάλυψη μεγάλου μέρους του πληθυσμού. Είναι εμφανές ότι το εμβόλιο πρέπει να γίνεται και σε ενήλικες που ανήκουν στις ομάδες υψηλού κινδύνου. Η καθολική προφύλαξη του πληθυσμού θα συμβάλλει σημαντικά στην ελαχιστοποίηση ή και την εξαφάνιση του προβλήματος της ηπατίτιδας Β από τον Ελλαδικό χώρο.³⁰⁵

Όμως, σημαντικός παραμένει ο προγεννητικός έλεγχος των εγκύων με σκοπό την αντιμετώπιση της κάθετης μετάδοσης της νόσου. Μελέτες έχουν δείξει ότι η άμεση εντός εικοσιτετραώρου από τη γέννηση του παιδιού έναρξη του εμβολιασμού παρέχει την ίδια πιθανότητα πρόληψης της κάθετης μετάδοσης με τη συνδυασμένη παρέμβαση (HBIG και εμβολίου).³⁰⁶ Αυτό είναι σημαντικό για τις αναπτυσσόμενες χώρες, που τόσο ο έλεγχος των εγκύων όσο και η χορήγηση HBIG δεν είναι εφικτή, λόγω του υψηλού κόστους. Σε αρκετές από αυτές τις χώρες αρχίζει ο εμβολιασμός αμέσως μετά τη γέννηση.

Οι παρενέργειες του εμβολίου είναι σπανιότατες και ως επί το πλείστον ήπιες. Πιο συχνή (10-15%) είναι η εμφάνιση άλγους και ερυθρότητας τοπικά στο δελτοειδή στο σημείο της ένεσης. Μικρής διάρκειας χαμηλή πυρετική κίνηση αναφέρεται στο 3%, ενώ άλλες μικρότερης σημασίας (κεφαλαλγία, εξάνθημα, ναυτία, έμετος, αρθραλγίες, κόπωση) εμφανίζονται σε λιγότερο από το 1% των περιπτώσεων.^{120,141}

Έχει αναφερθεί σπανιότατα, εμφάνιση αγγειίτιδας μετά τη χορήγηση ανασυνδυασμένου εμβολίου, τόσο σε υγιείς³⁰⁷ όσο και σε νεφροπαθή με μεταμόσχευση,³⁰⁸ κάτι που αποτελεί ένδειξη διακοπής του προγράμματος εμβολιασμού. Επίσης, έχει εμφανιστεί λειχηνοειδής αντίδραση, δηλαδή άτυπη έκφραση ομαλού λειχήνα στην παιδική ηλικία με έντονο κνησμό σε σχετικά μικρό ποσοστό ανοσοποιηθέντων παιδιών³⁰⁹ αλλά και ομαλού λειχήνα σε ενήλικες.³¹⁰ Χαρακτηρίζεται από ερυθρηματώδεις και κνησμώδεις βλάβες, που καθίστανται κυανέρυθρες λίγο πριν την αυτόματη υποχώρησή τους. Οφείλεται περισσότερο σε γενετική προδιάθεση και αποδόθηκε σε κυτταροτοξική λεμφοκυτταρική αντίδραση εναντίον του εμβολίου. Εμφανίζεται 1-5 εβδομάδες μετά την πρώτη δόση και μόλις 3 ημέρες μετά τη δεύτερη.^{309,310}

Παρά το ότι ο εμβολιασμός είναι γενικά καλά ανεκτός, έχουν αναφερθεί εξαιρετικά σπάνια περιπτώσεις υπερευαισθησίας, όπως η κνίδωση και το αγγειοοίδημα. Εμφανίζονται εντός ωρών ή 10 ημερών από την πρώτη ή δεύτερη δόση, ακόμα και χωρίς προηγούμενο ιστορικό αλλεργίας και διαρκούν από μία ημέρα έως τρεις εβδομάδες. Η υπερευαισθησία αποδόθηκε στο επιφανειακό αντιγόνο, σε έκδοχα του εμβολίου, στην υπερανοσοποίηση ή σε μη αλλεργικής αιτιολογίας καταστάσεις. Η συνέχιση του δοσολογικού σχήματος μπορεί να γίνει μόνο αν οι παραπάνω αντιδράσεις υπερευαισθησίας αποδοθούν σε παράγοντες άσχετους με το εμβόλιο, και πάντα υπό ιατρική παρακολούθηση.³¹¹ Επιπλέον, έχει αναφερθεί μία περίπτωση εμφάνισης μονήρους μαστοκυττώματος στο σημείο του εμβολιασμού σε θήλυ βρέφος. Η βιοψία επιβεβαίωσε τη διάγνωση με την ανεύρεση άφθονων μαστοκυττάρων στο ανώτερο χόριο.³¹²

Η πιο σοβαρή παρενέργεια που είχε ποτέ αναφερθεί ήταν η πιθανή συσχέτιση του εμβολιασμού με την πρόκληση ή αναζωπύρωση χρονίων

απομυελινωτικών παθήσεων του κεντρικού νευρικού συστήματος και ειδικότερα της πολλαπλής σκλήρυνσης. Για το λόγο αυτό έγιναν δύο μεγάλες μελέτες οι οποίες κατέδειξαν με σαφήνεια ότι δεν υπάρχει συσχέτιση μεταξύ των παραπάνω παθήσεων και του εμβολιασμού κατά της ηπατίτιδας Β.³¹³⁻³¹⁷ Παρ' όλα αυτά, σε μία πρόσφατα δημοσιευμένη μελέτη,³¹⁸ βρέθηκε ότι υπάρχουν κοινές ακολουθίες αμινοξέων ανάμεσα στο αντιγόνο επιφανείας του HBV και τη βασική πρωτεΐνη μυελίνης, που δρα ως αυτοαντιγόνο στόχος στην πολλαπλή σκλήρυνση. Ως εκ τούτου, ο πιθανός ανοσορρυθμιστικός ρόλος του εμβολίου, μέσω ενεργοποίησης αυτοανόσων φαινομένων λόγω διασταυρούμενης αντίδρασης, παραμένει υπό έρευνα.

Ο εμβολιασμός θεωρείται επιτυχής, όταν ανιχνεύεται τίτλος αντί-HBs >10 IU/L. Το 95% περίπου των εμβολιασθέντων αναπτύσσουν τέτοιο προστατευτικό τίτλο.²⁹⁶ Οι νέοι χωρίς ανοσολογικές διαταραχές επιτυγχάνουν τα μεγαλύτερα ποσοστά ορομετατροπής μετά εμβολιασμό σε αντίθεση με άτομα ηλικίας άνω των 40 ετών.³¹⁹ Το ίδιο παρατηρείται και στα μεγαλύτερα παιδιά σε σχέση με τα νεογνά και τα πρόωρα.³²⁰ Μειωμένη ανοσολογική απάντηση έχει αναφερθεί στους καπνιστές, στους παχύσαρκους και στα άτομα με καρδιακά ή αναπνευστικά νοσήματα.³²⁰ Όπως είναι φυσικό ασθενείς με βαριά ανοσοανεπάρκεια (αιμοκαθαιρόμενοι, λήπτες οργάνων, HIV θετικοί με μειωμένα CD4+ λεμφοκύτταρα) είναι δυνατό να μην παράγουν αντί-HBs ακόμα και μετά από δεύτερο έντονο κύκλο εμβολιασμού. Για το λόγο αυτό οι ασθενείς πρέπει να εμβολιάζονται, εάν είναι δυνατό, πριν την έκδηλη εμφάνιση της ανοσοκαταστολής (π.χ. οι ασθενείς με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια πριν την ένταξή τους σε περιοδικό πρόγραμμα αιμοκάθαρσης). Επιπλέον, έχουν αναφερθεί περιπτώσεις στις οποίες ο αναποτελεσματικός εμβολιασμός οφείλεται στην έλλειψη ενός κυρίαρχου

γονιδίου «ανοσολογικής απάντησης», κατάσταση που είναι εξαρτώμενη από τα HLA.³²¹

Η διάρκεια της προστασίας που προσφέρει το εμβόλιο δεν είναι επακριβώς καθορισμένη, αλλά θεωρείται ότι είναι μακροχρόνια και ανεξάρτητη από τον τίτλο των αντί-HBs. Άλλωστε, 10 έτη μετά τον εμβολιασμό στο 40% των εμβολιασθέντων, ο τίτλος των αντί-HBs είναι μη ανιχνεύσιμος. Παρόλα αυτά η προστασία απέναντι στη λοίμωξη διατηρείται πολλά έτη μετά την εξαφάνιση των αντί-HBs, γιατί η ανοσολογική μνήμη παραμένει ανέπαφη και έτσι, μετά από ενδεχόμενη έκθεση στον ιό παρατηρείται ραγδαία ανοσολογική ανταπόκριση.³²²⁻³²⁴ Η προστασία πιθανόν να διαρκεί για ολόκληρη τη ζωή των εμβολιασθέντων και ως εκ τούτου η αναγκαιότητα αναμνηστικών δόσεων παραμένει αμφίβολη.³²⁵ Ακόμα και μετά την ενεργητική ανοσοποίηση νεογνών, η προστασία έναντι του HBV έχει διαρκέσει για τουλάχιστον μία δεκαετία.³²⁶ Αναμνηστικές δόσεις συνιστώνται σε ανοσοκατασταλμένα άτομα, όταν ο τίτλος των αντί-HBs ανευρίσκεται κάτω από 10 IU/L κατά τον ετήσιο έλεγχο στον οποίο πρέπει να υπόκεινται.³²⁷ Επιπλέον, η ΠΟΥ προτείνει μία ή δύο αναμνηστικές δόσεις, όταν αρνητικοποιηθεί το αντί-HBs ή 5-10 έτη μετά το αρχικό σχήμα, αν και σήμερα δε θεωρούνται από την ίδια αρχή (Π.Ο.Υ.) απαραίτητες, ιδιαίτερα αν στο αρχικό σχήμα εμβολιασμού η απάντηση ήταν μεγαλύτερη των 100 IU/L (Πίνακας 15).¹²⁰

Πίνακας 15. Χορήγηση αναμνηστικής δόσης εμβολίου ανάλογα με το επίπεδο αντί-HBs.

Επίπεδα αντί-HBs	Ανταπόκριση	Αναμνηστική δόση
Αντί-HBs αρνητικό	Καμία	Άμεση ή επανέναρξη ταχέος σχήματος (0,1,2)
< 10 IU/L	Ανεπαρκής	Άμεση ή επανέναρξη ταχέος σχήματος (0,1,2)
10-100 IU/L	Χαμηλή	Μετά 1-2 χρόνια
>100 IU/L	Επαρκής	Μετά 5-10 χρόνια (δε θεωρείται απαραίτητη)

Ο έλεγχος μετά τον εμβολιασμό περιλαμβάνει την ανεύρεση του τίτλου αντί-HBs, αλλά η διαδικασία αυτή δε θεωρείται απολύτως αναγκαία. Συνιστάται μόνο σε άτομα αιμοκαθαιρόμενα, HIV θετικά, HCV θετικά, νεογνά μητέρων φορέων HBsAg και στο ιατρονοσηλευτικό προσωπικό, όταν μολύνεται από HBsAg θετικό ασθενή. Ο έλεγχος γίνεται σε 1-6 μήνες από την ολοκλήρωση των δόσεων, ενώ στα νεογνά 5-9 μήνες μετά τον εμβολιασμό. Περίπου το 50% αυτών με χαμηλή ή ανεπαρκή ανταπόκριση επιτυγχάνουν τελικά επίπεδα αντί-HBs >10IU/L μετά από δύο ή τρεις επιπλέον δόσεις.^{328,329} Ειδικά για τους ασθενείς με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια, φαίνεται ότι απαιτείται μεγαλύτερος αριθμός δόσεων και/ή μεγαλύτερες, (διπλάσιες από τις συνήθεις δόσεις) για την επίτευξη υψηλού ποσοστού (92%) ορομετατροπής.³³⁰ Στους τελευταίους, όπως έχει ήδη αναφερθεί, συνιστάται η έναρξη του εμβολιασμού κατά τα πρώιμα στάδια της νεφρικής ανεπάρκειας, όπου και η ανοσολογική απάντηση είναι ακόμα επαρκής.³³¹ Εντούτοις, και στην πρώιμη νεφρική νόσο έχει αναφερθεί μειωμένη αντισωματική ανταπόκριση ακόμα και σε ασθενείς με κρεατινίνη ορού μεταξύ 2-3 mg/dl.³³² Ενθαρρυντικό είναι το πρόσφατο εύρημα σύμφωνα με το οποίο καλύτερη ανταπόκριση είχαν νεφροπαθείς που βρίσκονταν σε αγωγή με ερυθροποιητίνη.³³³ Τα τρίτης γενιάς εμβόλια, που έχουν μεγαλύτερη ανοσο-

γονικότητα,^{301.334} όπως αναφέρθηκε παραπάνω, παρουσιάζονται ως λύση σε τέτοιου είδους προβλήματα, ενώ πειραματικά έχουν χρησιμοποιηθεί βοηθητικοί παράγοντες του εμβολίου, που περιέχουν διεγέρτες του ανοσολογικού συστήματος.³³⁵

Η αποτυχία της ανοσοπροφύλαξης με το εμβόλιο και/ή με τη χορήγηση HBIG μπορεί να οφείλεται σε μεταλλαγή του γονιδίου S. Τέτοιες μεταλλαγές οδηγούν σε λοίμωξη ατόμων επιτυχώς εμβολιασμένων και σε ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα για το HBsAg κατά τον έλεγχο του αίματος στις μονάδες Αιμοδοσίας (βλέπε και κεφ 1, μεταλλαγές).³³⁶ Οι μεταλλαγές στον αντιγονικό καθοριστή «α» τον καθιστούν αόρατο από τα κυκλοφορούντα αντί-HBs και τα συνήθη μονοκλωνικά αντισώματα. Αξίζει να σημειωθεί ότι στην Ταϊβάν το ποσοστό αυτών των μεταλλαγών αυξήθηκε σταδιακά από 7,8% σε 28,1% σε διάστημα 10 ετών από την έναρξη του εθνικού προγράμματος μαζικού εμβολιασμού κατά του HBV.^{116.337} Αυτό συμβαίνει, γιατί ο μεταλλαγμένος ιός υπερτερεί κατά τη διαδικασία της φυσικής επιλογής, καθώς μπορεί να παρακάμψει τον εμβολιασμό και έτσι κυριαρχεί. Πολλοί θεωρούν απαραίτητη την προσθήκη και του μεταλλαγμένου γονιδιώματος στα νέας γενιάς εμβόλια, τουλάχιστον όταν η συχνότητα αυτών των μεταλλαγών, που τώρα είναι σπάνιες, αυξηθεί.³³⁷ Επιπρόσθετα, σε πειραματόζωα βρέθηκε ότι η ενεργητική ανοσοποίηση που επιτυγχάνεται με τα υπάρχοντα εμβόλια είναι εξίσου ικανοποιητική και έναντι των μεταλλαγμένων στελεχών. Γι' αυτό ουδεμία προσπάθεια γίνεται για να συμπεριληφθούν οι αντίστοιχοι γονότυποι στο εμβόλιο.^{295.338} Επειδή όμως οι ευτυχώς ακόμα σπάνιοι φορείς αυτών των στελεχών διαφεύγουν των ελέγχων στις Αιμοδοσίες, συνιστάται η χρήση πολυκλωνικών αντισωμάτων κατά την παραγωγή των σχετικών αντιδραστηρίων.

5.4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΩΝ ΜΑΖΙΚΟΥ ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΟΥ ΚΑΤΑ ΤΟΥ HBV

Μολονότι η ΠΟΥ συνέστησε την εισαγωγή του εμβολίου της ηπατίτιδας Β στο πρόγραμμα των παιδικών εμβολιασμών παγκοσμίως από το 1997, μόνο 130 από τις 216 χώρες ακολούθησαν αυτή την οδηγία έως το 2001. Μείζον πρόβλημα εξακολουθεί να θεωρείται το υψηλό κόστος ενός τέτοιου προγράμματος μαζικού εμβολιασμού, ειδικά για τις υπό ανάπτυξη χώρες.³³⁸ Επιπλέον, η εφαρμογή ενός τέτοιου προγράμματος δεν αποτελεί προτεραιότητα σε χώρες με ανύπαρκτη υποδομή των υπηρεσιών υγείας και με περιορισμένη έκταση εμβολιασμών για τα κυριότερα νοσήματα της παιδικής ηλικίας. Εμβόλια μίας ή δύο δόσεων και συνδυασμός με τα ήδη κυκλοφορούντα για την πρόληψη άλλων νοσημάτων θα συμβάλλουν στη συμμόρφωση περισσότερων χωρών με τις οδηγίες της ΠΟΥ.

Σε περιοχές όπου προγράμματα μαζικού εμβολιασμού υλοποιούνται, αναφέρονται δραματικές αλλαγές στην επιδημιολογία της λοίμωξης από τον HBV. Ενδεικτικά, στην Ταϊβάν, ο επιπολασμός των μολυσμένων νεογέννητων έχει μειωθεί από το 85-95% στο 12-14%, ενώ ο αντίστοιχος για παιδιά κάτω των έξι ετών περιορίστηκε στο 1,7% από 10,5%.¹¹⁶ Παρόμοια θεαματικά αποτελέσματα ανακοινώνονται και από άλλες χώρες (Κίνα, Ιταλία, Σαουδική Αραβία, Ταϋλάνδη).³³⁹⁻³⁴¹

Δεν πρέπει επίσης να λησμονούμε ότι ο εμβολιασμός κατά της ηπατίτιδας Β δεν προστατεύει μόνο από τη λοίμωξη αυτή καθ'αυτή αλλά και από τον ΗΚΚ, τις ευτυχώς λίγες περιπτώσεις κεραυνοβόλου ηπατίτιδας, καθώς και από την ανάπτυξη ηπατίτιδας D. Η μέση ετήσια επίπτωση του ΗΚΚ σε παιδιά 6-14 ετών στην Ταϊβάν, μειώθηκε κατά το ήμισυ (0,36/100.000 παιδιά) στη διάρκεια 15 χρόνων εφαρμογής του μαζικού προγράμματος

πρόληψης κατά της ηπατίτιδας Β.¹¹⁶ Ανάλογη πτώση αναμένεται να παρατηρηθεί στα επόμενα έτη και στους νέους ενήλικες.¹¹⁶ Στη Σιγκαπούρη, η ετήσια επίπτωση του πρώιμου ΗΚΚ στους άνδρες μειώθηκε στις 19 νέες περιπτώσεις ανά 100.000 άνδρες (από 27,8/100.000) μέσα σε 5 έτη.³⁴² Με δεδομένο ότι περίπου το 70% των περιπτώσεων ΗΚΚ στις αναπτυσσόμενες χώρες αποδίδεται στον HBV, υπολογίζεται ότι κάθε χρόνο θα καταγράφονται 500.000 λιγότερα νέα κρούσματα ΗΚΚ μετά την εφαρμογή προγραμμάτων μαζικού εμβολιασμού.³⁴³

Στις μέρες μας, οι πρωταρχικοί στόχοι για την προφύλαξη από την ηπατίτιδα Β πρέπει να περιλαμβάνουν: α) την πρόληψη της κάθετης μετάδοσης, β) τον εμβολιασμό επιλεγμένων ηλικιακών ομάδων και γ) την πρόληψη της ενδονοσοκομειακής μετάδοσης.³⁴⁴ Παρόλο που μία κοινή παγκόσμια στρατηγική είναι θεωρητικά εφικτή, φαίνεται ότι απαιτείται περισσότερος χρόνος, ώστε να ξεπεραστούν τα υπάρχοντα εμπόδια (Πίνακας 16).

Πίνακας 16. Κατακτήσεις και στόχοι της ιατρικής κοινότητας στην πορεία για την αντιμετώπιση της ηπατίτιδας Β.

Δεκαετία	Επιτεύγματα και προοπτικές
1960	Ανακάλυψη του «αυστραλιανού» αντιγόνου ή αντιγόνου επιφανείας του HBV
1970	Ορολογική διάγνωση
1980	Παρασκευή του εμβολίου Εισαγωγή της ιντερφερόνης στη θεραπεία της χρόνιας ηπατίτιδας Β Ποσοτικές μέθοδοι ανίχνευσης του HBV DNA
1990	Ανίχνευση του HBV DNA με PCR Εισαγωγή της λαμβουδίνης στη θεραπεία της χρόνιας ηπατίτιδας Β
2000	Νέες αντι-ικές θεραπευτικές μέθοδοι (νουκλεοσιδικά ανάλογα, θεραπευτικό εμβόλιο)
2010	Συνδυασμός θεραπευτικών μεθόδων για τη χρόνια ηπατίτιδα Β
2020	Ίαση από τη χρόνια ηπατίτιδα Β
2050	Παγκόσμια εξάλειψη του προβλήματος

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6

6.1. ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Η συμβολή της θεραπείας στην πορεία και έκβαση της οξείας ιογενούς ηπατίτιδας είναι ελάχιστη ως μηδενική. Συνιστάται κατάκλιση και ανάπαυση έως την αποδρομή του ικτέρου. Η παραδοσιακή υπολιπιδαιμική και ταυτόχρονα πλούσια σε υδατάνθρακες δίαιτα δεν έχει όφελος για τον ασθενή. Δε χρειάζεται προσθήκη βιταμινών, αμινοξέων ή λιποτροφικών παραγόντων. Η δίαιτα πρέπει να είναι ελεύθερη. Οι πρωτεΐνες πρέπει να μειώνονται μόνο στους βαριά ασθενείς, δηλαδή σε εκείνους που έχουν ενδείξεις ότι επίκειται ή βρίσκονται ήδη σε ηπατική εγκεφαλοπάθεια.^{120,163}

Η χορήγηση κορτικοστεροειδών δεν ωφελεί, αφού δεν μεταβάλλουν το βαθμό της ηπατικής νέκρωσης, δεν επιταχύνουν την επούλωση και δεν βοηθούν στην απόκτηση ανοσίας. Αντίθετα, μπορεί να αποβούν μοιραία για τον ασθενή. Νοσοκομειακή φροντίδα χρειάζονται μόνο οι ασθενείς με διαταραχές πήξης (παράταση χρόνου προθρομβίνης >3 sec σε σχέση με του μάρτυρα), υπολευκωματιναιμία (<3gr/dl) ή τέλος εκείνοι που παρουσιάζουν πολλαπλούς εμέτους ανεξάρτητα από τα επίπεδα των αμινοτρανσφερασών και της χολερυθρίνης. Μετά την ανάρρωση συνιστάται πλήρης αποχή από το οινόπνευμα (6-12 μήνες). Η δίαιτα είναι ελεύθερη. Κλινικοεργαστηριακή εκτίμηση θα πρέπει να γίνεται 3-4 εβδομάδες μετά την έξοδο από το νοσοκομείο ή την ανάρρωση στο σπίτι. Αν παραμένουν διαταραχές των ηπατικών ενζύμων (κυρίως των αμινοτρανσφερασών), τότε συνιστάται μηνιαία εκτίμηση μέχρι συμπλήρωσης εξαμήνου και σε επιμονή των παθολογικών τιμών παραπομπή σε ειδικό ηπατολογικό κέντρο.¹²⁰

Οι ασθενείς με διαγνωσμένη χρόνια HBV λοίμωξη [HBsAg (+), αντί-HBc (+), HBeAg (+) ή συνηθέστερα για την Ελλάδα αντί-HBe (+)] θα πρέπει να υπόκεινται σε τακτικό ιολογικό και βιοχημικό έλεγχο (Πίνακας 17). Αν οι αμινοτρανσφεράσες παραμείνουν αυξημένες για διάστημα 4-6

Πίνακας 17. Αλγόριθμος παρακολούθησης ασθενών με χρόνια ηπατίτιδα Β.

Αμέσως μετά τη διάγνωση:

IgG αντί-HAV και εμβολιασμός επί αρνητικού αποτελέσματος

Αντί-HDV, αντί-HCV

HBeAg, αντί-HBe

Παρακολούθηση ανά μήνα ALT, AST για 4-6 μήνες

Αν είναι $\wedge >$ παραπομπή σε ειδικό ηπατολογικό κέντρο και U/S άνω κοιλίας > βιοψία ήπατος

Έλεγχος της οικογένειας

Στη συνέχεια:

AST, ALT, PT, γ-GT, ALP, ολικά λευκώματα, αλβουμίνη ανά 6 μήνες

U/S ήπατος και α-FP/6μηνο

Κλινική εξέταση/Ορολογικοί δείκτες/αντί-HDV ανά έτος

Αν α-FP >400ng/ml, U/S (-) > παραπομπή σε ειδικό ηπατολογικό κέντρο

Αν α-FP κφ, U/S (+) > βιοψία υπό CT

Αν U/S (-), α-FP αυξανόμενη > ανά μήνα παρακολούθηση με το ενδεχόμενο παραπομπής σε ειδικό ηπατολογικό κέντρο

μηνών, θα πρέπει, αφού προηγουμένως γίνει υπερηχοτομογραφικός έλεγχος του ήπατος, να παραπέμπονται σε ειδικά ηπατολογικά κέντρα, για να ακολουθήσει προσδιορισμός του HBV DNA με σύγχρονες μοριακές τεχνικές, καθώς και βιοψία ήπατος για τον προσδιορισμό του βαθμού δραστηριότητας και του βαθμού ίνωσης της νόσου, πριν από την ενδεχόμενη έναρξη οποιασδήποτε θεραπείας. Οι ασθενείς αυτοί θα πρέπει να εμβολιάζονται κατά του ιού της ηπατίτιδας Α, αφού πρώτα ελεγχθούν για την παρουσία ή όχι IgG αντισωμάτων κατά του HAV (IgG αντί-HAV), καθώς

σε περίπτωση μόλυνσης από αυτόν, ενδεχομένως να εκδηλώσουν βαριά ηπατίτιδα Α, που χαρακτηρίζεται από αυξημένη νοσηρότητα και θνητότητα. Επιπλέον, θα πρέπει να ελέγχονται περιοδικά για την παρουσία επιλοίμωξης από τον ιό της ηπατίτιδας D (αντί-HDV αντισώματα).³⁴⁵

Βασικοί στόχοι κάθε θεραπευτικής παρέμβασης στη χρόνια ηπατίτιδα Β είναι η αναστολή του πολλαπλασιασμού του ιού και η ιστολογική ύφεση της νόσου. Απώτεροι στόχοι είναι η εξαφάνιση του HBV, η επιβράδυνση ή και αναστολή της εξέλιξης σε κίρρωση και/ή ΗΚΚ και η αύξηση της επιβίωσης (Πίνακας 18).¹⁴¹ Ο βαθμός της ανταπόκρισης ελέγχεται σε βιοχημικό

Πίνακας 18. Στόχοι των θεραπευτικών προσεγγίσεων στη χρόνια ηπατίτιδα Β.

Καταστολή της αντιγραφής του ιού
Αρνητικοποίηση του HBV DNA
Ορομετατροπή του HBeAg σε αντί-HBe
Ορομετατροπή του HBsAg σε αντί-HBs
Υφεση της ηπατικής νόσου
Επαναφορά των τιμών της ALT στο φυσιολογικό
Ελάττωση νεκροφλεγμονώδους δραστηριότητας (ιστολογικά)
Βελτίωση κλινικής εικόνας
Μείωση του σχετικού κινδύνου ανάπτυξης κίρρωσης ή ΗΚΚ
Αύξηση της επιβίωσης

(φυσιολογικές αμινοτρανσφεράσες), ιολογικό [HBeAg (-), HBV DNA (-)] και ιστολογικό επίπεδο (βελτίωση ή σταθερότητα της ιστολογικής εικόνας). Η επιτυχία εκφράζεται με την παρατεταμένη ανταπόκριση (παραμονή των παραπάνω αποτελεσμάτων τουλάχιστον 6 μήνες μετά το τέλος της θεραπείας).¹⁴¹ Η κάθαρση του HBsAg, αν και αποτελεί το άριστο αποτέλεσμα, εντούτοις δε φαίνεται να είναι σημαντικός δείκτης ιολογικής ανταπόκρισης, καθώς δεν παρατηρείται πολύ συχνά και συνήθως συντελείται σε άλλοτε άλλο διάστημα μετά το τέλος της θεραπείας. Τέλος, τα άτομα που είναι

HBsAg (+) και HBeAg (-) με φυσιολογικά ηπατικά ένζυμα και επίπεδα HBV DNA $< 10^5$ αντίγραφα/ml θεωρούνται ως ανενεργοί φορείς του HBsAg (chronic inactive carrier state) και δεν έχουν ένδειξη για θεραπεία.³⁴⁶

Πολλοί θεραπευτικοί παράγοντες έχουν δοκιμαστεί για την αντιμετώπιση της χρόνιας ηπατίτιδας Β. Εντούτοις, οι περισσότεροι από αυτούς έχουν αποδειχθεί αναποτελεσματικοί ή απαγορευτικά τοξικοί για τους ασθενείς.¹⁶³

6.2. ΙΝΤΕΡΦΕΡΟΝΗ ΑΛΦΑ (IFN-α)

Η IFN-α είναι η μόνη ουσία που έχει αποδειχθεί ότι είναι αποτελεσματική κατά της λοίμωξης από τον HBV.¹⁴¹ Οι IFNs (α,β,γ,δ,ω,τ) είναι φυσικές ουσίες, οι οποίες βρίσκονται στην πρώτη γραμμή άμυνας κατά των ιογενών λοιμώξεων και διαθέτουν αντι-ικική, αντιφλεγμονώδη, ανοσοτροποποιητική και αντινεοπλασματική δράση.³⁴⁷ Η IFN-α έχει εγκριθεί για τη θεραπεία της χρόνιας ηπατίτιδας Β από το 1992. Η αντι-ικική της δράση οφείλεται στην επαγωγή των κυτταρικών ενζύμων, όπως η 2'5'αδενυλική συνθετάση και μια πρωτεϊνική κινάση (IFN-induced protein kinase, PKR), οι οποίες παρεμβαίνουν στη σύνθεση των ιικών πρωτεϊνών.^{141,348} Παράλληλα, η IFN-α αυξάνει την κυτταρική ανοσολογική απάντηση μέσω: επαγωγής της έκφρασης των τάξης I HLA στα κύτταρα, αύξησης της έκφρασης των Fc υποδοχέων για τις IgG ανοσοσφαιρίνες, ενεργοποίησης των φυσικών φονικών λεμφοκυττάρων και διαφοροποίησης των κυτταροτοξικών Τ λεμφοκυττάρων.³⁴⁸ Επίσης, ίσως να δρα στο μεταβολισμό του κολλαγόνου αναστέλλοντας τους διάφορους αυξητικούς παράγοντες (π.χ. TGF-β), που συμμετέχουν στην ανάπτυξη ίνωσης.

Τέσσερις μορφές IFN έχουν δοκιμαστεί στη θεραπεία της χρόνιας ιογενούς ηπατίτιδας. Οι IFN-α2α και IFN-α2β παράγονται με τεχνικές ανασυνδυασμένου DNA και διαφέρουν μόνο σε ένα αμινοξύ. Η IFN-n1 (λεμφοβλαστοειδής) είναι ένα μίγμα 9 υποτύπων IFN που παράγεται από μια ανθρώπινη B λεμφοβλαστοειδή σειρά. Η συναινετική IFN είναι ιντερφερόνη που περιέχει τα πιο συχνά απαντώμενα αμινοξέα σε κάθε θέση, από τους διαφόρους τύπους IFN. Η αποτελεσματικότητά τους είναι παρόμοια, όταν χορηγούνται σε βιολογικά ισοδύναμες δόσεις, με διαφορετική όμως συχνότητα εμφάνισης εξουδετερωτικών αντισωμάτων έναντι των ιντερφερονών.¹⁴¹ Τελευταία, δοκιμάζονται σε κλινικές μελέτες οι πεγκυλιωμένες μορφές IFN-α, που προέκυψαν από την προσθήκη ενός μορίου πολυαιθυλενογλυκόλης (PEG) στην κλασσική IFN-α.³⁴⁹ Αυτή η προσθήκη προστατεύει την IFN από ταχεία απορρόφηση, μεταβολισμό και απέκκριση, πιθανόν να αυξάνει την έκταση και τη διάρκεια δράσης της, μειώνει την αντιγονικότητα της και βελτιώνει τη συμμόρφωση του ασθενούς, καθώς χορηγείται μία φορά την εβδομάδα, ενώ έχει παρόμοια ασφάλεια και ανοχή με την απλή IFN.³⁴⁹

Τα θεραπευτικά αποτελέσματα της IFN στη χρόνια ηπατίτιδα Β έχουν περιγραφεί με σαφήνεια στη βιβλιογραφία.^{163,244,350,351} Στη μελέτη των Perillo και συν., το 37% των ασθενών που έλαβαν 5 MU IFN-α ανά ημέρα για 16 εβδομάδες αρνητικοποίησε τόσο το HBV DNA, όσο και το HBeAg, αντίθετα με το 7% της ομάδας ελέγχου.³⁵² Σε μια πολυκεντρική μελέτη που προέρχεται από την Ευρώπη, η παράταση της θεραπείας μέχρι 32 εβδομάδες είχε επιπρόσθετο αποτέλεσμα σε εκείνους που δεν είχαν ανταποκριθεί στην αρχική θεραπεία των 16 εβδομάδων. Το θεραπευτικό πλεονέκτημα των 32 εβδομάδων ήταν ιδιαίτερα ορατό στους ασθενείς με χαμηλό ιικό πολλαπλασιασμό μετά από θεραπεία 16 εβδομάδων.³⁵³ Σε μεταανάλυση 15

μελετών, η χορήγηση IFN-α σε δόσεις 5-10 MU καθημερινά ή τρεις εβδομαδιαίως για 4-6 μήνες ήταν αποτελεσματικότερη συγκρινόμενη με εικονικό φάρμακο ή μη θεραπεία ως προς την πιθανότητα απώλειας του HBeAg (33% έναντι 12%), του HBsAg (7,8% έναντι 1,8%) και κάθαρσης του HBV DNA (μέθοδος υβριδισμού υγρής φάσης, 37% έναντι 17%),³⁵⁴ ενώ σε μία άλλη μελέτη το ποσοστό κάθαρσης του HBsAg μετά από 5 έτη παρακολούθησης, μεταξύ των ασθενών που ανταποκρίθηκαν στη θεραπεία, ανήλθε στο 35%.³⁵⁰

Στη χώρα μας, όπου επικρατεί το μεταλλαγμένο στέλεχος (χρόνια αντί-HBe θετική ηπατίτιδα B), τα ποσοστά ύφεσης μετά από θεραπεία με IFN-α είναι χαμηλότερα (20-25%), ενώ μετά το τέλος της θεραπείας είναι συχνές οι υποτροπές.³⁵⁵ Η αναδρομική ανάλυση δεδομένων από την εξέταση 216 Ελλήνων ασθενών με HBeAg (-) χρόνια ηπατίτιδα B έδειξε ότι το 18,1% αυτών παρουσίασε μακροχρόνια ιολογική ύφεση (HBV DNA αρνητικό) μετά 5-12 μήνες θεραπείας με IFN-α.³⁵⁶ Οι ασθενείς που εμφάνισαν μακροχρόνια ιολογική ύφεση, παρουσίαζαν σημαντική ύφεση και στο ιστολογικό στάδιο της νόσου, ενώ το 32% αυτών εμφάνισε κάθαρση του HBsAg. Επαναχορήγηση IFN-α φάνηκε να έχει ανάλογα ποσοστά μακροχρόνιας ανταπόκρισης.³⁵⁶

Προγνωστικοί παράγοντες της καλής απάντησης στη θεραπεία με IFN-α φαίνεται να αποτελούν:^{357,358}

- Η χαμηλή τιμή HBV DNA πριν από την έναρξη της θεραπείας
- Το φύλο (γυναίκες)
- Η ετεροφυλόφιλη σεξουαλική συμπεριφορά
- Οι υψηλές τιμές ALT πριν από την έναρξη της θεραπείας (ALT >100 U/L), καθώς αντιπροσωπεύουν καλύτερη ανοσολογική απάντηση του ξενιστή

- Η μικρή διάρκεια λοίμωξης (<4 έτη)
- Η απουσία HIV ή HDV λοίμωξης
- Η μόλυνση από τον ιό σε ηλικία μεγαλύτερη των έξι ετών
- Η λοίμωξη από το φυσικό άγριο στέλεχος του HBV

Οι παραπάνω παράγοντες δεν αποτελούν εγγύηση για την επιτυχή θεραπεία με IFN-α, αλλά σηματοδοτούν μεγαλύτερη πιθανότητα επιτυχούς ανταπόκρισης και βοηθούν στην σωστότερη επιλογή των υποψηφίων για θεραπεία ασθενών.

Πίνακας 19. Αντενδείξεις χορήγησης IFN-α.

Ηπατική ανεπάρκεια ή ρήξη της αντιρρόπησης σε κίρρωση Αλβουμίνη <3gr/dL Χολερυθρίνη >3mg/dL Παράταση του χρόνου προθρομβίνης >3sec σε σχέση με το μάρτυρα Πυλαία υπέρταση Κιρσορραγία Ασκίτης Εγκεφαλοπάθεια Υπερσπληνισμός Λευκοπενία ($<2 \times 10^{10}/L$) Θρομβοκυτταροπενία ($<7 \times 10^{10}/L$) Βαριά κατάθλιψη, ιστορικό απόπειρας αυτοκτονίας Αυτοάνοσα νοσήματα Ρευματοειδής αρθρίτιδα Οξώδης πολυαρθρίτιδα Αυτοάνοση θυρεοειδίτιδα Βαριά συστηματικά νοσήματα Αποφρακτική πνευμονοπάθεια Καρδιακή ανεπάρκεια Αρρυθμιστος σακχαρώδης διαβήτης Εγκυμοσύνη

Ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα Β με αυξημένες αμινοτρανσφεράσες για πάνω από έξι μήνες, με ορολογικούς δείκτες ενεργού νόσου (παρουσία HBsAg, HBeAg και υψηλές συγκεντρώσεις HBV DNA) και χρόνια ενεργό

ηπατίτιδα σε βιοψία ήπατος είναι υποψήφιοι για θεραπεία με IFN-α, εκτός αν υπάρχει αντένδειξη (Πίνακας 19).³⁵⁹ Αυτές περιλαμβάνουν την παρουσία εμφανούς ηπατοκυτταρικής ανεπάρκειας (αλβουμίνη <3gr/dL, χολερυθρίνη >3mgr/dL, χρόνος προθρομβίνης >3sec σε σχέση με το μάρτυρα), την παρουσία επιπλοκών της πυλαίας υπέρτασης (ασκίτης, σπληνομεγαλία), τη λευκοπενία (<2x10¹⁰/L), τη θρομβοκυτταροπενία (<7x10¹⁰/L) και τη νεφρική δυσλειτουργία (κρεατινίνη >2mg/dL). Επιπρόσθετες αντενδείξεις αποτελούν η εγκυμοσύνη, η συνύπαρξη άλλης νόσου αυτοανόσου αιτιολογίας, το ιστορικό κατάθλιψης ή απόπειρας αυτοκτονίας. Η χορήγηση IFN-α επί κίρρωτικού εδάφους είναι ασφαλής και πιθανώς αποτελεσματική μόνο σε καλώς αντιρροπούμενη νόσο (Child A). Σε αντίθετη περίπτωση εμφανίζονται υψηλά ποσοστά παρενεργειών και φτωχή ανταπόκριση.^{360,361}

Η συνήθης συνιστώμενη δόση της IFN-α στη χρόνια HBeAg(+) ηπατίτιδα B είναι 5.000.000 IU ημερησίως ή 10.000.000 IU σε τρισεβδομαδιαία υποδόρια χορήγηση για 16-24 εβδομάδες, ενώ στη χρόνια αντί-HBe(+) ηπατίτιδα B η συνήθης δόση είναι 5.000.000 IU τρεις φορές εβδομαδιαίως για διάστημα 12 μηνών ή και περισσότερο.¹⁶³ Κατά τη διάρκεια της θεραπείας οι ασθενείς πρέπει να υπόκεινται σε στενό και αυστηρό αιματολογικό και βιοχημικό έλεγχο στις 2, 4, 8, 12, 16, 24 και 48 εβδομάδες, ενώ ο ορολογικός έλεγχος καθώς και ο ποσοτικός προσδιορισμός του HBV DNA πρέπει να γίνεται τουλάχιστον στο τέλος και έξι μήνες μετά την αγωγή. Η μέτρηση της TSH προ της έναρξης της θεραπείας, αλλά και ως έξι μήνες από τη διακοπή της, κρίνεται επίσης απαραίτητη.¹⁶³ Κατά τη φάση της ορομετατροπής του HBeAg και της αρνητικοποίησης του HBV DNA (8-12 εβδομάδες μετά την έναρξη της αγωγής), παρατηρείται μεγάλη αύξηση των αμινοτρανσφερασών, συχνά ασυμπτωματική, η οποία οφείλεται κυρίως σε ανοσολογική απάντηση κατά των μολυσμένων ηπατοκυττάρων, κάτι που

απαιτεί ιδιαίτερη προσοχή και αντιμετώπιση, γιατί αναλόγως της βαρύτητας της υποκείμενης ηπατικής νόσου, είναι δυνατόν να οδηγήσει μέχρι και σε οξεία ηπατοκυτταρική ανεπάρκεια και ενδεχομένως σε διακοπή της θεραπείας.³⁵⁰ Η έξαρση αυτή ακολουθείται διαδοχικά από την αρνητικοποίηση του HBV DNA και του HBeAg, την εμφάνιση του αντί-HBe και την ομαλοποίηση των επιπέδων της ALT³¹⁹ και εμφανίζεται στο 60-70% όσων ανταποκρίνονται στη θεραπεία, αλλά και στο 25-30% αυτών που δεν ανταποκρίνονται.³⁶² Τέλος, η χορήγηση κορτικοστεροειδών πριν από την έναρξη της αγωγής, ως προσπάθεια ευαισθητοποίησης του ανοσολογικού συστήματος μέσω φαρμακευτικής διέγερσης του φαινομένου της *ανοσολογικής αναπήδησης*, απέτυχε να αναδείξει σημαντικά οφέλη, και εγκαταλείφθηκε λόγω του αυξημένου ποσοστού εμφάνισης οξείας ηπατοκυτταρικής ανεπάρκειας.³⁶³

Οι παρενέργειες είναι συχνές κατά τη χορήγηση IFN-α (Πίνακας 20) και πιο σημαντικές από αυτές είναι:^{359,364-366} συστηματικές (κόπωση, πυρετός, ρίγος, κεφαλαλγίες, μυαλγίες, αρθραλγίες, ανορεξία, απώλεια βάρους, ναυτία, έμετοι, διάρροια, τριχόπτωση), νευρολογικές (διαταραχές ύπνου, παραισθησίες, απώλεια όρασης και ακοής, εμβοές), ψυχολογικές (ευερεθιστότητα, μελαγχολία, αϋπνία, ψύχωση), αιματολογικές (πτώση αιματοκρίτη, λευκών αιμοσφαιρίων και αιμοπεταλίων), λοιμώδεις (βρογχίτιδα, κολπίτιδα, ουρολοιμώξεις, δοθιήνες) και άλλες όπως καρδιακή ανεπάρκεια, νεφρωσικό σύνδρομο, απόρριψη μοσχεύματος. Περίπου 3% των ασθενών εμφανίζουν μη αναστρέψιμο υποθυρεοειδισμό και άλλο 50% αναπτύσσει αυτοαντισώματα μετά από 16 εβδομάδες θεραπείας ή και περισσότερο (SMA, ANA, αντι-θυρεοειδικά). Αυτοάνοσες διαταραχές όπως θρομβοκυταροπενική πορφύρα, αιμολυτική αναιμία, αγγειίτιδα ή σακχαρώδης διαβή-

της τύπου I είναι πιθανόν να εμφανιστούν, και συνήθως υποχωρούν μετά τη διακοπή της θεραπείας εκτός από τον υποθυρεοειδισμό.

Πίνακας 20. Ανεπιθύμητες ενέργειες κατά τη θεραπεία με IFN.

Συστηματικές
Γριππώδης συνδρομή, ναυτία, έμετοι, διάρροια
Αιματολογικές
Πτώση αιματοκρίτη, λευκοπενία, θρομβοκυτταροπενία
Αλωπεκία
Απώλεια βάρους
Νευροψυχιατρικές
Κατάθλιψη, διαταραχές ύπνου, ευερεθιστότητα, απώλεια όρασης, παραισθησίες, εμβοές, απώλεια ακοής
Αυτοάνοσες
Υποθυρεοειδισμός, σακχαρώδης διαβήτης τύπου I, θρομβοπενική πορφύρα, αιμολυτική αναιμία, ανίχνευση ANA, SMA, αντί-θυρεοειδικών αντισωμάτων

6.3. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ ΜΕ IFN-α ΣΤΗ ΦΥΣΙΚΗ ΠΟΡΕΙΑ ΤΗΣ ΗΒεAg (+) ΚΑΙ ΗΒεAg (-) /ΑΝΤΙ-ΗΒε (+) ΧΡΟΝΙΑΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ Β

Η επίδραση της θεραπείας με IFN-α στην πρόληψη της κίρρωσης και των επιπλοκών της είναι δύσκολο να εκτιμηθεί λόγω της μακράς φυσικής πορείας της νόσου. Λίγες είναι οι μελέτες εκείνες που συγκρίνουν τη μακροχρόνια έκβαση της νόσου μεταξύ ατόμων που έχουν λάβει IFN-α και αυτών που δεν έχουν θεραπευθεί ποτέ.

Στη μελέτη των Lin και συν. 67³⁶⁷ ασθενείς που έλαβαν IFN-α και 34 της ομάδας ελέγχου παρακολουθήθηκαν για μέσο διάστημα 7 ετών. Ένα έτος μετά τη θεραπεία, 42% των θεραπευθέντων και 8% της ομάδας ελέγχου παρουσίασαν ορομετατροπή του ΗΒεAg σε αντί-ΗΒε. Στο τέλος της παρα-

κολούθησης 56% των μη ανταποκριθέντων και 19% από αυτούς που δεν εμφάνισαν ορομετατροπή στην ομάδα ελέγχου, παρουσίασαν τελικά ορομετατροπή. Η θεραπεία με IFN-α στη μελέτη αυτή φαίνεται ότι επηρέασε ευνοϊκά την επιβίωση ($p=0,05$) και την ανάπτυξη ΗΚΚ ($p=0,011$).

Στη μελέτη των Niederau και συν.³⁵¹ 103 ασθενείς έλαβαν θεραπεία με IFN-α και 53 ασθενείς αποτελούσαν την ομάδα ελέγχου. Ο μέσος χρόνος παρακολούθησης ήταν 4,1 έτη. Το 56% των θεραπευθέντων αρνητικοποίησε το ΗBeAg και το HBV DNA στα 5 χρόνια, ενώ το αντίστοιχο ποσοστό για το HBsAg ήταν 11,6%. Από την ομάδα ελέγχου 28,1% παρουσίασε απώλεια του ΗBeAg και κανείς του HBsAg ($p<0,001$). Κατά τη διάρκεια της παρακολούθησης 16 από τους 103 θεραπευθέντες (15,53%) παρουσίασαν επιπλοκές σχετιζόμενες με την ηπατική νόσο. Και οι 16 αυτοί ασθενείς δεν είχαν ανταποκριθεί στη θεραπεία. Η πιθανότητα επιβίωσης ήταν μεγαλύτερη στους ανταποκριθέντες ($p=0,004$), όπως και η πιθανότητα επιβίωσης χωρίς επιπλοκές ($p=0,018$). Από τους 53 ασθενείς της ομάδας ελέγχου 13 παρουσίασαν επιπλοκές και κανένας από αυτούς δεν είχε αυτόματη ορομετατροπή. Η πιθανότητα επιβίωσης ήταν όμοια μεταξύ αυτών που είχαν ορομετατροπή και αυτών που παρέμειναν ΗBeAg θετικοί ($p=0,091$), όμως η πιθανότητα επιβίωσης χωρίς επιπλοκές ήταν μεγαλύτερη για αυτούς που είχαν ορομετατροπή ($p=0,006$).

Σε μια δεύτερη μελέτη από την Ευρώπη 33 ασθενείς που έλαβαν IFN-α και 31 της ομάδας ελέγχου παρακολουθήθηκαν για 2-12 έτη.²⁴⁵ Το 90% των πρώτων έναντι 61% της ομάδας ελέγχου αρνητικοποίησε το ΗBeAg, ενώ 12 θεραπευθέντες έναντι 3 της ομάδας ελέγχου παρουσίασαν ορομετατροπή σε αντί-HBs. Στην ομάδα των θεραπευθέντων εμφανίστηκαν 4 νέες περιπτώσεις κίρρωσης (12%) και 1 περίπτωση ΗΚΚ (3%), ενώ τα αντίστοιχα ποσοστά στην ομάδα ελέγχου ήταν 19% και 6%.

Επιπλέον, η επίδραση της IFN-α στη φυσική ιστορία της χρόνιας αντί-HBe (+) ηπατίτιδας B μελετήθηκε σε Έλληνες ασθενείς (209 που έλαβαν IFN-α και 195 ασθενείς της ομάδας ελέγχου).³⁶⁸ Κατά τη διάρκεια της παρακολούθησης, ΗΚΚ διαγνώσθηκε στο 8% και των δύο ομάδων, ενώ 9% αυτών στους οποίους χορηγήθηκε IFN-α πέθαναν από ηπατικά αίτια, έναντι 11% αυτών που δεν έλαβαν θεραπεία.

Σύμφωνα με τα παραπάνω, δεν υπάρχει καμία διαφορά στην επίπτωση της κίρρωσης ανάμεσα σε αυτούς που έλαβαν IFN-α και σε αυτούς που δεν τους χορηγήθηκε φαρμακευτική αγωγή. Οι μελέτες από την Ευρώπη, δείχνουν ότι δεν υπάρχει προστατευτική δράση της IFN-α στην ανάπτυξη ΗΚΚ, αλλά πιθανόν να αυξάνει την επιβίωση σε ασθενείς με χρόνια HBeAg θετική ή αρνητική ηπατίτιδα Β.^{245,351,368} Αντίθετα, στη μελέτη από την Ασία διαφαίνεται σημαντική δράση της IFN-α τόσο στην πρόληψη της εμφάνισης ΗΚΚ, όσο και στη μείωση των σχετιζόμενων με τη νόσο θανάτων.³⁶⁷

Παρόμοια αποτελέσματα εμφανίζονται και ως προς την επίδραση της IFN-α στη φυσική ιστορία της λοίμωξης από τον HBV σε κίρρωτικούς ασθενείς.³⁶⁹⁻³⁷² Φαίνεται ότι η IFN-α μειώνει σε ποσοστό 50% περίπου το σχετικό κίνδυνο εξέλιξης σε ΗΚΚ σε ασθενείς από την Ασία, ενώ στην Ευρώπη τα αποτελέσματα δεν είναι το ίδιο ενθαρρυντικά. Αυτό ίσως να εξηγείται από το γεγονός ότι οι ασθενείς από την Ευρώπη που δεν έλαβαν καθόλου θεραπεία, εμφανίζουν πολύ μικρότερα ποσοστά εμφάνισης ΗΚΚ σε σχέση με τους αντίστοιχους από την Ασία. Δεν είναι όμως ξεκάθαρο αν τα παραπάνω αποτελέσματα αντικατοπτρίζουν πραγματικό όφελος από τη δράση της IFN-α ή οφείλονται σε διαφορετικά χαρακτηριστικά των υπό μελέτη ασθενών, ειδικά αυτών της ομάδας ελέγχου (μεγαλύτερη ηλικία και προχωρημένη ιστολογικά νόσος κατά την έναρξη της παρακολούθησης).

6.4. ΝΟΥΚΛΕΟΣΙΤΙΔΙΚΑ ΑΝΑΛΟΓΑ

Τα νουκλεοσιδικά ανάλογα εμπίπτουν φαρμακολογικά σε δύο ευρείες κατηγορίες: α) νουκλεοσίδια/νουκλεοτίδια που έχουν τροποποιημένα χημικά μόρια σακχάρων είτε στην κυκλική είτε στην ακυκλική τους διαμόρφωση. Κύριοι εκπρόσωποι της κατηγορίας αυτής είναι τα παράγωγα των πουρινών, η αδεφοβίρη (adefovir dipivoxil) και η φαμσικλοβίρη/πενσικλοβίρη (famciclovir/penciclovir). Επιπλέον, ανήκουν η γανσικλοβίρη (ganciclovir), η λομπουκαβίρη (lobucavir) και η εντεκαβίρη (entecavir) και β) στερεοϊσομερή νουκλεοσιδίων στην μη απαντώμενη στη φύση L-διαμόρφωση. Κύριος εκπρόσωπος της κατηγορίας αυτής είναι τα παράγωγα των πυριμιδινών, όπως η λαμβουδίνη (lamivudine), η εμτρισιταμπίνη (emtricitabine) και η κλεβουντίνη (clevudine).

Τα νουκλεοσιδικά ανάλογα νέας γενιάς (φαμσικλοβίρη, λαμβουδίνη, αδεφοβίρη) έχουν ισχυρή ανασταλτική δράση στην αναπαραγωγή του HBV. Η HBV πολυμεράση, με τις πολλαπλές λειτουργίες της, αποτελεί ιδανικό στόχο των αντι-ιικών φαρμάκων. In vivo και in vitro μοντέλα έχουν δείξει ότι όλα τα νουκλεοσιδικά ανάλογα αναστέλλουν την HBV DNA πολυμεράση μέσω συζεύξεως στην ενεργό θέση της πολυμεράσης, ανταγωνιζόμενα τα διδεοξυνουκλεοτίδια.³⁷³ Ακριβέστερος μηχανισμός δράσης δεν είναι γνωστός και φαίνεται να ποικίλλει από παράγοντα σε παράγοντα. Όλα αυτά τα ανάλογα εκτός της αδεφοβίρης (η οποία είναι φωσφορυλιωμένη και άρα είναι νουκλεοτίδιο και όχι νουκλεοσίδιο) απαιτούν βασική 5'-φωσφορυλίωση σε τριφωσφορικό παράγωγο, για να γίνουν ενεργά. Ωστόσο, τα φάρμακα αυτά δεν καταστρέφουν τον ήδη ενδοκυττάριο ιό, που με τη μορφή του cccDNA παραμένει αμετάβλητος και μπορεί να οδηγήσει σε υποτροπή μετά τη διακοπή της θεραπείας.³⁷⁴

6.4.1. ΛΑΜΙΒΟΥΔΙΝΗ

Η λαμβουδίνη (2'3'dideoxycytidine, 3TC) είναι 5'τριφωσφορυλιωμένο 2'3'διδεοξυνουκλεοσιδικό ανάλογο της πυριμιδίνης κυτοσίνης. Έχει έντονη αντι-ικκή δράση έναντι του HBV, αφού αναστέλλει ανταγωνιστικά την πολυμεράση του ιού, ενώ εισέρχεται και ενσωματώνεται στην ιική αλυσίδα του DNA δημιουργώντας σημείο τερματισμού με αποτέλεσμα την αναστολή τόσο της DNA εξαρτώμενης όσο και της RNA εξαρτημένης σύνθεσής του.³⁷⁵ Μπορεί να ασκήσει έμμεσα και ανοσοτροποποιητική δράση, αφού μπορεί να αντικαταστήσει τη δραστική αντίδραση των Τ λεμφοκυττάρων ταυτόχρονα με τη μείωση των επιπέδων της HBV ιαιμίας.³⁷⁶

Τρεις μεγάλες τυχαιοποιημένες κλινικές μελέτες με συνολικά 731 ασθενείς από τις Η.Π.Α., την Ευρώπη και την Ασία έδειξαν ότι η θεραπεία με λαμβουδίνη για ένα έτος οδηγεί σε ορομετατροπή του HBeAg στο 16-18% των ασθενών σε σχέση με το 4-6% της ομάδας ελέγχου.³⁷⁷⁻³⁸¹ Μείωση της νεκροφλεγμονώδους δραστηριότητας, και άρα βελτίωση της ιστολογικής εικόνας, προέκυψε στο 49-56% των ασθενών που έλαβαν λαμβουδίνη και στο 23-25% της ομάδας ελέγχου. Σε μία μελέτη από την Ασία, φάνηκε ότι το ποσοστό της ορομετατροπής του HBeAg αυξάνεται με την παράταση της χορήγησης του φαρμάκου (17%, 27%, 40%, 47%, 50% για 1, 2, 3, 4, 5 έτη θεραπείας αντίστοιχα), ενώ δεν υπάρχει διαφορά στην ανταπόκριση ανάμεσα στη λευκή και τη μαύρη φυλή.³⁸²

Η εμπειρία από τη χορήγηση λαμβουδίνης στα παιδιά είναι περιορισμένη. Σε μία πρόσφατη, ευρεία, πολυκεντρική μελέτη,³⁸³ 286 παιδιά ηλικίας 2-17 ετών με αυξημένα επίπεδα ALT έλαβαν λαμβουδίνη (3mg/kg/ημέρα με ανώτερη δόση τα 100mg/ημέρα) ή θεραπεία με εικονικό φάρμακο για 52 εβδομάδες. Όπως και στους ενήλικες, σημαντικά μεγαλύτερο

ποσοστό (23%) από τα παιδιά που έλαβαν το φάρμακο, σε σχέση με την ομάδα ελέγχου (13%), παρουσίασαν ορομετατροπή του HBeAg.

Αντίθετα, η λαμβουδίνη δεν είναι αρκετά δραστική σε ασθενείς με φυσιολογικά επίπεδα αμινοτρανσφερασών (ALT). Σε αυτήν την περίπτωση το HBeAg αρνητικοποιείται σε λιγότερο από το 10% των ασθενών σε ένα χρόνο και μόνο στο 19% μετά από τρία έτη θεραπείας.^{384,385}

Ενθαρρυντικά όμως είναι τα αποτελέσματα στους ασθενείς με χρόνια HBeAg (-) ηπατίτιδα Β.^{386,387} Ιολογική και βιοχημική ανταπόκριση παρουσιάζεται στο 70-96% των ασθενών μετά από θεραπεία 48 εβδομάδων και σε λιγότερο από 10% στην ομάδα ελέγχου. Ιστολογική βελτίωση εμφανίζεται σε ποσοστό 20-95%.³⁸⁸ Δυστυχώς, η πλειοψηφία των ανταποκριθέντων υποτροπιάζει (90%) μετά τη διακοπή της θεραπείας.^{388,389} Αυξάνοντας τη διάρκεια της τελευταίας, τα ποσοστά της ανταπόκρισης ελαττώνονται λόγω της ανάπτυξης αντίστασης στο φάρμακο. Σε μία μελέτη αναφέρεται ότι μόνο το 69% των ασθενών (από 81% το 1^ο έτος) διατήρησε πλήρη βιοχημική και ιολογική ανταπόκριση το δεύτερο έτος χορήγησης, ενώ οι μεταλλάξεις, υπεύθυνες για την ανάπτυξη αντίστασης στο φάρμακο, ανήλθαν στο 44% το δεύτερο έτος από 19% το πρώτο έτος θεραπείας.³⁹⁰ Η αρνητικοποίηση του HBsAg σπάνια παρατηρείται στην HBeAg (-) ηπατίτιδα Β. Άλλη μελέτη σε Έλληνες ασθενείς³⁹¹ έδειξε ότι η χορήγηση λαμβουδίνης είχε θεαματικά αποτελέσματα κατά τη διάρκεια του πρώτου έτους (68% ιολογική ανταπόκριση με PCR), με σταδιακή μείωση της ιολογικής ανταπόκρισης κατά τη διάρκεια των επόμενων 18 μηνών (52% και 41,6% στους 18 και 30 μήνες αντίστοιχα), η οποία αποδόθηκε στην εμφάνιση YMDD μεταλλαγών σε όλους τους ασθενείς. Στην ομάδα των HBeAg (-) ασθενών η εμφάνιση μεταλλαγών ακολουθήθηκε από αύξηση των αμινοτρανσφερασών σε επίπεδα υψηλότερα αυτών που είχαν καταγραφεί προ θεραπείας.

Η λαμβουδίνη θεωρείται πιο ασφαλής αγωγή για τη θεραπεία ασθενών με μη αντιρροπούμενη κίρρωση HBV αιτιολογίας, γιατί δεν έχει ισχυρή μυελοκατασταλτική δράση και επιπλέον, σπάνια εμφανίζονται εξάρσεις αύξησης των επιπέδων της ALT κατά τη διάρκεια της θεραπείας.³⁹² Μείωση του Child score, παράλληλα με ελάττωση της ανάγκης για ηπατική μεταμόσχευση, παρατηρήθηκε μετά από έξι μήνες θεραπείας.³⁹³ Παρόλα αυτά, σε μερικούς ασθενείς η νόσος εξελίσσεται. Μία πρόσφατη μελέτη 154 ασθενών κατέδειξε ότι η θετική επίδραση της λαμβουδίνης ήταν εμφανέστερη σε αυτούς που επέζησαν τους 6 πρώτους μήνες της θεραπείας, για τους οποίους η υπολογιζόμενη 3ετής επιβίωση ήταν 88%, ενώ το 16% των υπό μελέτη ασθενών πέθαναν τους 6 πρώτους μήνες.³⁹⁴ Η λαμβουδίνη έχει καλύτερο (σε σχέση με την IFN-α) θεραπευτικό αποτέλεσμα στα πρώτα στάδια της κίρρωσης, αλλά η ανάπτυξης αντίστασης σε αυτήν μπορεί να ανακόψει ή και να αντιστρέψει τη βελτίωση. Επιπλέον, η επαναδραστηριοποίηση του HBV αυξάνει τον κίνδυνο υποτροπής της λοίμωξης στο ηπατικό μόσχευμα και γι'αυτό απαιτείται προσεκτική επιλογή των ασθενών αυτής της κατηγορίας προς θεραπεία.³⁹⁵

Η υποτροπή στο ηπατικό μόσχευμα έχει μειωθεί σε λιγότερο από το 10% μετά τη συνδυασμένη θεραπεία με λαμβουδίνη και HBIG, όμως εξακολουθεί να υφίσταται.³⁹⁶ Σε περίπτωση υποτροπής στο μόσχευμα η θεραπεία με λαμβουδίνη είναι αποτελεσματική. Σε μία πολυκεντρική μελέτη, 52 ασθενείς αυτής της κατηγορίας έλαβαν αγωγή επί 52 εβδομάδες.³⁹⁷ Το HBV DNA αρνητικοποιήθηκε στο 60%, το HBeAg στο 31% και το HBsAg στο 6% των ασθενών. Επιπλέον, η ιολογική βελτίωση ακολούθηθηκε από βιοχημική και ιστολογική ανταπόκριση, αλλά η μακροχρόνια βελτίωση περιορίστηκε από την ανάπτυξη αντίστασης.³⁹⁷

Φαίνεται πως προγνωστικοί παράγοντες ανταπόκρισης στη θεραπεία με λαμβουδίνη αποτελούν: α) τα υψηλά επίπεδα ALT πριν από τη θεραπεία,^{384,385} και β) ο βαθμός της ιστολογικής δραστηριότητας πριν από τη θεραπεία.^{385,395}

Η αγωγή με λαμβουδίνη είναι ασφαλής χωρίς αξιόλογες παρενέργειες ή σημαντικές μεταβολές των αιματολογικών και βιοχημικών παραμέτρων.³⁹⁵ Ήπια γενικά συμπτώματα όπως κόπωση, κεφαλαλγία, ναυτία και κοιλιακή δυσφορία έχουν αναφερθεί αλλά σε συχνότητα παρόμοια με αυτή της ομάδας ελέγχου με εικονικό φάρμακο.³⁸⁸ Παγκρεατίτιδα έχει παρατηρηθεί σε παιδιά με λοίμωξη από τον HIV που ελάμβαναν λαμβουδίνη αλλά όχι σε ενήλικες με λοίμωξη από τον HBV. Η επίδρασή της στη σπερματογένεση και στο έμβρυο είναι άγνωστη στον άνθρωπο, αν και μελέτες σε πειραματόζωα δεν έδειξαν εμφάνιση μεταλλαγών ή εμβρυϊκές βλάβες.

Αύξηση των ηπατικών ενζύμων έχει παρατηρηθεί σε 30-40% των ασθενών με χρόνια HBeAg (+) ηπατίτιδα Β κατά τη διάρκεια της θεραπείας, η οποία είναι σχεδόν πάντα ασυμπτωματική και μέτριας βαρύτητας.^{378,395} Μετά τη διακοπή της θεραπείας με λαμβουδίνη παρατηρήθηκε αύξηση των ηπατικών ενζύμων στο 22% των ασθενών που έλαβαν θεραπεία ενός έτους, σημαντικά συχνότερα σε σχέση με την ομάδα ελέγχου. Ωστόσο, αυτή η αύξηση δε συνοδεύτηκε από ίκτερο ή ρήξη της αντιρρόπησης.³⁷⁸ Το φαινόμενο αυτό φαίνεται να αντικατοπτρίζει την ανοσολογική απάντηση του ξενιστή στον αυξημένο ιικό πολλαπλασιασμό μετά από τη διακοπή της θεραπείας και σε ασθενείς με HBeAg (+) λοίμωξη μπορεί να συνοδεύεται από αυτόματη μείωση του HBV DNA και ορομετατροπή του HBeAg σε αντί-HBe. Η επανέναρξη της αγωγής είναι συνήθως αποτελεσματική στην αντιμετώπιση του φαινομένου.^{378,395}

Η συνιστώμενη δοσολογία στη θεραπεία με λαμβιβουδίνη για ενήλικες χωρίς λοίμωξη από τον HIV και με φυσιολογική νεφρική λειτουργία είναι 100 mg/ημέρα από του στόματος.^{382,395} Αντίθετα, μείωση της ανωτέρω δοσολογίας απαιτείται επί διαταραγμένης νεφρικής λειτουργίας. Στην HBeAg (+) χρόνια ηπατίτιδα Β η διάρκεια χορήγησης πρέπει να είναι τουλάχιστον 1 έτος, ενώ συνιστάται παράταση της θεραπείας 4-6 μήνες μετά την ορομετατροπή του HBeAg, με στόχο τη μείωση των υποτροπών μετά τη διακοπή της θεραπείας.³⁹⁵ Στους ασθενείς που δεν επιτυγχάνεται ορομετατροπή του HBeAg μετά το τέλος του ετήσιου σχήματος συνιστάται συνέχιση της αγωγής, γιατί το ποσοστό των ορομετατροπών αυξάνεται ανάλογα με τη διάρκεια της θεραπείας, με την προϋπόθεση ότι δεν υπάρχουν ενδείξεις ανάπτυξης ανθεκτικών στελεχών στη λαμβιβουδίνη.³⁹⁵ Όταν η αγωγή διακόπτεται, συνιστάται τακτικός έλεγχος και παρακολούθηση των ασθενών, καθώς εξάρσεις οξείας ηπατίτιδας αλλά και ρήξη της αντιρρόπησης είναι πιθανό να προκύψουν, ακόμα και σε αυτούς με προηγούμενη ορομετατροπή του HBeAg σε αντί-HBe.^{395,398} Στη χρόνια HBeAg (-) ηπατίτιδα Β οι υποτροπές μετά το τέλος του ετήσιου σχήματος είναι συχνότερες (90%), γι' αυτό χρειάζεται μάλλον παράταση της διάρκειας της θεραπείας. Το χρονικό διάστημα όμως της τελευταίας δεν είναι απόλυτα ξεκαθαρισμένο.

Δεν υπάρχουν σαφή στοιχεία σχετικά με τη χρονική διάρκεια διατήρησης της ορομετατροπής του HBeAg μετά τη διακοπή της θεραπείας με λαμβιβουδίνη. Η μέση διάρκεια της αγωγής μετά την αρνητικοποίηση του HBeAg και την εμφάνιση του αντί-HBe δε διαφέρει σε αυτούς που τελικά υποτροπίασαν και σε αυτούς που διατήρησαν την ανταπόκριση.³⁹⁹ Σε μία μελέτη από την Κορέα,⁴⁰⁰ 67 ασθενείς που έλαβαν λαμβιβουδίνη για τουλάχιστον 4 μήνες μετά την ορομετατροπή, εμφάνισαν υποτροπή της λοίμωξης σπανιότερα σε σχέση με αυτούς που το αντίστοιχο διάστημα ήταν 2 μήνες.

Εξάλλου, σε μελέτη από την Ταϊβάν⁴⁰¹ μετά την ορομετετροπή και για διάστημα 12-60 μηνών, η παρουσία του γονοτύπου B ήταν ο μόνος καθοριστικός παράγοντας για τη συνέχιση της ανταπόκρισης.

Μετά από θεραπεία ενός έτους, πάνω από το 50% των ασθενών παρουσιάζουν ιστολογική βελτίωση, η διατήρηση της οποίας όμως εξαρτάται από την ανάπτυξη ή όχι ορομετατροπής του HBeAg.³⁷⁷⁻³⁷⁹ Σε περίπτωση εμφάνισης αντίστασης στη λαμβουδίνη, η νεκροφλεγμονώδης δραστηριότητα επιδεινώνεται, ακόμα και αν είχε προηγηθεί βελτίωση σαν αποτέλεσμα της αρχικής ιολογικής, βιοχημικής και ιστολογικής ανταπόκρισης.⁴⁰²

6.4.2. ΑΝΤΙΣΤΑΣΗ ΣΤΗ ΛΑΜΙΒΟΥΔΙΝΗ

Το κύριο μειονέκτημα της θεραπείας με λαμβουδίνη είναι η ανάδυση ανθεκτικών στελεχών και η ανάπτυξη αντίστασης (βλέπε και κεφ 1, μεταλλαγές). Αυτή εκδηλώνεται ως υποτροπή της λοίμωξης με θετικοποίηση του HBV DNA με PCR.^{377,380-381} Η συχνότητά της κυμαίνεται στο 14-32% μετά 1 έτος θεραπείας και βαίνει αυξανόμενη ανάλογα με τη διάρκεια της αγωγής. Το ανδρικό φύλο, η μη Ασιατική εθνικότητα, τα αυξημένα επίπεδα HBV DNA προ θεραπείας και ο αυξημένος δείκτης μάζας σώματος φαίνεται να συσχετίζονται θετικά με αυτό το φαινόμενο.³⁸⁵ Άλλοι παράγοντες που σχετίζονται είναι οι αυξημένες τιμές ALT προ θεραπείας, επίπεδα HBV DNA >10³ copies/ml μετά 6 μήνες θεραπείας και ο υπότυπος του ιού.³⁹⁵ Στη χρόνια HBeAg (-) ηπατίτιδα B η συχνότητα εμφάνισης αντίστασης στο φάρμακο κυμαίνεται στο 0-27% τον πρώτο χρόνο θεραπείας και στο 10-56% στο δεύτερο έτος.⁴⁰³

Το γεγονός της εμφάνισης ανθεκτικών στελεχών παρά την απουσία ανιχνεύσιμου HBV DNA στον ορό ακόμα και με ευαίσθητες τεχνικές δεί-

χνει ότι η λαμβουδίνη δε διακόπτει τελείως τον ιικό πολλαπλασιασμό. Στους ασθενείς που εμφάνισαν φαινόμενο διαφυγής και διακόπηκε η θεραπεία, παρατηρήθηκε επανεμφάνιση του φυσικού στελέχους του HBV σε διάστημα 3-4 μηνών.^{219,404} Οι παρατηρήσεις αυτές υποδεικνύουν ότι τα μεταλλαγμένα στελέχη έχουν μειωμένη, σε σχέση με το φυσικό ιό, ικανότητα αναπαραγωγής και αυτό έχει επιβεβαιωθεί και *in vitro*.⁴⁰⁵ Για το λόγο αυτό έχει προταθεί η συνέχιση της χορήγησης λαμβουδίνης ως η ασφαλέστερη επιλογή για τον ασθενή, επειδή κατ'αυτόν τον τρόπο προλαμβάνεται η πλήρους υποτροπή του αρχικού στελέχους και η σημαντική έξαρση της νόσου.³⁹⁵ Οι ασθενείς που θα παρουσιάσουν υψηλές τιμές ALT και HBV DNA, χρήζουν διακοπής της θεραπείας και/ή προσθήκη άλλου αντι-ιικού φαρμάκου.

6.4.3. ΑΔΕΦΟΒΙΡΗ

Η αδεφοβίρη είναι ένα ακυκλικό ανάλογο του dAMP, που αναστέλλει τη δράση τόσο της ανάστροφης μεταγραφάσης όσο και της DNA πολυμεράσης. Πρόσφατα εγκρίθηκε ως θεραπεία κατά της χρόνιας ηπατίτιδας Β στις Η.Π.Α. και την Ευρώπη σε δοσολογία 10 mg/ημέρα από του στόματος.⁴⁰⁶

Σε μία τυχαιοποιημένη μελέτη φάσης III,^{407,408} 515 ασθενείς έλαβαν 10 ή 30 mg αδεφοβίρης ή εικονικό φάρμακο για 48 εβδομάδες. Η ιστολογική βελτίωση ήταν σημαντικά μεγαλύτερη στους ασθενείς που ελάμβαναν το φάρμακο (53-59% έναντι 25% της ομάδας ελέγχου). Επιπλέον, το φάρμακο φαίνεται να είναι αποτελεσματικό και στη χρόνια HBeAg (-) ηπατίτιδα Β.⁴⁰⁹

Πρέπει να τονιστεί ότι η αδεφοβίρη προκαλεί αναστολή της HBV DNA πολυμεράσης ακόμα και στα στελέχη που έχουν υποστεί μεταλλαγή

M552I, M552V, L528M/M552V (αντοχή στη λαμιβουδίνη), καθώς και σε εκείνα που έχουν απλή μεταλλαγή L528M (αντοχή στη φαμσικλοβίρη).^{410,411}

Τα πρόδρομα αποτελέσματα μιας συνεχιζόμενης τυχαιοποιημένης μελέτης δείχνουν ότι η ελάττωση των επιπέδων HBV DNA μετά από 48 εβδομάδες μονοθεραπείας με αδεφοβίρη ή συνδυασμού της με λαμιβουδίνη είναι παρόμοια.⁴¹² Διαφαίνεται ότι η αδεφοβίρη δρα στην αναστολή του πολλαπλασιασμού και των μεταλλαγμένων στελεχών, τα οποία είναι υπεύθυνα για την αντοχή στη λαμιβουδίνη.

Από τις μέχρι τώρα μελέτες δεν έχουν περιγραφεί μεταλλαγές που προκαλούν αντίσταση στην αδεφοβίρη. Αυτό πιθανόν να οδηγήσει σε περαιτέρω καταστολή του HBV σε ασθενείς που ήδη βρίσκονται υπό αγωγή, και άρα μακροχρόνια ανταπόκριση.³⁹⁵ Η πιο σημαντική παρενέργεια του νέου φαρμάκου είναι η νεφροτοξικότητα σε δόσεις >30 mg/ημέρα.^{407,408} Αυτή συνίσταται σε νεφρική σωληναριακή οξέωση, απώλεια φωσφόρου και ήπιου βαθμού νεφρική ανεπάρκεια, αναστρέψιμη όμως μετά τη διακοπή της θεραπείας.

6.4.4. ΦΑΜΣΙΚΛΟΒΙΡΗ

Η από του στόματος χορηγούμενη φαμσικλοβίρη απορροφάται εύκολα από το έντερο και μετατρέπεται στο ήπαρ στο δραστικό μεταβολίτη της, την πενσικλοβίρη.⁴¹³ Σε αντίθεση με τη λαμιβουδίνη η οποία αναστέλλει μη αντιστρεπτά το στάδιο της ανάστροφης μεταγραφάσης κατά τον ιικό πολλαπλασιασμό,³⁷⁵ η πενσικλοβίρη φαίνεται να προκαλεί άμεση αναστολή της δραστηριότητας της HBV DNA πολυμεράσης, καθώς ενσωματώνεται στο ιικό DNA προκαλώντας οριστικό τερματισμό της επιμήκυνσής του.⁴¹³ Η πενσικλοβίρη αναστέλλει επίσης το αρχικό στάδιο πολλαπλασιασμού του

ιού κατά το οποίο το μονής έλικας DNA συνδέεται σταθερά με τη DNA πολυμεράση.⁴¹⁴

Μία μελέτη ελέγχου της αποτελεσματικότητας και της ασφάλειας της φαρσικλοβίρης στη χρόνια ηπατίτιδα Β περιλάμβανε τη χορήγησή της σε 333 HBeAg (+) ασθενείς για 16 εβδομάδες (σε δόσεις 125mg, 250mg και 500mg 3 φορές ημερησίως) και παρακολούθησή τους για 8 μήνες, ενώ υπήρχε και ομάδα ελέγχου με εικονικό φάρμακο.⁴¹⁵

Τα αποτελέσματα έδειξαν μία ταχεία (μετά την πρώτη εβδομάδα θεραπείας) δοσοεξαρτώμενη μείωση έως εξαφάνιση του HBV DNA.⁴¹⁵ Η μείωση αυτή ήταν εμφανής σε όλη τη διάρκεια της θεραπείας, αλλά στους περισσότερους ασθενείς μετά τη διακοπή του φαρμάκου τα επίπεδα του HBV DNA επανήλθαν στις βασικές τιμές πριν από την έναρξη της θεραπείας. Παρόλα αυτά όμως, το 25% αυτών που είχαν λάβει 500mg τρεις φορές ημερησίως αρνητικοποίησαν το HBV DNA και μείωσαν σημαντικά τα επίπεδα των αμινοτρανσφερασών τόσο στη διάρκεια της θεραπείας όσο και κατά το διάστημα της παρακολούθησης. Επιπλέον, η συχνότητα ορομετατροπής του HBeAg σε αντί-HBe ήταν σημαντικά υψηλότερη στην ομάδα ασθενών που έλαβε 500mg τρεις φορές ημερησίως σε σχέση με την ομάδα που έλαβε εικονικό φάρμακο. Η ανταπόκριση σχετιζόταν σε στατιστικά σημαντικό βαθμό ($p < 0,05$) με την παρουσία υψηλών βασικών τιμών ALT ($> 3,5$ φορές των ανώτερων φυσιολογικών τιμών). Το φάρμακο ήταν καλά ανεκτό και οι ήπιες παρενέργειές του δε διέφεραν από την ομάδα ελέγχου.⁴¹⁵

Σε μία άλλη κλινική μελέτη φάσης III με HBeAg (+) ασθενείς,⁴¹⁶ βρέθηκε ότι η ομάδα ασθενών που λάμβανε 500mg φαρσικλοβίρης τρεις ημερησίως είχε υψηλότερα ποσοστά ορομετατροπής του HBeAg σε αντί-HBe, σε σχέση με την ομάδα ασθενών που έλαβε εικονικό φάρμακο (9% έναντι 3%). Παρόλα αυτά δεν υπήρχε στατιστικώς σημαντική διαφορά

μεταξύ των δύο ομάδων, τόσο στην ιστολογική ανταπόκριση όσο και όταν η χορήγηση φамσικλοβίρης ήταν 1500mg άπαξ ημερησίως. Εξάλλου, πολλές μεταλλάξεις, που προκαλούν αντοχή στη δράση του φαρμάκου, έχουν περιγραφεί κατά τη μακροχρόνια χορήγηση της φамσικλοβίρης. Αυτές δε σχετίζονται με την YMDD περιοχή του γονιδίου της HBV DNA πολυμεράσης, αλλά με την περιοχή B του γονιδίου της πολυμεράσης και συχνότερη είναι η L180M.⁴¹⁵

Έτσι, λόγω της χαμηλού βαθμού ιολογικής ανταπόκρισης, της αυξημένης συχνότητας ανάπτυξης μεταλλαγών αλλά και της ανάγκης χορήγησης τρις ημερησίως, ο ρόλος της φамσικλοβίρης στη θεραπεία της χρόνιας ηπατίτιδας B φαίνεται να είναι περιορισμένος.³⁹⁵

6.4.5. ΑΛΛΟΙ ΝΟΥΚΛΕΟΣΙΔΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

Η εμτρισιταμπίνη, η κλεβουντίνη και η εντεκαβίρη είναι νουκλεοσιδικά ανάλογα, η δράση των οποίων ελέγχεται σε μελέτες φάσης III.^{346,395} Η εμτρισιταμπίνη έχει ισχυρή δράση εναντίον του HBV και δρα συνεργικά με άλλα νουκλεοτίδια. Η χημική της δομή παρουσιάζει συγγένεια με αυτήν της λαμβουδίνης και στις μέχρι τώρα μελέτες εμφανίζει παρόμοια αποτελεσματικότητα αλλά και μικρότερο ποσοστό ανάπτυξης ανθεκτικών στελεχών.^{346,395,417} Η κλεβουντίνη είναι ένα ανάλογο της πυριμιδίνης με ισχυρή δράση κατά του HBV. Τα αποτελέσματα των πρώτων κλινικών μελετών είναι ενθαρρυντικά, αλλά δεν επαρκούν για την εξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων.^{346,395} Η εντεκαβίρη είναι ένα καρβοκυκλικό ανάλογο της δεοξυγουανωσίνης και χορηγούμενο σε πειραματόζωα αυξάνει την επιβίωση και μειώνει την επίπτωση του ΗΚΚ.^{346,395} Φαίνεται ότι δόσεις της τάξης των 0,1-0,5 mg έχουν μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα στην ελάττωση των

επιπέδων του HBV DNA σε σχέση με τα 100 mg λαμβουδίνης.⁴¹⁸ Τέλος, τα μέχρι τώρα δεδομένα δείχνουν ότι η εντεκαβίρη είναι δραστική, έστω και σε χαμηλότερο βαθμό, και κατά των μεταλλαγμένων στελεχών τα οποία είναι υπεύθυνα για την ανάπτυξη αντίστασης στη λαμβουδίνη.^{418,419}

6.4.6. L-ΝΟΥΚΛΕΟΣΙΔΙΑ

Τα L-νουκλεοσίδια είναι φυσικά νουκλεοσίδια με β-L-διαμόρφωση και αποτελούν μία νέα ομάδα φαρμάκων με ισχυρή και εκλεκτική δράση εναντίον ειδικά του HBV.^{346,395} Περιλαμβάνουν τα L-2'-δεοξυνουκλεοσίδια (L-dC), την L-θυμιδίνη (L-dT) και την L-2'-δεοξυαδενοσίνη (L-dA). Συνδυασμοί 2 ή 3 L-νουκλεοσιδίων έδειξαν συνεργική δράση εναντίον του HBV, χωρίς ενδείξεις κυτταρικής ή μιτοχονδριακής τοξικότητας. Ωστόσο, ακόμα δεν έχει διευκρινιστεί η αποτελεσματικότητα των L-νουκλεοσιδίων εναντίον των ανθεκτικών στη λαμβουδίνη στελεχών του HBV.^{346,395}

6.5. ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΑ ΕΜΒΟΛΙΑ

Μελέτες της ανοσοπαθογένειας της HBV λοίμωξης έχουν καταδείξει τη σημασία του ανοσολογικού συστήματος του ξενιστή στην εξέλιξη της λοίμωξης (βλέπε και κεφ 4, ανοσοπαθογένεια). Είναι πλέον αποδεκτό ότι η εξέλιξη σε χρονιότητα σχετίζεται περισσότερο με την αδυναμία του ξενιστή να εγείρει επαρκή ανοσολογική απάντηση παρά σε άμεση κυτταροπαθογενετική δράση του ιού. Παρόλα αυτά, η κατάσταση μερικής ή πλήρους ανοσολογικής ανοχής μπορεί να αναστραφεί, όπως συμβαίνει κατά τη διάρκεια των οξέων εξάρσεων της νόσου, και κάποιες από αυτές μπορεί να οδηγήσουν ακόμα και σε κάθαρση του HBsAg και ανάπτυξη αντί-HBs.

Στην επαναδραστηριοποίηση του ανοσολογικού συστήματος στοχεύουν και οι ειδικές ανοσοτροποποιητικές προσπάθειες με τα θεραπευτικά εμβόλια. Εξάλλου, έχει αναφερθεί κάθαρση του HBsAg σε ασθενείς με χρόνια HBeAg (+) ηπατίτιδα Β μετά από αλλογενή μεταμόσχευση μυελού των οστών από δότες με φυσική ανοσία στον ιό.⁴²⁰ Είναι ενδιαφέρον ότι κάθαρση του HBsAg δεν παρατηρήθηκε σε καμιά από τις περιπτώσεις που ο δότης ήταν εμβολιασμένος κατά του HBV.⁴²⁰

Τα θεραπευτικά εμβόλια που έχουν χρησιμοποιηθεί μέχρι τώρα σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα Β περιέχουν ανασυνδυασμένες πρωτεΐνες του φακέλου, κυτταροτοξικούς επιτόπους του πυρηνοκαψιδίου ή DNA που τις κωδικογραφεί και κυτταροκίνες που ενεργοποιούν τα δενδριτικά κύτταρα.⁴²¹⁻⁴²³ Η εφαρμογή των παραπάνω εμβολίων σε πειραματόζωα είχε ενθαρρυντικά αποτελέσματα.⁴²⁴ Ο εμβολιασμός ποντικών με DNA που εκφράζει το HBeAg ή συνδυασμό HBeAg με πρωτεΐνες του φακέλου προκάλεσε έντονη απάντηση σε Β και Τ κυτταρικό επίπεδο.⁴²⁵ Όμως στους ανθρώπους εμφανίζουν μειωμένη αποτελεσματικότητα, για την βελτίωση της οποίας δοκιμάζονται νέα διαλύματα με εντονότερη ανοσογόνο δράση, εναλλακτικές οδοί χορήγησής τους καθώς και νέα αντιγόνα.^{421,422,426,427}

6.6. ΣΥΝΔΥΑΣΜΟΣ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΩΝ ΠΑΡΕΜΒΑΣΕΩΝ

Η έλλειψη αποτελεσματικής θεραπείας για την πλειοψηφία των ασθενών με χρόνια ηπατίτιδα Β, ανέδειξε την ανάγκη ανεύρεσης νέων θεραπευτικών σχημάτων, που κυρίως αποτελούνται από συνδυασμό αντι-ιικών και ανοσοτροποποιητικών φαρμάκων.

Ένας από τους πρώτους συνδυασμούς που μελετήθηκαν ήταν αυτός της IFN-α με λαμβουδίνη. Η χορήγηση αρχικά του συνδυασμού για 16

εβδομάδες σε 20 HBeAg (+) ασθενείς που δεν είχαν αρχικά ανταποκριθεί στην IFN-α είχε απογοητευτικά αποτελέσματα.⁴²⁸ Σε μία άλλη ευρεία,³⁷⁹ τυχαιοποιημένη, πολυεθνική μελέτη 226 HBeAg (+) ασθενείς έλαβαν μονοθεραπεία με λαμβουδίνη για 52 εβδομάδες, IFN-α για 16 εβδομάδες ή λαμβουδίνη για 8 εβδομάδες ακολουθούμενη από συνδυασμό λαμβουδίνης και IFN-α για 16 εβδομάδες. Τα ποσοστά ορομετατροπής του HBeAg σε αντί-HBe την 52^η εβδομάδα ήταν 18%, 19% και 29% αντίστοιχα.³⁷⁹ Στην ανάλυση κατά πρωτόκολλο υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ της συνδυασμένης θεραπείας και της μονοθεραπείας με λαμβουδίνη ($p=0,02$). Η συνδυασμένη θεραπεία αποδείχτηκε πιο χρήσιμη σε αυτούς με μέτρια αυξημένες αμινοτρανσφεράσες. Στη μελέτη των Barbarini και συν.,⁴²⁹ 151 ασθενείς έλαβαν συνδυασμό IFN-α και λαμβουδίνης για 24 εβδομάδες ή μονοθεραπεία με λαμβουδίνη για 52 εβδομάδες. Τα ποσοστά της ορομετατροπής του HBeAg και της ιστολογικής βελτίωσης ήταν στατιστικά σημαντικά υψηλότερα για την πρώτη ομάδα ασθενών που έλαβε το συνδυασμό των φαρμάκων (33% έναντι 15% για την ορομετατροπή και 46% έναντι 27% για την ιστολογική βελτίωση).

Η θεραπεία 14 ασθενών αρχικά με λαμβουδίνη για 20 εβδομάδες, ακολουθούμενη από ταυτόχρονη χορήγηση λαμβουδίνης και IFN-α για 4 εβδομάδες και τελικά από IFN-α για άλλες 24 εβδομάδες, έδειξε να υπερέχει των προηγούμενων σχημάτων ταυτόχρονης χορήγησης των δύο φαρμάκων.⁴³⁰ Αναλυτικότερα, 6 μήνες μετά το τέλος της θεραπείας 8 από τους 14 ασθενείς (57%) εμφάνισαν ιολογική ανταπόκριση (HBV DNA αρνητικό με τη μέθοδο του b DNA), 5 στους 11 (45%) παρουσίασαν ορομετατροπή του HBeAg και 3 στους 14 (21%) παρουσίασαν και ορομετατροπή του HBsAg σε αντί-HBs. Η αυξημένη αποτελεσματικότητα του σχήματος ίσως να οφείλεται αφ' ενός στη μακροχρόνια χορήγηση IFN-α και αφετέρου στη σημα-

ντική μείωση του ιικού πολλαπλασιασμού με τη λαμβουδίνη. Αξιοσημείωτο στη συγκεκριμένη μελέτη είναι ότι κανείς από τους ασθενείς δεν εμφάνισε YMDD μεταλλαγή.

Σε μία μελέτη 50 ασθενών με χρόνια HBeAg (-) ηπατίτιδα B,⁴³¹ δεν υπήρξε διαφορά στην ιολογική ανταπόκριση αυτών που έλαβαν λαμβουδίνη (17%) σε σχέση με αυτούς που έλαβαν συνδυασμό της με IFN-α για 12 μήνες (19%). Ωστόσο, ο συνδυασμός των φαρμάκων φαίνεται να προφυλάσσει από την ανάπτυξη των YMDD μεταλλαγών ή τουλάχιστον να καθυστερεί την ανάπτυξή τους.

Στην τυχαιοποιημένη μελέτη των Schiff και συν.⁴³² 238 μη ανταποκριθέντες στην IFN-α έλαβαν λαμβουδίνη για 52 εβδομάδες ή λαμβουδίνη για 8 εβδομάδες ακολουθούμενη από συνδυασμό της με IFN-α για επιπλέον 16 εβδομάδες ή εικονικό φάρμακο. Η μονοθεραπεία με λαμβουδίνη συσχετίστηκε με μεγαλύτερη συχνότητα HBeAg ορομετατροπής (18% έναντι 12% και 13% για τις άλλες ομάδες) και ιστολογικής ανταπόκρισης (52% έναντι 32% και 25 % αντίστοιχα).

Τέλος, ο συνδυασμός λαμβουδίνης και φαμσικλοβίρης φαίνεται να έχει συνεργική αντι-ιική δράση όπως προκύπτει από πιλοτική μελέτη σε ασθενείς με χρόνια HBeAg (+) ηπατίτιδα B.⁴³³

Συμπερασματικά, εγκεκριμένα φάρμακα για τη θεραπεία της χρόνιας ηπατίτιδας B είναι η IFN-α, η λαμβουδίνη και η αδεφοβίρη (Πίνακας 21). Πριν από την απόφαση για το είδος της θεραπείας που θα ακολουθηθεί χρειάζεται προσεκτική αξιολόγηση από το θεράποντα ιατρό διαφόρων παραμέτρων όπως η ηλικία του ασθενούς, η βαρύτητα της ηπατικής νόσου, η πιθανότητα ανταπόκρισης με βάση προγνωστικούς παράγοντες και οι πιθανές ανεπιθύμητες ενέργειες (Πίνακας 22).³⁹⁵

Πίνακας 21. Σύγκριση των εγκεκριμένων φαρμάκων για τη θεραπεία της ΧΗΒ.

	<i>IFN</i>	<i>Λαμβουδίνη</i>	<i>Αδεφοβίρη</i>
<i>Ενδείξεις</i>			
HBeAg (+), ALT κφ	Όχι	Όχι	Όχι
HBeAg (+), ALT [^]	Ναι	Ναι	Ναι
HBeAg (-), ALT [^]	Ναι	Ναι	Ναι
Μη αντιρροπούμενη κίρρωση	Όχι	Ναι	Ναι
<i>Διάρκεια θεραπείας</i>			
HBeAg (+) ΧΗΒ	4-6 μήνες	>1 έτος	>1 έτος
HBeAg (-) ΧΗΒ	? 1 έτος	>>1 έτος	>>1 έτος
Μη αντιρροπούμενη κίρρωση	Αντενδείκνυται	Όχι καθορισμένο	Όχι καθορισμένο
<i>Διατήρηση της ανταπόκρισης</i>			
HBeAg (+) ΧΗΒ	80-90%	50-80%	Άγνωστη
HBeAg (-) ΧΗΒ*	20-25%	~10%	Άγνωστη
<i>Οδός χορήγησης</i>	Υποδορίως	Per os	Per os
<i>Ανεπιθύμητες ενέργειες</i>	Πολλές	Αμελητέες	Νεφροτοξικότητα
<i>Αντενδείξεις</i>	++	(-)	(-)
<i>Ανάπτυξη αντίστασης</i>	(-)	~20% το 1ο έτος ~70% στα 5 έτη	Καμία το 1 ^ο έτος
<i>Κόστος</i>	Υψηλό	χαμηλό**	Ενδιάμεσο**

ΧΗΒ = χρόνια ηπατίτιδα Β

* Μετά από 12 μήνες αγωγής.

** Σε θεραπεία ενός έτους.

Το ενδεχόμενο της θεραπείας θα πρέπει να εξεταστεί στους ασθενείς με χρόνια HBeAg (+) ή (-) ηπατίτιδα Β, με αυξημένα επίπεδα ALT και τουλάχιστον μέτρια ή έντονη δραστηριότητα της νόσου στη βιοψία ήπατος.^{220,395} Η IFN-α πλεονεκτεί στη διάρκεια της θεραπείας, τη μεγαλύτερης

Πίνακας 22. Στρατηγική στη θεραπεία της χρόνιας ηπατίτιδας Β.

<i>HBeAg</i>	<i>HBV DNA*</i>	<i>ALT</i>	<i>Θεραπευτική προσέγγιση</i>
+	+	Κφ	Χαμηλή δραστικότητα και των τριών φαρμάκων, παρακολούθηση, σκέψη για θεραπεία επί αυξημένης ALT
+	+	^	IFN, λαμβουδίνη ή αδεφοβίρη. Επί μη ανταπόκρισης στην IFN ή αν υπάρχουν αντενδείξεις> λαμβουδίνη ή αδεφοβίρη. Επί αντίστασης στη λαμβουδίνη> αδεφοβίρη.
-	+	^	IFN, λαμβουδίνη ή αδεφοβίρη. Επί μη ανταπόκρισης στην IFN ή αν υπάρχουν αντενδείξεις> λαμβουδίνη ή αδεφοβίρη. Επί αντίστασης στη λαμβουδίνη> αδεφοβίρη. Απαιτείται μακροχρόνια αγωγή.
-	-	Κφ	Καμία.
+ ή -	+	Κίρρωση	Αντιρροπούμενη: IFN υπό στενή παρακολούθηση, λαμβουδίνη ή αδεφοβίρη. Μη αντιρροπούμενη: λαμβουδίνη ή αδεφοβίρη. Επί αντίστασης στη λαμβουδίνη> αδεφοβίρη.
+ ή -	-	Κίρρωση	Αντιρροπούμενη: παρακολούθηση. Μη αντιρροπούμενη: μεταμόσχευση ήπατος.

*HBV DNA > 10⁵ copies/ml. Αυτή η τιμή είναι αυθαίρετη και ίσως είναι χαμηλότερη στη χρόνια HBeAg (-) ηπατίτιδα Β και στη μη αντιρροπούμενη κίρρωση.

διάρκειας ανταπόκριση και τη μη ανάπτυξη αντίστασης. Τα μειονεκτήματά της είναι το υψηλό κόστος, η παρεντερική χορήγηση και οι σοβαρές ανεπιθύμητες ενέργειες. Η λαμβουδίνη είναι καλά ανεκτή από τους ασθενείς και έχει χαμηλό κόστος. Παρόλα αυτά, η ενδεχόμενη ανταπόκριση σε αυτή δεν είναι πάντα μακροχρόνια, ενώ σοβαρά προβλήματα δημιουργούν οι YMDD μεταλλαγές. Τέτοιες μεταλλαγές δεν έχουν περιγραφεί σε θεραπεία με αδε-

φοβίρη, αλλά η χορήγησή της φαίνεται να εγκυμονεί κινδύνους σε ασθενείς με νεφρική δυσλειτουργία.³⁹⁵

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Wei Y, Tiolaris P. Molecular biology of hepatitis B virus. Clin Liver Dis 1999; 3: 189-219.
2. Testut P, Renard CA, Terradillos O. et al. A new hepadnavirus endemic in arctic ground squirrels in Alaska. J Virol 1996; 70; 4210-4215.
3. Thomas HC, Jacyna M, Waters J, Main J. Virus-host interaction in chronic hepatitis B virus infection. Semin Liver Dis 1998; 8: 342-349.
4. Seeger C, Ganem D, Varmus HE. Biochemical and genetic evidence for the hepatitis B virus replication strategy. Science 1987; 477-484.
5. Gerber MA, Thung SN. Biology of disease, molecular and cellular pathology of hepatitis B. Lab Invest 1985; 52: 572-590.
6. Miller R, Keneko S, Chung C, Girones R, Purcell R. Compact organization of the hepatitis B virus genome. Hepatology 1989; 9: 322-327.
7. Ganem D, Varmus HE. The molecular biology of the hepatitis B virus. Ann Rev Biochem 1987; 56: 651-693.
8. Yen TSB. Regulation of hepatitis B virus gene expression. Semin Virology 1993; 4: 33-42.
9. Gerlich W. Hepatitis B surface proteins. J Hepatol 1991; 13(4): S90-S92.
10. Χατζηγιάννης ΣΙ, Le Bouvier G. Υπότυποι Αυστραλιανού αντιγόνου εν Ελλάδι. Ιατρική 1972; 22: 33-37.
11. Neurath AR, Kent SB, Strick N, Parker K. Identification and chemical synthesis of a host cell receptor binding site on hepatitis B virus. Cell 1986; 46: 429-436.

12. Ou J-H, Laub O, Rutter W. Hepatitis B virus gene function: the precore region targets the core antigen to cellular membranes and causes the secretion of e antigen. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 83: 1578-1582.
13. Petit MA, Pilot j. HBc and HBe antigenicity and DNA-building activity of major core protein P22 in hepatitis B virus core particles isolated from the cytoplasm of human liver cells. *J Virol* 1985; 53: 543-551.
14. Ou JH, Yeh CT, Yen TSB. Transport of hepatitis B virus precore protein into the nucleus after cleavage of its signal peptide. *J Virol* 1989; 63: 5238-5243.
15. Jean-Jean O, Levrero M, Will H, Perricaudet M, Rossignol J-M. Expression mechanism of the hepatitis B virus C gene and biosynthesis of HBe antigen. *Virology* 1989; 170: 99-106.
16. Schodel F, Peterson D, Zheng J. Structure of hepatitis B virus core and e-antigen. *J Biol Chem* 1993; 268: 1332-1337.
17. Yamada D, Takaguchi K, Matsueda K, Nishimoto H, Takahasi M, Fujiki S, et al. Immunoelectron microscopic observation of intrahepatic HBeAg in patients with chronic hepatitis B. *Hepatology* 1990; 12: 133-140.
18. Standring DN, Ou JH, Masiarz FR, Rutter WJ. A signal peptide encoded with the precore region of hepatitis B virus directs the secretion of a heterogeneous population of e antigens in *Xenopus* oocytes. *Proc natl Acad Sci USA* 1988; 85: 8405-8409.
19. Sprengel R, Kuhn C, Will H, Schaller H. Comparative sequence analysis of duck and human hepatitis B virus genomes. *J Med Virol* 1985; 15: 323-333.

20. Chang C, Enders G, Sprengel R, Peters N, Varmus HE, Ganem D. Expression of the precore region of an avian hepatitis B virus is not required for viral replication. *J Virol* 1987; 61: 3322-3325.
21. Schlicht HJ, Schaller H. The secretory core protein of human hepatitis B virus is expressed on the cell surface. *J Virol* 1989; 63: 5399-5404.
22. Milich DR, Jones JE, Hughes JL, et al. Is a function of the secreted hepatitis B e antigen to induce immunologic tolerance in utero? *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87:6599-6003.
23. Thomas HC, Jacyna M, Waters J, et al. Virus-host interaction in chronic hepatitis B virus infection. *Semin Liver Dis* 1988; 8: 342-349.
24. Schlicht H-J. Biosynthesis of the secretory core protein of duck hepatitis virus: intracellular transport, proteolytic processing and membrane expression of the precore protein. *J Virol* 1991; 65: 3489-3495.
25. Yeh C-T, Liaw Y-F, Ou J-H. The arginine-rich domain of hepatitis B virus precore and core proteins contains a signal for nuclear transport. *J Virol* 1990; 64: 6141-6147.
26. Eckhardt S, Millich D, McLachlan A. Hepatitis B virus core antigen has two nuclear localization sequences in the arginine-rich carboxyl terminus. *J Virol* 1991; 65: 575-582.
27. Milich DR, McLachlan A, Moriarty A, Thornton GB. Immune response to hepatitis B virus core antigen (HBsAg): localization of T cell recognition sites with HBsAg/HBeAg. *J Immunol* 1987; 139: 1223-1231.
28. McLachlan A, Milich DR, Raney AK. Expression of hepatitis B surface and core antigens: influences of pre-S and precore sequences. *J Virol* 1987; 61: 683-692.

29. Tiollais P, Pourcell C, Dejean A. The hepatitis B virus. *Nature* 1985; 317: 489-495.
30. Rossner MT. Review: Hepatitis B virus X-gene product: A promiscuous transcriptional activator. *J Med Virol* 1992; 36: 101-117.
31. Halpern MS, Egan J, Mason WS, England JM. Viral antigen in endocrine cells of the pancreatic isles and adrenal cortex of Pekin ducks infected with duck hepatitis B virus. *Virus Res* 1984; 1: 213-223.
32. Halpern MS, Egan J, McMahon SB, Ewert DL. Duck hepatitis B virus is topic for exocrine cells of the pancreas. *Virology* 1985; 146: 157-161.
33. Halpern MS, England JM, Deery DT, et al. Viral nucleic acid synthesis and antigen accumulation in pancreas and kidney of Pekin ducks infected with duck hepatitis B virus. *Proc Natl Acad Sci USA* 1983; 80: 4865-4869.
34. Jilbert AR, Freiman EJ, Gowans M, et al. Duck hepatitis B virus DNA in liver spleen and pancreas: analysis by in situ and Southern blot hybridization. *Virology* 1987; 158: 330-338.
35. Tagana MW, Robinson WS, Marion PL. Duck hepatitis B virus replicates in the yolk sac of developing embryos. *J Virol* 1987; 61: 2273-2279.
36. Stoll-Becker SR, Repp D, Glebe S, et al. Transcription of hepatitis B virus in peripheral blood mononuclear cells from persistently infected patients. *J Virol* 1997; 71: 5399-5407.
37. Kock J, Theilmann L, gelle P, Schlicht HJ. Hepatitis B virus nucleotic acids associated with human peripheral blood mononuclear cells do not originate from replicating virus. *Hepatology* 1996; 23: 406-413.

38. Seeger C, Mason W. Hepatitis B virus biology. *Microbiol Molecular Biol Rev* 2000; 64: 51-68.
39. Weiser B, Ganem D, Seeger C, et al. Closed circular viral DNA and asymmetrical heterogeneous forms in livers from animals infected with ground squirrel hepatitis virus. *J Virol* 1983; 48: 1-8.
40. Kramvis A, Kew MC. The core promoter of hepatitis B virus. *J Viral Hepat* 1999; 6: 415-427.
41. Summers J, Mason WS. Replication of the genome of a hepatitis B-like virus by reverse transcription of an RNA intermediate. *Cell* 1982; 29: 403-415.
42. Miyakawa Y, Okamoto H, Mayumi M. The molecular basis of hepatitis B e antigen (HBeAg)-negative infections. *J Viral Hepat* 1997; 4: 1-8.
43. Yuh CH, Ting LP. C/EBP-like proteins binding to the functional box-alpha and box-beta of the second enhancer of hepatitis B virus. *Mol Cell Biol* 1991; 11: 5044-5052.
44. Garcia AD, Ostapchuk P, Hearing P. Functional interaction of nuclear I. *J Virol* 1993; 67: 3940-3950.
45. Wang GH, Seeger C. Novel mechanism for reverse transcription in hepatitis B viruses. *J Virol* 1993; 67: 6507-6512.
46. Tavis JE, Perri S, Ganem D. Hepadnavirus reverse transcription initiates within the stem-loop of the RNA packaging signal and employs a novel strand transfer. *J Virol* 1994; 68: 3536-3543.
47. Tuttleman JS, Pugh JC, Summers JW. In vitro experimental infection of primary duck hepatocyte cultures with duck hepatitis B virus. *J Virol* 1986; 58: 17-25.

48. Radiwell G. Mutational analysis of the hepatitis B virus P gene product: Domain structure and RNase H activity. *J Virol* 1990; 64: 613-620.
49. Zoulim F, Trepo C. Drug therapy for chronic hepatitis B: antiviral efficacy and influence of hepatitis B virus polymerase mutations on the outcome of therapy. *J Hepatol* 1998; 29: 151-168.
50. Tuttleman JS, Pourcel C, Summers J. Formation of the pool of the covalently closed circular viral DNA in hepadnavirus-infected cells. *Cell* 1986; 47: 451-460.
51. Summers J, Smith PM, Horwick AL. Hepadnavirus envelope proteins regulate covalently closed circular DNA amplification. *J Virol* 1990; 64: 2819-2824.
52. Summers J, Smith PM, Huang MJ, Yu MS. Morphogenetic and regulatory effects of mutations in the envelope proteins of an avian hepadnavirus. *J Virol* 1991; 65: 1310-1317.
53. Hoofnagle JH, Di Bisceglie AM. Drug therapy: the treatment of chronic viral hepatitis. *N Engl J Med* 1997; 336: 347-356.
54. Wu T-T, Coates L, Aldrich CE, et al. In hepatocytes infected with duck hepatitis B virus, the template for viral RNA synthesis is amplified by an intracellular pathway. *Virology* 1990; 175: 255-261.
55. Lai C-L, Ching C-K, Tung A K-M, Li E Young J, Hill A, et al. Lamivudine is effective in suppressing hepatitis B virus DNA in Chinese hepatitis B surface antigen carriers: a placebo-controlled trial. *Hepatology* 1997; 25: 241-244.
56. Fourel I, Saputelli J, Schaffel P, Mason W. The carbocyclic analog of 2-deoxyguanosine induces a prolonged inhibition of duck hepatitis B

- virus DNA synthesis in primary hepatocyte cultures and in the liver. *J Virol* 1994; 68: 1059-1065.
57. Nowak MA, Bonhoeffer S, Hill AM, et al. Viral dynamics in hepatitis B virus infection. *Proc Natl Aca Sci USA* 1996; 93: 4398-4402.
 58. Jungueira LC, Kelley RO, Carneiro José. *Basic Histology*, sixth edition 1992
 59. Fourel I, Cullen JM, Saputelli J. Evidence that hepatocyte turnover is required for rapid clearance of duck hepatitis B virus during antiviral therapy of chronically infected ducks. *J Virol* 1994; 68: 8321-8330.
 60. Tsiang M, Rooney JF, Toole JJ, Gibbs CS. Biphasic clearance kinetics of hepatitis B virus from patient during adefovir dipivoxil therapy. *Hepatology* 1999; 29: 1863-9
 61. Okamoto H, Imai M, Kametani M, Nakamura T, Mayumi M. Genomic heterogeneity of hepatitis B virus in a 54-year-old woman who contracted the infection through materno-fetal transmission. *Jpn J Exp Med* 1987; 57: 231-236.
 62. Norder H, Courouce AM, Magdius LO, Complete genomes, phylogenetic relatedness, and structural proteins of six strains of the hepatitis B virus, four of which represent two new genotypes. *Virology* 1994; 198: 489-503.
 63. Carman WF, Hadziyannis S, McGarvey MJ, et al. Mutation preventing formation of the hepatitis B e antigen in patients with chronic hepatitis B infection. *Lancet* 1989; 2: 588-590.
 64. Lok ASF, Akarca U, Greene S. Mutations in the pre-core region of hepatitis virus serve to enhance the stability of the secondary structure of the pre-genomic encapsidation signal. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: Z 4077-4081.

65. Tur-Kaspa R, Klein A, Aharonson S. Hepatitis B viral mutants are identicals in carriers from various ethnic origins and are associated with a range of liver disease severity. *Hepatology* 1992; 16: 1338-1342.
66. Laskus T, Persing DH, Nowicki MJ, Mosley JW, Rakela J. Nucleotide sequence analysis of the precore region in patients with fulminant hepatitis B in the United States. *Gastroenterology* 1993; 105: 1173-1178.
67. Feray C, Gigou M, Samuel D, Bernuau J, Bismuth H, Brechot C. Low prevalence of precore mutations in hepatitis B virus DNA in fulminant Hepatitis in France. *J Hepatol* 1993; 18: 119-122.
68. Omata M, Ehata T, Yokosuka O, Hosoda K, Ohto M. Mutations in the precore region of hepatitis B virus DNA in patients with fulminant and severe hepatitis. *N Engl J Med* 1991; 324: 1699-1704.
69. Okamoto H, Yotsumoto S, Akahane Y, et al. Hepatitis B viruses with precore region defects prevail in persistently infected hosts along with seroconversion to the antibody against e antigen. *J Virol* 1990; 64: 1298-1303.
70. Hasegawa K, Huang JK, Rogers SA, Blum HE, Liang TJ. Enhanced replication of a hepatitis B virus mutant associated with an epidemic of fulminant hepatitis. *J Virol* 1994; 68: 1651-1659.
71. Harrison TJ. Genetic variation in hepatitis B virus. *E J Gastroenterology & Hepatology* 1996; 8: 306-311.
72. Scaglioni PP, Melegari M, Wands JR. Biological properties of hepatitis B viral genomes with mutations in the precore promotor and precore open reading frame. *Virology* 1997; 233: 374-381.

73. Lok ASF, Akarca US, Greene S. Predictive value of precore hepatitis B virus mutations in spontaneous and interferon-induced hepatitis B e antigen clearance. *Hepatology* 1995; 21: 19-24.
74. Liang TJ, Hasegawa K, Rimon N, Wands JR, Ben-Porah E. A hepatitis B virus mutant associated with an epidemic of fulminant hepatitis. *N Engl J Med* 1991; 324: 1705-1709.
75. Akarca US, Lok ASF. Naturally occurring hepatitis B virus core gene mutations. *Hepatology* 1995; 22: 50-60.
76. Chan HLY, Hussain M, Lok ASF. Different hepatitis B virus genotypes are associated with different mutations in the core promoter and precore regions during hepatitis B e antigen seroconversion. *Hepatology* 1999; 29: 976-984.
77. Okamoto H, et al. Hepatitis B virus mutations in the core promoter for an e antigen-negative phenotype in carriers with antibody to e antigen. *J Virol* 1994; 68: 8102-8110.
78. Nishimono A, Hiraga M, Kohno K, et al. Mutations in the core promotor/enhancer II regions of naturally occurring hepatitis B virus variants and analysis of the effects on transcription activities. *Intervirology* 1995; 38: 290-294.
79. Sato S, Suzuki K, Akahane Y, et al. Hepatitis B virus strains with mutations in the core promotor in patients with fulminant hepatitis. *Ann Intern Med* 1995; 122: 241-248.
80. Laskus T, Rakela J Nowicki MJ, Persing DH. Hepatitis B virus core promotor sequence analysis in fulminant and chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 1995; 109: 1618-1623.
81. Baumert TF, Rogers SA, Hasegawa K, Liang TJ. Two core promotor mutations identified in a hepatitis B virus strain associated with

- fulminant hepatitis result in enhanced viral replication. *J Clin Invest* 1996; 98: Z 2268-2276.
82. Bozkaya H, Akarca US, Ayola B, Lok ASF. High degree of conservation in the hepatitis B virus core gene during immune tolerant phase in perinatally acquired chronic hepatitis B virus infection. *J Hepatol* 1997; 26: 508-516.
 83. Lee JH, Paglieroni TG, Holland PV, Zeldis JB. Chronic hepatitis B virus infection in an anti-HBc nonreactive blood donor variant virus or defective immune response. *Hepatology* 1992; 16: 24-30.
 84. Bhat RA, Ulrich PP, Vyas GN. Molecular characterization of a new variant of hepatitis B virus in a persistently infected homosexual man. *Hepatology* 1990; 11: 271-276.
 85. Fiordalisi G, Primi D, Tanzi E, Magni E, Incarbone C, Zanetti AR, et al. Hepatitis B virus gene heterogeneity in a familial cluster of anti-HBc negative chronic carriers. *J Med Virol* 1994; 42: 109-114.
 86. Valliammai T, Echevarria JM, Leon P, Tuset C, Harrison TJ. Amplification and sequence analysis of the precore and core region of the HBV genome from sera of Spanish patients with HBV₂-like infections. *J Med Virol* 1995; 46: 375-379.
 87. Tran A, Kremsdorf D, Capel F, et al. Emergence of and takeover by hepatitis B virus with rearrangements in the pre-S/S and pre-C/C genes during chronic HBV infection. *J Virol* 1991; 65: 3566-3574.
 88. Gerkin G, Kremsdorf D, Cepel F, et al. Hepatitis B defective virus with rearrangement in the preS gene during chronic HBV infection. *Virology* 1991; 183: 555-565.
 89. Minami M, Okanoke T, Nakajima E, Yasui K, Kigawa K, Kashima K. Significance of pre-S region defective hepatitis B virus that emerged

- during exacerbation of chronic type B hepatitis. *Hepatology* 1993; 17: 558-563.
90. Stirk HJ, Thornton KJM, Howard CR. A topological model for hepatitis B surface antigen. *Intervirology* 1992; 33: 148-158.
 91. Stevens CE, Alter HJ, Taylor PE, Zang EA, Harley EJ, Szmuness W. Hepatitis B vaccine on patients receiving hemodialysis: Immunogenicity and efficacy. *N Engl J Med* 1984; 311: 496-501.
 92. Zukerman AJ, Harrison TJ, Oon C. Mutants in the S region of hepatitis B virus. *Lancet* 1994; 343: 737-738.
 93. Zanetti A, Tanzi E, Manzillo G, Maio G, Sbreglia C, Caporaso N, Thomas HC. Hepatitis B variants in Europe. *Lancet* 1998; 2: 1132-1133.
 94. Carman WF, Zanetti AR, Karayannis P, Waters J, Manzillo G, Tanzi E, et al. Vaccine-induced escape mutant of hepatitis B virus. *Lancet* 1990; i: 325-329.
 95. Waters JA, Kennedy M, Voet P. Loss of the common «α» determinant of hepatitis B surface antigen by a vaccine-induced escape mutant. *J Clin Invest* 1992; 90: 2543-2547.
 96. Ghanny MG, Ayola B, Villamil FG, Gish RG, Rojter S, Vierling JM, et al. Hepatitis B virus S mutants in liver transplant recipients who were reinfected despite hepatitis B immune globulin prophylaxis. *Hepatology* 1998; 27: 213-222.
 97. Protzer-Knolle U, Naumann U, Bartenschlager R, Berg T, Hopf U, Meyer zum Bueschenfelde K-H, et al. Hepatitis B virus with antigenically altered hepatitis B surface antigen is selected by high-dose hepatitis B immune after liver transplantation. *Hepatology* 1998; 27: 254-263.

98. Carman WF. The clinical significance of surface antigen variants of hepatitis B virus. *J Viral Hep* 1997; 4: 11-20.
99. Harrison TJ, Hopes EA, Oon CJ, Zanetti AR, Zuckerman AJ. Independent emergence of a vaccine-induced escaped mutant of hepatitis B virus. *J Hepatol* 1991; 13(4): S105-107.
100. Lee PI, Chang LY, Lee CY, Huang LM, Chang MH. Detection of hepatitis B surface gene mutation in carrier children with or without immunoprophylaxis at birth. *J Infect Dis* 1997; 176: 427-430.
101. Tripples GA, Ma MM, Fischer KP, et al. Mutation in HBV RNA-dependent DNA polymerase confers resistance to lamivudine in vivo. *Hepatology* 1996; 24: 714-717.
102. Ling R, Mutimer D, Ahmed M, et al. Selection of mutations in the hepatitis B virus polymerase during therapy of transplant recipients with lamivudine. *Hepatology* 1996; 24: 711-713.
103. Fischer KP, Tyrrel DLJ. Generation of duck hepatitis B virus polymerase mutants through site-directed mutagenesis which demonstrate resistance to lamivudine in vitro. *Antimicrob Agents Chemoth* 1996; 40: 1957-1960.
104. Ladner SK, Miller TJ, King RW. The M539V polymerase variant of human hepatitis B virus demonstrates resistance to 2-deoxy-3-triacytidine and reduced ability to synthesize viral DNA. *Antimicrob Agents Chemother* 1998; 42: 2128-2131.
105. Buti M, Jardi R, Cotrina M, Rodriguez-Friars F, Esteban R, Guardia J. Transient emergence of hepatitis B variants in a patient with chronic hepatitis B resistant to lamivudine. *J Hepatol* 1998; 28: 510-513.

106. Dimou E, Papatheodoridis G, Hadziyannis S. Efficacy of long term lamivudine therapy in HBeAg negative chronic hepatitis B. *J Hepatol* 2000; 32(2): 98.
107. Feitelson MA, Duan L-X, Guo J, et al. X region deletion variants of hepatitis B virus in surface antigen-negative infections and non-A, non-B hepatitis. *J Infect Dis* 1995; 172: 713-722.
108. Feitelson MA, Duan L-X, Guo J, Blumberg BS. X region deletion mutants associated with surface antigen positive hepatitis B virus infections. *Gastroenterology* 1995; 108: 1810-1819.
109. Ushida T, Saitoh T, Shinzawa H. Mutations of the X region of hepatitis B virus and their clinical implications. *Pathol Int* 1997; 47(4): 183-193.
110. Warren KS, Heeney JL, Swan RA, et al. A new group of hepadnaviruses naturally infecting orangutans. *J Virol* 1999; 73: 7860-7865.
111. Okamoto H, Imai M, Tsuda F, et al. Point mutation in the S gene of the hepatitis B virus for a d/r or w/r subtypic change in two blood donors carrying a surface antigen of compound subtype adyr or adwr. *J Virol* 1987; 61: 3030-3034.
112. Mizokami M, Nakano T, Orito E, et al. Hepatitis B virus genotype assignment using restriction fragment length polymorphism patterns. *FEBS Lett* 1999; 450: 66-71.
113. Magnus LO, Norder H. Subtypes, genotypes and molecular epidemiology of the hepatitis B virus as reflected by sequence variability of the S gene. *Intervirology* 1995; 38: 24-34.
114. Usuda S, Okamoto H, Iwanari H, et al. Serological detection of hepatitis B virus genotypes by ELISA with monoclonal antibodies to

- type-specific epitopes in the preS2-region product. *J Virol Methods* 1999; 80: 97-112.
115. Liu CJ, Kao JH, Chen PJ, Lai MY, Chens DS. Molecular epidemiology of hepatitis B viral serotypes in Taiwan. *J Biomed Sci* 2002; 9: 166-170.
 116. Kao JH, Chen DS. Global control of hepatitis B virus infection. *Lancet Infect Dis* 2002; 2: 395-403.
 117. Margolis HS. Hepatitis B virus infection. *Bull World Health Organ* 1998; 76: 152-153.
 118. Kane M. Global program for control of hepatitis B infection. *Vaccine* 1995; 13 (1): 47-49.
 119. Margolis HS, Coleman PJ, Brown RE, Mast EE, Sheingold SH, Arevalo JA. Prevention of hepatitis B virus transmission by immunization: an economic analysis of current recommendations. *JAMA* 1995; 264: 1201-1208.
 120. Νταλέκος ΓΝ. Παθήσεις του ήπατος, των χοληφόρων οδών και του παγκρέατος. Ιατρικό τμήμα Λάρισας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Λάρισα 1999, σελ 15-47.
 121. Scheig R. Acute and chronic viral hepatitis. *Lippincotts Prim Care Pract* 1998; 2(4): 390-397.
 122. McQuillian GM, Townsend YR, Fields HA, Leahy M, Polk BF. Seroepidemiology of hepatitis B virus infection in the United States 1976 to 1980. *Am J Med* 1987; 87(3A): S5-S10.
 123. Stevens CE, Beasley RP, Tsui J, Lee WC. Vertical transmission of hepatitis B antigen in Taiwan. *N Engl J Med* 1975; 292: 771-774.
 124. Kane M. Control of hepatitis B virus infection through universal infant immunization with hepatitis B vaccine. In: *Viral hepatitis*

Management, Standards for the Future. Schering Plough International, p. 14.

125. Kouroumalis E, Skordilis P, Moschandrea J, Alexandrakis G, Charoulakis N, Tzardi M, Manousos O. Natural History of advanced hepatocellular carcinoma in Crete. Association with hepatitis C virus. *Eur J Gastroenterology* 1997.
126. Kouroumalis E, Skordilis P, Thermos K, Vasilaki A, Moschandrea J, Manousos O. Treatment of hepatocellular carcinoma with somatostatin. *Gut* 1998; 42: 442-447.
127. Kuper HE, Tzonou A, Kaklamani E, Hadziyannis S, Tassopoulos N, Lagiou P, Trichopoulos D, Sturer S. Hepatitis B and C viruses in the etiology of hepatocellular carcinoma; a study in Greece using third-generation assays. *Cancer Causes Control* 2000; 11(2): 171-175.
128. Βυσσούλης Χ, Χατζηγιάννης Σ, Παπαευαγγέλου Γ, Αφρουδάκης Α, Γιαννόπουλος Χ, Γκιουστόζι Α, Μερίκας Γ. Γεωγραφική κατανομή του αντιγόνου ηπατίτιδας στην Ελλάδα. *Νοσοκομειακά Χρονικά* 1972; 34: 5-10.
129. Kyriakis KP, Foudoulaki LE, Papoulia EI, Sofroniadou KE. Seroprevalence of hepatitis B surface antigen (HBsAg) among first-time and sporadic blood donors in Greece: 1991-1996. *Transfus Med* 2000; 10(3): 175-180.
130. Koulentaki M, Spanoudakis S, Kantidaki E, Drandakis P, Tsagarakis N, Biziagos E, Moschandrea J, Kouroumalis EA. Prevalence of hepatitis B and C markers in volunteer blood donors in Crete. A 5-year study. *J Viral Hepat* 1999; 6(3): 243-248.

131. Lionis C, Koulentaki M, Biziagos E, Kouroumalis E. Current prevalence of hepatitis A, B and C in a well-defined area in rural Crete, Greece. *J Viral Hepat* 1997; 4(1): 55-61.
132. Koulentaki M, Ergazaki M, Moschandrea J, Spanoudakis S, Tsagarakis N, Drandakis PE, Spandidos DA, Kouroumalis EA. Prevalence of hepatitis B and C markers in high-risk hospitalized patients in Crete: a five year observational study. *BMC Public Health* 2001; 1: 17
133. Zervou EK, Dalekos GN, Boumba DS, Tsianos EV. Value of anti-HBc screening of blood donors for prevention of HBV infection: results of a 3-year prospective study in Northwestern Greece. *Transfusion* 2001; 41: 652-658.
134. Dalekos GN, Zervou E, Karabini F, Tsianos EV. Prevalence of viral markers among refugees from southern Albania: increased incidence of infection with hepatitis A, B and D viruses. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1995; 7(6): 553-558.
135. Dalekos GN, Zervou E, Merkouropoulos MH, Tsianos EV. Prevalence of hepatitis B and C viruses infection in chronic alcoholics with or without liver disease in Ioannina, Greece. Low incidence of HCV infection. *Eur J Epidemiology* 1996; 12(1): 21-25.
136. Dalekos GN, Manousakis MN, Zervou E, et al. Immunologic and viral markers in the circulation of anti-HIV negative heroin addicts. *Eur J Clin Invest* 1993; 23: 219-225.
137. Syspa V, Hadjipaschali E, Hatzakis A. Prevalence, risk factors and evaluation of a screening strategy for chronic hepatitis C and B virus infections in healthy company employees. *Eur J Epidemiol* 2001; 17(8): 721-728.

138. Βενιζέλος Μ, Τσούτσου Π, Πλιάκα Α, Ζάχου Κ, Λιάσκος Χ, Μακρή Ε, Γουργουλιάνης Κ, Νταλέκος ΓΝ. Επιπολασμός HBsAg σε γενικό και νοσοκομειακό πληθυσμό της κεντρικής Ελλάδας: Πρόδρομα αποτελέσματα με τη χρήση ταχείας μεθόδου ανοσοαποτυπώματος. 7^ο Πανελλήνιο Ηπατολογικό Συνέδριο, 29 Μαρτίου-1 Απριλίου 2001, Αθήνα.
139. Tsakris A, Kyriakis KP, Chryssou S, Papoutsakis G. Seroprevalence of hepatitis B markers among female and transsexual sex workers in Athens, Greece. *Genitourinary Medicine* 1997; 73: 223-224.
140. Schiss ER, Sorrell MF, Maddrey WC. *Schiff's Diseases of the Liver*. 8th Edition, 1999; 1: 757-792.
141. Lai ME, Farci P, Figus A, Balestrieri A, Arnone M, Vyas GN: Hepatitis B virus DNA in the serum of Sardinian blood donors negative for the hepatitis B surface antigen. *Blood* 1989; 73: 17-19
142. Schreiber GB, Busch MP, Kleinman SH, Korelitz JJ for the Retrovirus Epidemiology Donor Study. The risk of transfusion-transmitted viral infections. *N Engl J Med* 1996; 334: 1685-1690.
143. Dodd RY, Notari EP 4th, Sstramer SL. Current prevalence and incidence of infectious disease markers and estimated window-period risk in the American Red Cross blood donor population. *Transfusion* 2002 Aug; 42(8): 975-979.
144. Nishioka Sde A, Gyorkos TW. Tattoos as risk factors for transfusion-transmitted diseases. *Int J Infect Dis* 2001; 5(1) :27-34.
145. Limentani AE, Elliott LM. An outbreak of hepatitis B from tattooing. *Lancet* 1979; 2: 86-88.

146. Kent GB, Brondum J, Keenlyside RA, LaFazia LM, Scott HD. A large outbreak of acupuncture – associated hepatitis B. *Am J Epidemiol* 1988; 127: 591-598.
147. Hou J, Liu Z, Gu F. Epidemiology and Prevention of Hepatitis B Virus Infection. *Int J Med Sci* 2005; 2: 50-57.
148. Kane A, Lloyd J, Zaffran M, Simonsen L, Kane M. Transmission of hepatitis B, hepatitis C and human immunodeficiency viruses through unsafe injections in the developing world: model-based regional estimates. *Bull World Health Organ* 1999; 77(10): 801-807.
149. Alter MJ, Hadler SC, Margolis HS, et al. The changing epidemiology of hepatitis B in the United States. Need for alternative vaccination strategies. *JAMA* 1990; 263: 1218-1222.
150. Holland CA, Ma Y, Moscicki B, Durako SJ, Levin L, Wilson CM. Seroprevalence and risk factors of hepatitis B, hepatitis C and human cytomegalovirus among HIV-infected and high-risk uninfected adolescents: findings of the REACH Study. Adolescent Medicine HIV/AIDS Research Network. *Sex Transm Dis* 2000; 27(5): 296-303.
151. Stevens CE, Neurath RA, Beasley RP, Szmuness W. HBeAg and anti-HBe detection by radioimmunoassay. Correlation with vertical transmission of hepatitis B virus in Taiwan. *J Med Virol* 1979; 3: 237-241.
152. Xu ZY, Liu CB, Francis DP, Purcell RH, Gun ZL, Duan SC, et al. Prevention of perinatal acquisition of hepatitis B virus carriage using vaccine: preliminary report of a randomized double – blind placebo – controlled and comparative trial. *Pediatrics* 1985; 76: 713-718.
153. Wong VC, Ip HM, Reesing HW, et al. Prevention of the HBsAg carrier state in newborn infants of mothers who are chronic carriers of

- HBsAg and HBeAg by administration of hepatitis B vaccine and hepatitis B immunoglobulin. Double-blind randomized placebo-controlled study. *Lancet* 1984; 1: 921-926.
154. Xu DZ, Yan YP, Choi BC, Xu JQ, Men K, Zhang JX, Liu ZH, Wang FS. Risk factors and mechanism of transplacental transmission of hepatitis B virus: a case-control study. *J Med Virol* 2002 May; 67(1): 20-26.
 155. Giraud P, Drouet J, Dupuy JM. Letter: Hepatitis B virus infection of children born to mothers with severe hepatitis. *Lancet* 1975; 2: 1088-1089.
 156. Beasley RP, Stevens CE, Shiao IS, Meng HC. Evidence against breast-feeding as a mechanism for vertical transmission of hepatitis B. *Lancet* 1975; 2: 740-741.
 157. Hill JB, Sheffield JS, Kim MJ, Alexander JM, Sercely B, Wendel GD. Risk of hepatitis B transmission in breast-fed infants of chronic hepatitis B carriers. *Obstet Gynecol* 2002 Jun; 99(6): 1049-1052.
 158. Hutin YJ, Harpaz R, Drobeniuc J, Melnic A, Ray C, Favorov M, et al. Injections given in healthcare settings as a major source of acute hepatitis B in Moldova. *Int J Epidemiol* 1999; 28: 782-6.
 159. Douvin C, Simon D, Zinelabidine H, Wirquin V, Perlemuter L, Dhumeaux D. An outbreak of hepatitis B in an endocrinology unit traced to a capillary-blood-sampling device. *N Engl J Med* 1990; 322: 57-8.
 160. Hutin YJ, Goldstein ST, Varma JK, O'Dair JB, Mast EE, Shapiro CN, et al. An outbreak of hospital acquired hepatitis B virus infection among patient receiving chronic hemodialysis. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1999; 20: 731-735.

161. Dienstag JL, Ryan DM. Occupational exposure to hepatitis B virus in hospital personnel: infection or immunization. *Am J Epidemiol* 1982; 115: 26-39.
162. Gerberding JL. The infected health care provider. *N Engl J Med* 1996; 334: 594-595.
163. Gitlin N. Hepatitis B: diagnosis, prevention and treatment. *Clinical Chemistry* 1997; 43:8(B) 1500-1506.
164. Bond WW, Favero MS, Petersen NJ, Gravelle CR, Ebert JW, Maynard JE. Survival of hepatitis B virus after drying and storage for 1 week. *Lancet* 1981; 1: 550-1.
165. Quale JM, Landman D, Wallace B, Atwood E, Ditore V, Fruchter G. Déjà vu: nosocomial hepatitis B virus transmission and finger stick monitoring. *Am J Med* 1998; 105: 296-301.
166. Centers for Disease Control and Prevention. Outbreaks of hepatitis B virus infection among hemodialysis patients – California, Nebraska and Texas. 1994 MMWR 1996; 45: 285-289.
167. Shulman N. Hepatitis associated antigen. *Am J Med* 1970; 49: 669-692.
168. Alter H, Seeff L, Kaplan P, et al. Type B Hepatitis: The infectivity of blood positive for e antigen and DNA polymerase after accidental needle stick exposure. *N Engl J Med* 1976; 295: 909-913.
169. Centers for Disease Control and Prevention, Recommendations for preventing transmission of infections among chronic hemodialysis patients. *MMWR* 2001; 50(No. RR-5): 1-43.
170. The Incident Investigation Team et al. Transmission of Hepatitis B to patients from four infected surgeons without hepatitis B e antigen. *N Engl J Med* 1997; 336: 178-184.

171. Harpaz R, Seidlein LV, Averhoff FM, et al. Transmission of hepatitis B virus to multiple patients from a surgeon without evidence of inadequate infection control. *N Engl J Med* 1996; 334: 549-554.
172. Turner DP, Zuckerman M, Alexander GJ, Waite J, Wreghitt T. Risk of inappropriate exclusion of organ donors by introduction of hepatitis B core antibody testing. *Transplantation* 1997; 63: 775-777.
173. Wachs ME, Amend WJ, Ascher NL, Bretan PN, Emond J, Lake JR. The risk of transmission of hepatitis B from HBsAg (-), HBcAb (-), HBIgM (-) organ donors. *Transplantation* 1995; 59: 230-34.
174. Hoft RH, Pflugfelder SC, Forster RK, Ullman S, Polack FM, Schiff ER. Clinical evidence for hepatitis B transmission resulting from corneal transplantation. *Cornea* 1997; 16: 132-137.
175. Caldwell SH. Hard times and imperfect organs. *Liver transplant Surg* 1997; 3: 181-184.
176. Douglas DD, Rakela J, Wright TL, Krom RAF, Wiesner RH. The clinical course of transplantation-associated de novo hepatitis B infection in the liver transplant recipient. *Liver Transplan Surg* 1997; 3: 105-11.
177. Prieto M, Gomez MD, Berenguer M, Cordoba J, Rayon JM, Pastor M, Garcia-Herola A, Nicolas D, Carrasco D, Orbis JF, Mir J, Berenguer J. De novo hepatitis B after liver transplantation from hepatitis B core antibody-positive donors in an area with high prevalence of anti-HBc positivity in the donor population. *Liver Transpl* 2001; 7(1): 51-58.
178. Jenison SA, Lemon SM, Baker LN, Newbold JE. Quantitative analysis of hepatitis B virus DNA in saliva and semen of chronically infected homosexual men. *J Infect Dis* 1987; 156: 299-307.

179. Karayannis P, Novick DM, Lok AS, Fowler MJ, Monjardino J, Thomas HC. Hepatitis B virus DNA in saliva, urine, and seminal fluid of carriers of hepatitis B e antigen. *Br Med J* 1985; 290: 1853-1855.
180. Scott RM, Snitban R, Bancroft WH, Alter HJ, Tingpalapong M. Experimental transmission of hepatitis B virus by semen and saliva. *J Infect Dis* 1980; 142: 67-71.
181. Bancroft WH, Snitbhan R, Scott RM, et al. Transmission of hepatitis B virus to gibbons by exposure to human saliva containing hepatitis B surface antigen. *J Infect Dis* 1977; 135: 79-85.
182. Hadler SC, Doto IL, Maynard JE, Smith J, Clark B, Mosley J, et al. Occupational risk of hepatitis B infection in hospital workers. *Infect Control* 1985; 6: 24-31.
183. Tokars JI, Alter MJ, Favero MS, Moyer LA, Miller E, Bland LA. National surveillance of dialysis associated diseases in the United States, 1993. *ASAIO* 1996; 42: 219-229.
184. Girndt M, Kohler H. Hepatitis B virus infection in hemodialysis patients. *Semin Nephrol* 2002 Jul; 22(4): 340-350.
185. Lettau LA, McCarthy JG, Smith MH, Hadler SC, Morse LJ, Ukena T, et al. An outbreak of severe hepatitis due to delta and hepatitis viruses in parenteral drug abusers and their contacts. *N Engl J Med* 1987; 317: 1256-61.
186. Polakoff S. Acute hepatitis B in Britain related to previous operations and dental treatment. *Br Med J* 1986; 293: 33-6.
187. Zervou EK, Gatselis NK, Xanthi E, Ziciadis K, Georgiadou SP, Dalekos GN. Intrafamilial spread of hepatitis B virus infection in Greece. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2005; 17: 911-15.

188. Malliori M, Syspa V, Psychogiou M, Touloumi G, Skoutelis A, Tassopoulos N, Hatzakis A, Stefanis C. A survey of bloodborne viruses and associated risk behaviours in Greek prisons. *Addiction* 1998 Feb; 93(2): 243-51.
189. Christodoulou DK, Dalekos GN, Merkouropoulos MH, Kistis KG, Georgisti G, Zervou E, Zachou K, Tsianos EV. Cryoglobulinemia due to chronic viral hepatitis infections is not a major problem in clinical practice. *Eur J Intern Med* 2001; 12(5): 435-41.
190. Blumberg BS, Alter HJ, Visnich S. A «new» antigen in leukemia sera. *JAMA* 1965; 191: 541-46.
191. Krugman S, Overby LR, Mushahwar IK, Ling CM, Frosner GG, Deinhardt F. Viral hepatitis type B. Studies on natural history and prevention re-examined. *N Engl J Med* 1979; 300: 101-106.
192. Theilmann L, Klinkert MQ, Gmelin K, Salfeld J, Schaller H, Pfaff E. Detection of pre-S1 proteins in serum and liver of HBsAg-positive patients: a new marker for hepatitis B virus infection. *Hepatology* 1986; 6: 186-190.
193. Budkowska A, Dubreuil P, Capel F, Pillot J. Hepatitis B virus pre-S gene encoded antigenic specificity and anti-pre-S antibody: relationship between anti-pre-s response and recovery. *Hepatology* 1986; 6: 360-368.
194. Fattovich G, Rugge M, Brollo L, et al. Clinical, virologic and histologic outcome following seroconversion from HBsAg to anti-HBe in chronic hepatitis type B. *Hepatology* 1986; 6: 167-172.
195. Hoofnagle JH, Dusheiko GM, Seef LB, Jones EA, Waggoner JG, Bales ZB. Seroconversion from hepatitis B e antigen to antibody in chronic type B hepatitis. *Ann Intern Med* 1981; 94: 744-748.

196. Hadler SC, Murphy BL, Schable CA, Heyward WL, Francis DP, Kane MA. Epidemiological analysis of the significance of low positive tests results for antibody to hepatitis B surface and core antigens. *J Clin Microbiol* 1984; 19: 521-525.
197. Chung HT, Lee STK, Lok ASF. Prevention of post-transfusion hepatitis B and C by screening for antibody to hepatitis C virus and antibody to HBcAg. *Hepatology* 1993; 18: 1045-1049.
198. Kapke G, Watson G, Sheffler S, et al. Comparison of the Chiron Quantiplex branched DNA (bDNA) assay and the Abbott Genostics solution hybridization assay for quantification of hepatitis B viral DNA. *J Viral Hepatitis* 1997; 4: 67-75.
199. Pawlotsky JM. Hepatitis B virus (HBV) DNA assays (methods and practical use) and viral kinetics. *J Hepatol* 2003; 39: 31-35.
200. Fong TL, Di Bisceglie AM, Biswas R, et al. High levels of viral replication during acute hepatitis B infection predict progression to chronicity. *J Med Virol* 1994; 43: 155-158.
201. Michalak TI, Pasquinelli C, Guilhot S, Chisari FV. Hepatitis B virus persistence after recovery from acute viral hepatitis. *J Clin Invest* 1994; 93: 230-239.
202. Zaaijer H, Ter Borg F, Cuypers H, et al. Comparison of methods for detection of hepatitis B virus DNA. *J Clin Microbiol* 1994; 32(9): 2088-2091.
203. Pawlotsky J, Bastie A, Lonjon I, et al. What technique should be used for routine detection and quantification of HBV DNA in clinical samples? *J Virol Methods* 1997; 65: 245-253.

204. Butterworth L, Prior S, Buda P, et al. Comparison of four methods for quantitative measurement of hepatitis B viral DNA. *J Hepatol* 1996; 24: 686-691.
205. Krajden M, Minor J, Cork L, et al. Multi-measurement method comparison of three commercial hepatitis B virus DNA quantification assays. *J Viral Hepatitis* 1998; 5: 415-422.
206. Kessler H, Pierer K, Dragon E, et al. Evaluation of a new assay for HBV DNA quantitation in patients with chronic hepatitis B. *Clin Diagn Virol* 1998; 37-43.
207. Noborg U, Gusdal A, Pisa EK, Hedrum A, Linch M. Automated quantitative analysis of hepatitis B virus DNA using the COBAS Amplicor HBV monitor test. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 2793-2797.
208. Paraskevis D, Haida C, Tassopoulos N, Raptopoulou M, Tsantoulas D, Papachristou H, Sypsa V, Hatzakis A. Development and assessment of a novel real-time PCR assay for quantitation of HBV DNA. *J Virol Methods* 2003; 110(1): 115.
209. Georgiadou SP, Zachou K, Rigopoulou E, Liaskos C, Mina P, Gerovasilis F, Makri E, Dalekos GN. Occult hepatitis B virus infection in Greek patients with chronic hepatitis C and in patients with diverse non-viral hepatic diseases. *J Viral Hepat* 2004.
210. EASL international consensus conference on hepatitis B, 13-14 September 2002, Geneva, Switzerland, Consensus statement. *J Hepatol* 2003; 38: 533-40.
211. Torbenson M, Thomas DL. Occult hepatitis B. *Lancet* 2002; 2: 479-486.

212. Uemoto S, Sugiyama K, Marusawa H, et al. Transmission of hepatitis B virus from hepatitis B core antibody-positive donors in living related liver transplants. *Transplantation* 1998; 65: 494-99.
213. Cacciola I, Pollicino T, Squadrito G, Cerenzia G, Orlando ME, Raimondo G. Occult hepatitis B virus infection in patients with chronic hepatitis C liver disease. *N Engl J Med* 1999; 341: 22-26.
214. Chemin I, Jeantet D, Kay A, Trepo C. Role of silent hepatitis B virus in chronic hepatitis B surface antigen liver disease. *Antiviral Res* 2001; 52: 117-23.
215. Porchon C, Kremsdorf D, Pol S, et al. Serum hepatitis C virus RNA and hepatitis B virus DNA in non-A, non-B post-transfusional and sporadic chronic hepatitis. *J Hepatol* 1992; 16: 184-89.
216. Whalley S, Manolakopoulos S, Brown D, et al. Emergence of lamivudine resistant HBV is not always associated with HBeAg positive status or a high pretreatment viral load in patients with chronic infection. *J Hepatol* 1998; 28(1): 111.
217. Perillo R, Regenstien F, Peters M, et al. Prednisone withdrawal followed by recombinant alpha interferon in the treatment of chronic type B hepatitis. A randomized, controlled trial. *Ann Intern Med* 1988; 109: 95-100.
218. Multimer D, Pillay D, Dragon E, et al. High pre-treatment serum hepatitis B virus titre predicts failure of lamivudine prophylaxis and graft re-infection after liver transplantation. *J Hepatology* 1999; 30: 715-721.
219. Chayama K, Suzuki Y, Kobayashi M, et al. Emergence and takeover of YMDD motif mutant hepatitis B virus during long-term lamivudine

- therapy and re-takeover by wild type after cessation of therapy. *Hepatology* 1998; 27: 1711-1716.
220. Suk A, Lok F. Hepatitis B infection: pathogenesis and management. *J Hepatol* 2000; 32: 89-97.
 221. De Jongh FE, Janssen H, de Man RA, Hop WC, Schalm SW, van Blankenstein M. Survival and prognostic indicators in hepatitis B surface antigen-positive cirrhosis of the liver. *Gastroenterology* 1992; 103: 1630-1635.
 222. Παπαδημητρίου ΚΣ. Ειδική Παθολογική Ανατομική (Συστηματική Παθολογία), τόμος 2^{ος}.
 223. Knodell RG, Ishak KG, Black WC, et al. Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis. *Hepatology* 1981; 1: 431-435.
 224. Desmet VJ, Gerber MA, Hoofnagle JH, Manns M, Scheuer PJ. Classification of chronic hepatitis: diagnosis, grading and staging. *Hepatology* 1994; 19: 1513-1520.
 225. Main J, Foster GR, Thomas HC. Diagnostic and management algorithms for chronic hepatitis B and C. In Zuckerman AJ, Thomas HC eds. *Viral Hepatitis* 1998; 621-625.
 226. Sher A, Gazzinelli RT, Jankovic D, et al. Cytokines as determinants of disease and disease interactions. *Braz J Med Biol Res* 1998; 31: 85-87.
 227. Del Prete G. The concept of type-1 and type-2 helper T cells and their cytokines in humans. *Int Rev Immunol* 1998; 16: 427-455.
 228. Chang K-M, Chisari FV. Immunopathogenesis of hepatitis B virus infection. *Clinics Liv Dis* 1999; 2: 221-239.
 229. Borrow P. Mechanisms of viral clearance and persistence. *J Viral Hepat* 1997; 4(2): 16-24.

230. Ferrari C, Penna A, Bertolletti E, et al. Cellular immune response to hepatitis B virus-encoded antigens in acute and chronic hepatitis B virus infection. *J Immunol* 1990; 145: 3442-3449.
231. Naytersina R, Fowler P, Guillot S, et al. HLA A2 restricted cytotoxic T lymphocyte responses to multiple hepatitis B surface antigen epitopes during hepatitis B infection. *J Immunol* 1993; 150: 4659-4671.
232. Tsai SL, Chen PI, Lai MY, et al. Acute exacerbations of chronic type B hepatitis are accompanied by increased T cell responses to hepatitis B core and e antigens. Implications for hepatitis B e antigen seroconversion. *J Clin Invest* 1992; 89: 87-96.
233. Nakamoto Y, Guidotti LG, Khulen CV, et al. Immune pathogenesis of hepatocellular carcinoma. *J Exp Med* 1998; 188: 341-348.
234. Millich DR, Peterson DL, Schodel F, Jones JE, Hughes JL. Preferential recognition of hepatitis B nucleocapsid antigens by TH1 or TH2 cell is epitope and major histocompatibility complex dependent. *J Virol* 1995; 69: 2776-2785.
235. Koff RS. Viral hepatitis. In diseases of the liver, 7th edition, Schiff L, Schiff ER (eds) JB Lippincott Company Philadelphia 1993; 492-541.
236. Lok ASF, Lai CL, Wu PC, et al. Spontaneous hepatitis B e antigen to antibody seroconversion and reversion in Chinese patients with chronic hepatitis B virus infection. *Gastroenterology* 1997; 92: 1839-1843.
237. Bortolotti F, Cardobbi P, Crivellaro C, et al. Long-term outcome of chronic hepatitis type B hepatitis in patients who acquire hepatitis B virus infection in childhood. *Gastroenterology* 1990; 99: 805-810.

238. Fattovich G, Giustina G, Schalm SW, et al. Clinical virologic and histologic outcome following seroconversion from HBeAg to anti-HBe in chronic hepatitis type B. *Hepatology* 1986; 6: 167-172.
239. Lok ASF, Lai CL. Acute exacerbations of Chinese patients with chronic hepatitis B virus (HBV) infection. Incidence, predisposing factors and etiology. *J Hepatol* 1990; 10: 29-34.
240. Liaw YT, Tai DI, Chu CM, et al. The development of cirrhosis in patients with chronic type B hepatitis: a prospective study. *Hepatology* 1988; 8: 493-496.
241. Weissberg JI, Andres LL, Smith CI, et al. Survival in chronic hepatitis B: an analysis of 379 patients. *An Intern Med* 1984; 101: 613.
242. Fattovich G, Brollo L, Giustina G, et al. Natural history and prognostic factors for chronic hepatitis type B. *Gut* 1991; 32: 294-298.
243. Fattovich G, Pantalena M, Zagni I, Realdi G, Schalm SW, Christensen E; European Concerted Action on Viral Hepatitis (EUROHEP). Effect of hepatitis B and C virus infections on the natural history of compensated cirrhosis: a cohort study of 297 patients. *Am J Gastroenterol* 2002; 97(11): 2886-95.
244. Niederau C, Heintges T, Lange S, et al. Long term follow-up of HBeAg-positive patients treated with interferon alpha for chronic hepatitis B. *N Engl Med* 1996; 334: 1422-1427.
245. Di Marco V, Lo Iacono O, Camma C, et al. The long-term course of chronic hepatitis B. *Hepatology* Jul 1999; 30: 257-264.
246. Carmann WF, Dourakis SP, Karayiannis P, et al. Incidence of hepatitis B viraemia, detected using the Polymerase Chain Reaction, after successful therapy of Hepatitis B Virus carriers with interferon-a. *J Med Virol* 1991; 34: 114-118.

247. Lok AS, Liang RH, Chiu EKW, et al. Reactivation of hepatitis B virus replication in patients receiving cytotoxic therapy. Report of a prospective study. *Gastroenterology* 1991; 100: 182-188.
248. Tur-Kaspa R, Laub O. Corticosteroids stimulate hepatitis B virus DNA, mRNA and protein production in a stable expression system. *J Virol* 1990; 11: 34-36.
249. Ντουράκης Σ, Δημητριάδου Ε, Deutsch Μ, και συν. Διάγνωση της ενεργοποίησews του ιού ηπατίτιδας Β μετά από χημειοθεραπεία με τον ποσοτικό προσδιορισμό του αντί-HBc IgM. *Ιατρική* 1998; 73: 431-434.
250. Fattovich G. Natural history and prognosis of hepatitis B. *Semin Liver Dis* 2003; 23(1): 47-58.
251. Hadziyannis SJ, Lieberman HM, Karvountzis MG, Shafritz D. Analysis of liver disease, nuclear HBcAg, viral replication and Hepatitis B Virus in liver and serum of HBeAg vs anti-HBe positive chronic hepatitis B virus infection. *Hepatology* 1983; 3: 652-662.
252. Realdi G, Fattovitch G, Hadziyannis S, et al. Survival and prognostic factors in 366 patients with compensated cirrhosis type B: a multicenter study. *J Hepatol* 1994; 21: 656-666.
253. Papatheodoridis GV, Delladetsima JK, Hatzakis A, Tassopoulos NC. Etiology and natural history of acute hepatitis superimposed on chronic HBsAg carriage. *Hepatology* 1994; 20: 297A.
254. Hadziyannis SJ. Hepatitis B e antigen negative chronic hepatitis B: from clinical recognition to pathogenesis and treatment. *Viral Hep Reviews* 1995; 1: 7-36.
255. Parkin D, Pisani P, Ferlay J. Estimates of the worldwide incidence of 18 major cancers in 1985. *Int J Cancer* 1993; 54: 594-606.

256. Rustgi VK. Epidemiology of hepatocellular carcinoma. *Gastroenterol Clin North Am* 1987; 16: 545-551.
257. Beasley RP. Hepatitis B virus. The major etiology of hepatocellular carcinoma. *Cancer* 1988; 61: 1942-1956.
258. Chang MH, Chen CJ, Las MS, et al. Universal hepatitis B vaccination in Taiwan and the incidence of hepatocellular carcinoma in children. Taiwan Childhood Hepatoma Study Group. *N Engl JMed* 1997; 336: 1855-1859.
259. Popper H, Roth L, Purcell RH, et al. Hepatocarcinogenicity of the woodchuck hepatitis virus. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84: 866-870.
260. Rizzetto M. Viral infections of the liver. In *Oxford Textbook of Clinical Hepatology*, Birtcher J, Benhamou J-P, McIntyre N, Rizzetto M, Rodes J (eds). Second edition, Oxford Medical Publications, Oxford University Press 1999; 827-922.
261. Nagaya T, Nakamura T, Tokino T, et al. The mode of hepatitis B virus DNA integration in chromosomes of human hepatocellular carcinoma. *Genes Dev* 1987; 1: 773-782.
262. Wang J, Chenivresse X, Henglein B, Brechot C. Hepatitis B virus integration in a cyclin A gene in a hepatocellular carcinoma. *Nature* 1991; 343: 555-557.
263. Henkler F F, Koshy R. Hepatitis B virus transcriptional activators: mechanisms and possible role in oncogenesis. *J Viral Hepat* 1996; 3(3): 109-21.
264. Lara-Pezzi E, Gomez-Gaviro MV, Galvez BG, et al. The hepatitis B virus X protein promotes tumor cell invasion by inducing membrane-

- type matrix metalloproteinase-1 and cyclooxygenase-2 expression. *J Clin Invest* 2002; 110: 1831-1838.
265. Kim CM, Koike K, Saito I, et al. HBx gene of hepatitis B virus induces liver cancer in transgenic mice. *Nature* 1991; 351: 317-320.
 266. Feitelson M, Zhu M, Duan LX, London WT. Hepatitis B X antigen and p53 are associated in vitro and liver tissues from patients with primary hepatocellular carcinoma. *Oncogene* 1993; 8: 1109-1117.
 267. Wang XW, Hussain SP, Huo TI, et al. Molecular pathogenesis of human hepatocellular carcinoma. *Toxicology* 2002 Dec; 27: 181-182:43-47.
 268. Buetow KH, Murray JC, Israel JL, et al. Loss of heterozygosity suggest tumor suppressor gene responsible for primary hepatocellular carcinoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 8852-8856.
 269. Chisari FV, Klopchin K, Moriyama T, et al. Molecular pathogenesis of hepatocellular carcinoma in hepatitis B virus transgenic mice. *Cell* 1989; 59: 1145-1156.
 270. Hino O, Kajino K, Umeda T, Arakawa Y. Understanding the hypercarcinogenic state in chronic hepatitis: a clue to the prevention of human hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol* 2002; 37(11): 883-887.
 271. Liaw YF. Role of Hepatitis C virus in dual and triple hepatitis virus infection. *Hepatology* 1995; 22: 1101-1108.
 272. Qian G, Ross RK, Yu MC, et al. A follow-up study of aflatoxin exposure and liver cancer risk in Shanghai, People's Republic of China. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1994; 3: 3-10.

273. Hassan MM, Hwang LY, Hatten CJ, et al. Risk factors for hepatocellular carcinoma: synergism of alcohol with viral hepatitis and diabetes mellitus. *Hepatology* 2002 Nov; 36(5): 1206-1213.
274. Tassopoulos N, Papaevangelou G, Roumeliotou-Karayannis A, Purcell R. Reactivation of chronic type B hepatitis presenting as acute viral hepatitis. *Ann Intern Med* 1985; 103: 481.
275. Navascues CA, Rodrigues M, Suarez A, et al. Acute exacerbation in chronic HBsAg carriers: is HCV implicated? *J Hepatol* 1993; 18: 260-261.
276. Yuen MF, Yuan HJ, Hui CK, Wong DK, Wong WM, Chan AO, Wong BC, Lai CL. A large population study of spontaneous HBeAg seroconversion and acute exacerbation of chronic hepatitis B infection: implications for antiviral therapy. *Gut* 2003; 52(3): 416-9.
277. Sheen IS, Liaw YF, Tai DI, Chu CM. Hepatic decompensation associated with hepatitis B e antigen clearance in chronic type B hepatitis. *Gastroenterol* 1985; 89: 732-735.
278. Chu CM. Natural history of chronic hepatitis B virus infection in adults with emphasison the occurrence of cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol Hepatol* 2000; 15: E25-30.
279. Kazemi-Shirazi L, Petermann D, Muller C. Hepatitis B virus DNA in sera and liver tissue of HBsAg negative patients with chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2000; 33: 785-790.
280. Squadrito G, Orlando ME, Pollicino T, et al. Virological profiles in patients with chronic hepatitis C and overt or occult HBV infection. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 1528-1623.

281. Ohkata K, Hayashi N, Yuki N, et al. Long-term follow-up of hepatitis B virus and hepatitis C virus replication levels in chronic hepatitis patients co-infected with both viruses. *J Med Virol* 1995; 46: 258-264.
282. Zarski JP, Bohn B, Bastie A, et al. Characteristics of patients with dual infection by hepatitis B and C viruses. *J Hepatol* 1998; 28: 27-33.
283. Hadziyannis SJ, Giannoulis G, Hadziyannis E, et al. Hepatitis C virus infection in Greece and its role in chronic liver disease and hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 1993; 17 (3): S72-S77.
284. Guptan RC, Thakur V, Raina V, Sarin SK. Alpha-interferon therapy in chronic hepatitis due to active dual infection with hepatitis B and C viruses. *J Gastroenterology Hepatol* 1999; 14: 893-898.
285. Fukuda R, Ishimura N, Hamamoto S, et al. Co-infection by serologically-silent hepatitis B virus may contribute to poor interferon response in patients with chronic hepatitis C by down-regulation of type-I interferon receptor gene expression in the liver. *J Med Virol* 2001; 63: 220-227.
286. Nirei K, Kaneko M, Moriyama M, Arakawa Y. The clinical features of chronic hepatitis C are not affected by the coexistence of hepatitis B virus DNA in patients negative for hepatitis B surface antigen. *Intervirology* 2000; 43: 95-101.
287. De Maria N, Colantoni A, Friedlander L, et al. The impact of previous HBV infection on the course of chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 3529-3536.
288. Giannini E, Ceppa P, Botta F, et al. Previous hepatitis B virus infection is associated with worse disease stage and occult hepatitis B virus infection has low prevalence and pathogenicity in hepatitis C virus-positive patients. *Liver* 2003; 23: 12-18.

289. Laskus T, Radkowski M, Lupa E, Horban A, et al. Prevalence of markers of hepatitis viruses in out-patient alcoholics. *J Hepatol* 1992; 15: 174-178.
290. Zignego AL, Foschi M, Laffi G, et al. « Inapparent » hepatitis B virus infection and hepatitis C virus replication in alcoholic subjects with and without liver disease. *Hepatology* 1994; 19: 577-582.
291. Shiomi S, Kuroki T, Minamitani S, et al. Effect of drinking on the outcome of cirrhosis in patients with hepatitis B or C. *J Gastroenterol Hepatol* 1992; 7: 274-276.
292. Larkin J, Clayton MM, Liu J, Feitelson MA. Chronic ethanol consumption stimulates hepatitis B virus gene expression and replication in transgenic mice. *Hepatology* 2001 Oct; 34(4 Pt 1): 792-797.
293. Chen DS. Public health measures to control hepatitis B virus infection in the developing countries of the Asia-Pacific region. *J Gastroenterol Hepatol* 2000; 15: E7-10.
294. Osinska H. The hepatitis B prevention education programme in Poland. *Vaccine* 2000; 18(1): S44-45.
295. Dienstag JL. Passive-active immunoprophylaxis after percutaneous exposure to hepatitis B virus (Editorial). *Hepatology* 1989; 10: 385-387.
296. Keyserling HL, West DJ, Hersley TM, et al. Antibody responses of healthy infants to a recombinant hepatitis B vaccine administered at two, four and twelve or fifteen months of age. *J Pediatr* 1994; 125: 67-69.
297. Papaevangelou G, Karvelis E, Alexiou D, et al. Evaluation of a combined tetravalent diphtheria, tetanus, whole-cell pertussis and

hepatitis B candidate vaccine administered to healthy infants according to a three-dose vaccination schedule. *Vaccine* 1995; 13: 175-178.

298. LeRoux-Roels G, Moreau E, Desombere I, Safary A. Safety and immunogenicity of a combined hepatitis A and B vaccine in young healthy adults. *Scand Gastroenterol* 1996; 31: 1027-1031.
299. Papaevangelou G. Current combined vaccines with hepatitis B. *Vaccine* 1998; 16: 569-572.
300. Pillot J, Poynard T, Elias A, et al. Weak immunogenicity of the preS2 sequence and lack of circumventing effect on the unresponsiveness to hepatitis B virus vaccine. *Vaccine* 1995; 13: 289-294.
301. Geissler M, Tokushige K, Chante CC, Zurawski VR-Jr, Wands JR. Cellular and humoral immune response to hepatitis B virus structural proteins in mice after DNA-based immunization. *Gastroenterology* 1997; 112: 1307-1320.
302. Davis HL, Michel M-L, Mancini M, et al. Direct gene transfer in skeletal muscle: plasmid DNA-based immunization against the hepatitis B virus surface antigen. *Vaccine* 1994; 12: 1503-1509.
303. Prince AM, Whalen R, Brotman B. Successful nucleic acid based immunization of newborn chimpanzees against hepatitis B virus. *Vaccine* 1997; 15: 916-919.
304. Papaevangelou G. Hepatitis B immunization programme: lessons learnt in Greece. *Vaccine* 1998; 16: 545-547.
305. Papaevangelou G. Perspectives on Viral Hepatitis Elimination in Europe. *Viral Hepatitis and Liver Disease* 1994; pp 435-438.
306. Lolekha S, Warachit B, Hirunyachote A, Bowonkiratikachorn P, West DJ, Poerschke G. Protective efficacy of hepatitis B vaccine without

HBIG in infants of HBeAg-positive carrier mothers in Thailand. *Vaccine* 2002; 20(31-32): 3739-43.

307. Le Hello C, Cohen P, Letellier P, Guillevin L. Suspected hepatitis B vaccination related vasculitis. *J Rheumatol* 1999; 26: 191-194.
308. Bui-Quang D, Thomas E, Riols M, et al. Cutaneous vasculitis after hepatitis B vaccination with recombinant vaccine in a renal transplant patient. *Presse Med* 1998; 27: 1321-1323.
309. Merigou D, Leaute-Labrese C, Louvet S, et al. Lichen planus in children: role of the campaign for hepatitis B vaccination. *Ann Dermatol Venereol* 1998; 125: 399-403.
310. Saywell CA, Wittal RA, Kossard S. Lichenoid reaction to hepatitis B vaccination. *Australas J Dermatol* 1997; 38: 152-154.
311. Barbaud A, Trechot P, Reichert PS, et al. Allergic mechanisms and urticaria/angioedema after hepatitis B immunization. *Br J Dermatol* 1998; 139: 925-926.
312. Poulton JK, Kauffman CL, Lutz LL, Sina B. Solitary mastocytoma arising at a hepatitis B vaccination site. *Cutis* 1999; 63: 37-40.
313. Confavreux C, Suissa S, Saddier P, et al. Vaccinations and the risk of relapse in multiple sclerosis. *Vaccines in Multiple Sclerosis Study Group. N Engl J Med* 2001; 344: 319-326.
314. Ascherio A, Zhang SM, Hernan MA, et al. Hepatitis B vaccination and the risk of multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2001; 344: 327-332.
315. Sadovnick AD, Scheifele DW. School-based hepatitis B vaccination programme and adolescent multiple sclerosis. *Lancet* 2000; 355: 549-550.
316. Zipp F, Weil JG, Einhaupl KM. No increase in demyelinating diseases after hepatitis B vaccination. *Nat Med* 1999; 5: 964-965.

317. Halsey NA, Duclos P, Damme P, et al. Hepatitis B vaccine and central nervous system demyelinating diseases. *Viral Hepatitis Prevention Board. Pediatr Infect Dis* 1999; 18: 23-24.
318. Bogdanos DP, Smith H, Ma Y, Baum H, Mieli-Vergani G, Vergani D. A study of molecular mimicry and immunological cross-reactivity between hepatitis B surface antigen and myelin mimics. *Clin Dev Immunol* 2005; 12(3): 217-24.
319. Szmuness W, Stevens CE, Harley EJ, et al. Hepatitis B vaccine: demonstration of efficacy in a controlled clinical trial in a high-risk population in the United States. *N Engl J Med* 1980; 303: 833-841.
320. Clements ML, Miskovsky E, Davidson M, et al. Effect of age on the immunogenicity of yeast recombinant hepatitis B vaccines containing surface antigen (S) or preS2+S antigens. *J Infect Dis* 1994; 170: 510-516.
321. Alper CA, Kruskal MS, Marcus-Bagley BS, et al. Genetic prediction of non-response to hepatitis B vaccine. *N Engl J Med* 1989; 321: 708-712.
322. Bloom BS, Hillman AL, Fendrick AM, Schwartz JS. A reappraisal of hepatitis B virus vaccination strategies using cost-effectiveness analysis. *Ann Intern Med* 1993; 118: 298-306.
323. Lee S, Lo K, Wu J, et al. Prevention of maternal-infant hepatitis B virus transmission by immunization: the role of serum hepatitis B virus DNA. *Hepatology* 1986; 6: 369-373.
324. Beasley RP, Hwang L, Lee GC, et al. Prevention of perinatally transmitted hepatitis B virus infections with hepatitis B immune globulin and hepatitis B vaccine. *Lancet* 1983; i: 1099-1102.

325. Watson B, West DJ, Chilkatowsky A, et al. Persistence of immunologic memory for 13 years in recipients of a recombinant hepatitis B vaccine. *Vaccine* 2001; 19: 3164-3168.
326. Wu JS, Hwang LY, Goodman KJ, et al. Hepatitis B vaccination in high-risk infants: 10 year follow-up. *J Infect Dis* 1999; 179: 1319-1325.
327. European Consensus Group on Hepatitis B Immunity. Are booster immunisations needed for lifelong hepatitis B immunity? *Lancet* 2000; 355: 561-565.
328. Stuve J, Aronsson B, Frenning B, et al. Seroconversion after additional vaccine doses to non-responders to three doses of intradermally or intramuscularly administered recombinant hepatitis B vaccine. *Scand J Infect Dis* 1994; 26: 468-470.
329. Clemens R, Sanger R, Kruppenbacher J, et al. Booster immunization of low and non-responders after a standard three dose hepatitis B vaccine schedule-results of a post-marketing surveillance. *Vaccine* 1997; 15: 349-352.
330. Jilg W, Schmidt M, Weinl B, et al. Immunogenicity of recombinant hepatitis B vaccine in dialysis patients. *J Hepatol* 1986; 3: 190-195.
331. Seaworth B, Drucker J, Starling J, et al. Hepatitis B vaccines in patients with chronic renal failure before dialysis. *J Infect Dis* 1988; 157: 332-337.
332. Dumann H, Meuer S, Meyer Zum Bueschenfelde KH, Koehler H. Hepatitis B vaccination and interleukin 2 receptor expression in chronic renal failure. *Kidney Int* 1990; 38: 1164-1168.
333. Sennesael JJ, Van der Niepen P, Verbeelen DL. Treatment with recombinant human erythropoietin increases antibody titers after

- hepatitis B vaccination in dialysis patients. *Kidney Inter* 1991; 40: 121-128.
334. Zuckermann JN, Zuckermann AJ, Symington I, et al. Evaluation of a new hepatitis B triple-antigen vaccine in inadequate responders to current vaccines. *Hepatology* 2001; 34: 798-802.
335. Kapoor D, Aggarwal SR, Singh NP, et al. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor enhances the efficacy of hepatitis B virus vaccine in previously unvaccinated haemodialysis patients. *J Viral Hepat* 1999; 6: 405-409.
336. Zuckermann AJ. Effects of hepatitis B virus mutants on efficacy of vaccination. *Lancet* 2000; 355: 1382-1384.
337. Hsu HY, Chang MH, Liaw SH, et al. Changes of hepatitis B surface antigen variants in carrier children before and after universal vaccination in Taiwan. *Hepatology* 1999; 30: 1312-1317.
338. Goldstein ST, Fiore AE. Toward the global elimination of hepatitis B virus transmission. *J Pediatr* 2001; 139: 343-345.
339. Zhao S, Xu Z, Lu Y. A mathematical model of hepatitis B virus transmission and its application for vaccination strategy in China. *Int J Epidemiol* 2000; 29: 744-752.
340. Da Villa G. Rationale for the infant and adolescent vaccination programmes in Italy. *Vaccine* 2000; 18: S31-34.
341. Al-Faleh FZ, Al-Jeffri M, Ramia S, et al. Seroepidemiology of hepatitis B virus infection in Saudi children 8 years after a mass hepatitis B vaccination programme. *J Infect* 1999; 38: 167-170.
342. Goh KT. Prevention and control of hepatitis B virus infection in Singapore. *Ann Acad Med Singapore* 1997; 26: 671-681.

343. Kao JH, Chen DS. Recent updates in hepatitis vaccination and the prevention of hepatocellular carcinoma. *Int J Cancer* 2002; 97: 269-271.
344. Mast EE, Alter MJ, Margolis HS. Strategies to prevent and control hepatitis B and C virus infections: a global perspective. *Vaccine* 1999; 17: 1730-1733.
345. Νταλέκος ΓΝ, Λιάσκος Χ, Ζάχου Κ, Μακρή Ε, Βενιζέλος Μ. Αντιμετώπιση ασυμπτωματικών ασθενών με διαταραχές ηπατικών ενζύμων. *Ηπατολογικό Ιατρείο και Ερευνητικό Εργαστήριο Παθολογίας, Τομέας Παθολογίας Ιατρικού Τμήματος Πανεπιστημίου Θεσσαλίας και Κ.Υ.Γόννων ΠΓΝ Λάρισας, Λάρισα* 2001.
346. Lok AS, Heathcote EJ, Hoofnagle JH. Management of hepatitis B: 2000 – Summary of a workshop. *Gastroenterol* 2001; 113: 1668-1674.
347. Tilg H. New insights into the mechanisms of interferon alpha: an immunoregulatory and anti-inflammatory cytokine. *Gastroenterol* 1997; 112: 1017-1021.
348. Foster GR. Interferon in host defense. *Semin Liver Dis* 1997; 17: 287-294.
349. Glue P, Fang JWS, et al. Peg-interferon-a2b: pharmacokinetics, pharmacodynamics, safety and preliminary efficacy data. *Hepatology* 1999; 30: 189.
350. Korenman J, Baker B, Waggoner J, Everhart JE, Di Bisceglie AM, Hoofnagle JH. Long-term remission of chronic hepatitis B after alpha-interferon therapy. *Ann Intern Med* 1991; 114: 629-34.
351. Teuber G, Dienes HP, Meyer Zum Buschenfelde KH, Gerken G. Long-term follow-up of patients with chronic hepatitis B after interferon treatment. *Z Gastroenterol* 1996; 34(4): 230-6.

352. Perillo RP, Schiff ER, Davis GL, et al. A randomized, controlled trial of interferon alpha-2b alone and after prednisone withdrawal for the treatment of chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 1990; 323: 295-301.
353. Janssen HL, Gerken G, Carreno V, Marcellin P, Naoumov NV, et al. Interferon alpha for chronic hepatitis B infection: Increased efficacy of prolonged treatment. The European Concerted Action on Viral Hepatitis (EUROHEP). *Hepatology* 1999; 30: 238-43.
354. Wong DK, Cheung AM, et al. Effect of alpha interferon treatment in patients with hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B. A metanalysis. *Ann Intern Med* 1993; 119: 312-23.
355. Fattovich G, Farci P, Rugge M, et al. A randomized controlled trial of lymphoblastoid interferon- α in patients with chronic hepatitis B lacking HBeAg. *Hepatology* 1992; 15: 584-589.
356. Manesis EK, Hadziyannis SJ. Interferon alpha treatment and retreatment of hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B. *Gastroenterol* 2001; 121: 101-109.
357. Hoofnagle JH, Peters M, Mullen KD, et al. Randomized controlled trial of recombinant human α -interferon in patients with chronic hepatitis B. *Gastroenterol* 1988; 95: 1318-25.
358. Brook MG, Karyiannis P, Thomas HC. Which patients with chronic hepatitis B infection will respond to α -interferon therapy? A statistical analysis of predictive factors. *Hepatology* 1989; 10: 761-3.
359. Hoofnagle GH, Lau D. Chronic viral hepatitis – benefits of current therapies. *N Engl J Med* 1996; 334: 1470-1.
360. Lok AS, et al. A controlled trial of interferon with or without prednisone priming for chronic hepatitis B. *Gastroenterol* 1992; 102: 2091-97.

361. Hoofnagle JH, et al. Interferon-alpha for patients with clinically apparent cirrhosis due to chronic hepatitis B. *Gastroenterol* 1993; 104: 1116-21.
362. Hoofnagle JH. Therapy of acute and chronic viral hepatitis. *Adv Intern Med* 1994; 39: 241-275.
363. Cohard M, Poynard T, Mathurin P, Zarski JP. Prednisone-interferon combination in the treatment of chronic hepatitis B: direct and indirect metanalysis. *Hepatology* 1994; 20: 1390-8.
364. Renault PF, Hoofnagle JH. Side effects of alpha interferon. *Semin Liver Dis* 1989; 9: 273-7.
365. Dalekos GN, Christodoulou D, Kistis KG, Zervou EK, Hatzis J, Tsianos EV. A prospective evaluation of dermatological side-effects during alpha-interferon therapy for chronic viral hepatitis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1998; 10(11): 933-9.
366. Dalekos GN, Hatzis J, Tsianos EV. Dermatologic disease during interferon-alpha therapy for chronic viral hepatitis. *Ann Intern Med* 1998; 128(5):409-10.
367. Lin SM, Sheen IS, Chien RN, Chu SM, Liaw YF. Long-term beneficial effect of interferon therapy in patients with chronic hepatitis B virus infection. *Hepatology* 1999; 29: 971-5.
368. Papatheodoridis GV, Manesis E, Tsiopou M, Papadimitropoulos V, Hadziyannis SJ. The long-term outcome of interferon alpha treated and untreated patients with HBeAg negative chronic hepatitis B. *Hepatology* 1999; 30: 343A.
369. Oon CJ. Long-term survival following treatment of hepatocellular carcinoma in Singapore: evaluation of interferon in the prophylaxis of

- high-risk pre-cancerous conditions. *Cancer Chemother Pharmacol* 1992; 31(1): 137-142.
370. Ikeda K, Saitoh S, Suzuki Y, Kobayashi M, Tsubota A, Fukusa M, Koida I, et al. Interferon decreases hepatocellular carcinogenesis in patients with cirrhosis caused by the hepatitis B virus. *Cancer* 1998; 82: 827-35.
 371. Fattovich G, Giustina G, Realdi G, Corrocher R, Schalm SW. Long-term outcome of hepatitis B e antigen-positive patients with compensated cirrhosis treated with interferon alpha. *Hepatology* 1997; 26: 1338-1342.
 372. International Interferon-a Hepatocellular Carcinoma Study Group. Effect of interferon-a on progression of cirrhosis to hepatocellular carcinoma: a retrospective cohort study. *Lancet* 1998; 351: 1535-39.
 373. Torresi J, Locarnini S. Antiviral chemotherapy for the treatment of hepatitis B virus infections. *Gastroenterol* 2000; 118: 83-103.
 374. Mortaleda G, Saputelli J, Aldrich CE, et al. Lack of effect of antiviral therapy in nondividing hepatocyte cultures on the closed circular DNA of woodchuck hepatitis virus. *J Virol* 1997; 71: 9392.
 375. Kruining G, Heitjink RA, Schalm SW. Antiviral agents in hepatitis B virus transfected cell lines: inhibitory and cytotoxic effects related to time of treatment. *J Hepatol* 1995; 22: 263.
 376. Boni C, Bertoletti A, Penna A, et al. Lamivudine treatment can restore T cell responsiveness in chronic hepatitis B. *J Clin Invest* 1998; 102: 968.
 377. Lai CL, Chien RN, Leung NW, Chang TT, et al. A one-year trial of lamivudine for chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 1998; 339: 61.

378. Dienstag JL, Schiff ER, Wright TL, Perillo RP, et al. Lamivudine as initial treatment for chronic hepatitis B in the United States. *N Engl J Med* 1999; 341: 1256.
379. Schalm SW, Heathcote J, Cianciara J, Farrell G, et al. Lamivudine and alpha interferon combination treatment of patients with chronic hepatitis B infection: a randomized trial. *Gut* 2000; 46: 562.
380. Liaw YF, Leung NW, Chang TT, Guan R, et al. Effects of extended lamivudine therapy in Asian patients with chronic hepatitis B. Asia Hepatitis Lamivudine Study Group. *Gastroenterol* 2000; 119: 172.
381. Leung NW, Lai CL, Chang TT, Guan R, Lee CM, et al. On behalf of the Asia Hepatitis Lamivudine Study Group. Extended lamivudine treatment in patients with chronic hepatitis B enhances hepatitis B e antigen seroconversion rates: Results after three years of therapy. *Hepatology* 2001; 33: 1527.
382. Guan R, Lai CL, Liaw YF, et al. Efficacy and safety of 5 years lamivudine treatment of Chinese patients with chronic hepatitis B. *J (abstract). Gastroenterol Hepatol* 2001; 16(1): A60 Abstract 187.
383. Jonas MM, Kelly DA, Mizerski J, Badia IB, Areias JA, Schwarz KB, et al. International Pediatric Lamivudine Investigator Group. Clinical trial of lamivudine in children with chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 2002; 346: 1706.
384. Chien RN, Liaw YF, Atkins M, for Asian Hepatitis Lamivudine Trial Group. Pretherapy alanine transaminase level as a determinant for hepatitis B e antigen seroconversion during lamivudine therapy in patients with chronic hepatitis B. *Hepatology* 1999; 30: 770.
385. Perillo RP, Lai CL, Liaw YF, Dienstag JL, Schiff ER, Schalm SW, Heathcote EJ, Brown NA, Atkins M, Woessner M, Gardner SD.

- Predictors of HBeAg loss after lamivudine treatment for chronic hepatitis B. *Hepatology* 2002; 36: 186.
386. Rizzetto M. Efficacy of lamivudine in HBeAg-negative chronic hepatitis B. *J Med Virol* 2002; 66: 435.
 387. Gaia S, Volpes R, Smedile A, Paganin S, Actis CG, Rizzetto M. Lamivudine in anti-HBeAg positive chronic hepatitis B: response after one year of treatment. *J Hepatol* 2000; 32(2): 112.
 388. Tassopoulos NC, Volpes R, Pastore G, Heathcote J, Buti M, et al. Efficacy of lamivudine in patients with hepatitis B e antigen-negative/hepatitis B virus DNA-positive (precore mutant) chronic hepatitis B. Lamivudine Precore Mutant Study Group. *Hepatology* 1999; 29: 889.
 389. Santantonio T, Mazzola M, Iacovazzi T, Miglietta A, Guastadisegni A, Pastore G. Long-term follow-up of patients with anti-HBe/HBV DNA-positive chronic hepatitis B treated for twelve months with lamivudine. *J Hepatol* 2000; 32: 300.
 390. Buti M, Cotrina M, Jardi R, et al. Two years of lamivudine therapy in anti-HBe-positive patients with chronic hepatitis B. *J Viral Hepat* 2001; 8: 270.
 391. Hadziyannis SJ, Papatheodoridis GV, Dimou E, et al. Efficacy of long-term lamivudine monotherapy in patients with hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B. *Hepatology* 2000; 32: 847-51.
 392. Perillo PR, Wright T, Rakela J, Levy G, Schiff E, Gish R, et al. The Lamivudine North American Transplant Group. A multicenter United States-Canadian Trial to assess lamivudine monotherapy before and after liver transplantation for chronic hepatitis B. *Hepatology* 2001; 33: 424.

393. Fontana RJ, Keefe EB, Carey W, Fried M, Reddy R, Kowdley KV, et al; for the National Institutes of Health Hepatitis B Virus Orthotopic Liver Transplantation Study Group. Effect of lamivudine treatment on survival of 309 North American patients awaiting liver transplantation for chronic hepatitis B. *Liver Transpl.* 2002; 8: 433.
394. Fontana RJ, Hann HW, Perillo RP, Vierling JM, Wright T, Rakela J, et al. Determinants of early mortality in patients with decompensated chronic hepatitis B treated with antiviral therapy. *Gastroenterol* 2002; 123: 719.
395. Conjeevaram HS, Lok ASF. Management of chronic hepatitis B. *J Hepatol* 2003; 38: 90-103.
396. Colquhoun SD, Belle SH, Samuel D, Pruett TL, Teperman LW. Transplantation in the hepatitis B patient and current therapies to prevent recurrence. *Semin Liver Dis* 2000; 20(1): 7-12.
397. Perillo R, Rakela J, Dienstag J, Levy G, Martin P, et al. Multicenter study of lamivudine therapy for hepatitis B after liver transplantation. Lamivudine Transplant Group. *Hepatology* 1999; 29: 1581.
398. Honkoop P, de Man RA, Niesters HG, Zondervan PE, Schalm SW. Acute exacerbation of chronic hepatitis B virus infection after withdrawal of lamivudine therapy. *Hepatology* 2000; 32: 635.
399. Leung NW, Liaw YF, Chang TT, Guan R, Lee CM, Ng KY, Lim SG, Nicholls GJ, Dent JC. Durable HBeAg response in Chinese patients treated with lamivudine (abstract). *Hepatology* 2001; 34: 348A.
400. Song BC, Suh DJ, Lee HC, Chung YH, Lee YS. Hepatitis B e antigen seroconversion after lamivudine therapy is not durable in patient with chronic hepatitis B in Korea. *Hepatology* 2000; 32: 803.

401. Chien RN, Liaw YF, Tsai SL, et al. HBV genotype is the major factor for durability of HBeAg responses to lamivudine therapy. *Gastroenterol J Taiwan* 2002; 19: 65.
402. Leung N, Lai CL, Liaw YF. The effect of longer duration of harbouring lamivudine-resistant hepatitis B virus (YMDD mutants) on liver histology during 3 years lamivudine therapy in Chinese patients (abstract). *Hepatology* 2001; 34: 348A.
403. Papatheodoridis GV, Dimou E, Laras A, Papadimitropoulos V, Hadziyannis S. Course of virological breakthroughs under long-term lamivudine in HBeAg-negative precore mutant HBV liver disease. *Hepatology* 2002; 36: 219.
404. Zhang X, Liu C, Gong Q, Zhang S, Zhang D, Lu Z, Wang Y. Evolution of wild type and mutants of the YMDD motif of hepatitis B virus polymerase during lamivudine therapy. *J Gastroenterol Hepatol* 2003; 18(12): 1353-7.
405. Allen ML, Deslauliers M, Andrews CW, et al. Identification and characterization of mutations in hepatitis B virus resistance to lamivudine. *Hepatology* 1998; 27: 1670.
406. Gilson SJ, Chopra KB, Newell AM, Murray-Lyon IM, Nelson MR, Rice SJ, et al. A placebo-controlled phase I/II study of adefovir dipivoxil in patients with chronic hepatitis B virus infection. *J Viral Hepatol* 1999; 6: 387.
407. Marcellin P, Chang TT, Lim SG, et al. A double-blind, randomized, placebo-controlled study of adefovir dipivoxil (ADV) for the treatment of patients with HBeAg (+) chronic hepatitis B infection: 48 weeks results (abstract). *Hepatology* 2001; 34: 340A.

408. Marcellin P, Goodman Z, Chang TT, Lim SG, et al. Histological improvement in HBeAg positive chronic hepatitis B patients treated with adefovir dipivoxil (abstract). *J Hepatol* 2002; 36(1): 8.
409. Hadziyannis S, Tassopoulos N, Heathcote E, Chang TT, Kitis G, Rizzetto M, Marcellin P, et al. A double-blind, randomized, placebo controlled study of adefovir dipivoxil (ADV) for presumed precore mutant chronic hepatitis B: 48 weeks results (abstract). *J Hepatol* 2002; 36(1): 4.
410. Xiong X, Yang H, Westland CE, Zou R, Gibbs CS. In vitro evaluation of hepatitis B virus polymerase mutations associated with famciclovir resistance. *Hepatology* 2000; 31: 219-24.
411. Xiong X, Flores C, Yang H, Toole JJ, Gibbs CS. Mutations in hepatitis B DNA polymerase associated with resistance to lamivudine do not confer resistance to adefovir in vitro. *Hepatology* 1998; 28: 1669-73.
412. Peters M, Hann HW, Martin P, et al. Adefovir dipivoxil (ADV) alone and on combination with lamivudine (LAM) suppresses (YMDD) mutant hepatitis B virus replication: 48 week preliminary analysis (abstract). *Hepatology* 2002; 36: 374A.
413. Shaw T, Mok SS, Locarnini SA. Inhibition of hepatitis B virus DNA polymerase by enantiomers of penciclovir triphosphate and metabolic basis for selective inhibition of HBV replication by penciclovir. *Hepatology* 1996; 24: 996-1002.
414. Dannaoui E, Trepo C, Zoulim F. Inhibitory effect of penciclovir-triphosphate on duck hepatitis B virus reverse transcription. *Antiviral Chem Chemother* 1997; 8: 38-46.

415. Νταλέκος ΓΝ. Φαμσικλοβίρη στη χρόνια ηπατίτιδα Β. 1^ο Μονοθεματικό Συμπόσιο – Ηπατίτιδα Β 2000, Αθήνα 2000, σελ 122-128.
416. De Man RA, Marcellin P, Habal F, Despond P, Wright T, Rose T, Jurewicz R, Young C. A randomized, placebo-controlled study on the efficacy of 12 month famciclovir treatment in patients with chronic hepatitis B e antigen-positive hepatitis B. *Hepatology* 2000; 32: 413.
417. Trinh H, Lang W, Kessler HA, Fanf L, Wang LH, et al. Dose range study of pharmacokinetics, safety and preliminary antiviral activity of emtricitabine in adults with hepatitis B virus infection. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46: 1734.
418. Tassopoulos N, Hadziyannis S, Cianciara J, Rizzetto M, Schiff ER, Pastore G, Rutkiewicz V, Thomas N, Deniski G, Joshi S. Entecavir is effective in treating patients with chronic hepatitis B who have failed lamivudine therapy (abstract). *Hepatology* 2001; 34: 340A.
419. Levine S, Hernandez D, Yamanaka G, Zhang S, Rose R, Weinheimer S, Colonno RJ. Efficacies of entecavir against lamivudine-resistant hepatitis B virus replication and recombinant polymerases in vitro. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46: 2525.
420. Lau GK, Liang R, Lee CK, Yuen ST, Hou J, Lim WL, et al. Clearance of persistent hepatitis B virus infection in Chinese bone marrow transplant recipients whose donors were anti-HBc(+) and HBsAg(+). *J Infect Dis* 1998; 178: 1585-91.
421. Couillin I, Pol S, Mancini M, Driss F, Brechot C, Tiollais P, et al. Specific vaccine therapy in chronic hepatitis B: induction of T cell proliferative responses specific for envelope antigens. *J Infect Dis* 1999; 180: 15-26.

422. Heathcote J, McHutchison J, Lee S, Tong M, Benner K, Minuk G, et al. A pilot study of the CY-1899 T-cell vaccine in subjects chronically infected with hepatitis B virus. The CY 1899 t-Cell Vaccine Group. *Hepatology* 1999; 30: 531-6.
423. Davis HL. DNA-based vaccination against hepatitis B virus. *Adv Drug Deliv Rev* 1996; 21(1): 33-47.
424. Davis HL, Brazolot-Millan CL, Mancini M, et al. DNA-based immunization against hepatitis B surface antigen (HBsAg) in normal and HBsAg-transgenic mice. *Vaccine* 1997; 15(8): 849-852.
425. Geeissler M, Tokushige K, Chante CC, Zurawski VR Jr, Wands JR. Cellular and humoral immune response to hepatitis B virus structural proteins in mice after DNA-based immunization. *Gastroenterology* 1997; 112: 1307-20.
426. Shimizu Y, Guidotti L, Fowler P, et al. Dendritic cells immunization breaks cytotoxic T lymphocyte tolerance in hepatitis B virus transgenic mice. *J Immunol* 1998; 161(9): 4520-29.
427. Schirmbeck R, Wild J, Stober D, et al. Ongoing murine T1 or T2 immune responses to the hepatitis B surface antigen are excluded from the liver that expresses transgene-encoded hepatitis B surface antigen. *J Immunol* 2000; 164: 4235-43.
428. Multimer D, Naoumov N, Honkoop P, Marinos G, et al. Combination alpha-interferon and lamivudine therapy for alpha-interferon resistant chronic hepatitis B infection: results of a pilot study. *J Hepatol* 1998; 28: 923-929.
429. Barbarini G, Zechini F, Pellicelli A, Spallanzani L, Francavilla R, et al. Long-term efficacy of interferon alpha-2b and lamivudine in combination compared to lamivudine monotherapy in patients with

- chronic hepatitis B. An Italian multicenter, randomized trial (abstract). *Hepatology* 2001; 34: 318A.
430. Serfaty L, Thabut D, Zoulim F, Andreani T, et al. Sequential treatment with lamivudine and interferon monotherapies in patients with chronic hepatitis B not responding with interferon alone: results of a pilot study. *Hepatology* 2001; 34: 573-77.
431. Santantonio T, Niro GA, Sinisi E, Leandro G, Insalata M, Guastadisegni A, et al. Lamivudine/interferon combination therapy in anti-HBe positive chronic hepatitis B patients: a controlled pilot study. *J Hepatol* 2002; 36: 799.
432. Schiff E, Karayalcin S, Grimm I, Perillo R, Dienstag J, et al and the International Lamivudine Investigator Group. A placebo-controlled study of lamivudine and interferon alpha-2b in patients with chronic hepatitis B who previously failed interferon therapy (abstract). *Hepatology* 1998; 28: 388A.
433. Lau GK, Tsiang M, Hou J, Yuen S, Carman WF, Zhang L, Gibbs CS, Lam S. Combination therapy with lamivudine and famciclovir for chronic hepatitis B-infected Chinese patients: a viral dynamics study. *Hepatology* 2000; 32: 394.

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

**ΔΗΜΟΓΡΑΦΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ
ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΧΡΟΝΙΑ ΛΟΙΜΩΞΗ ΑΠΟ
ΤΟΝ ΙΟ ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ Β ΣΤΗΝ
ΠΕΡΙΟΧΗ ΤΗΣ ΚΕΝΤΡΙΚΗΣ ΕΛΛΑΔΑΣ**

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η ηπατίτιδα Β (HBV) είναι ένα παγκόσμιο πρόβλημα δημόσιας υγείας. Ενδημεί στην Ασία, την Αφρική, τη Νότια Ευρώπη και τη Λατινική Αμερική, όπου γενικά ο επιπολασμός του HBsAg στο γενικό πληθυσμό κυμαίνεται από 2-20%. Περίπου 2 δισεκατομμύρια άνθρωποι, γύρω στο 1/3 του πληθυσμού της γης, έχουν ορολογικούς δείκτες προηγούμενης ή συνεχιζόμενης λοίμωξης από τον HBV.^{1,2} Οι «σιωπηλοί φορείς» του ιού αποτελούν μία διαρκή δεξαμενή ενδεχόμενης διασποράς της μόλυνσης, αλλά και οι ίδιοι κινδυνεύουν από τις μακροχρόνιες επιπλοκές της νόσου. Παγκοσμίως οι 350.000.000 ασθενείς με χρόνια λοίμωξη από τον HBV έχουν ετήσιο κίνδυνο ανάπτυξης ηπατικής νόσου σχετιζόμενης με τον HBV 15-25%.³ Κάθε χρόνο συμβαίνουν περίπου 1.500.000-2.000.000 θάνατοι που οφείλονται περισσότερο στις μακροχρόνιες επιπλοκές της χρόνιας ηπατίτιδας Β (κίρρωση, πυλαία υπέρταση, ανάπτυξη ηπατοκυτταρικού καρκίνου) παρά στις αντίστοιχες πρώιμες επιπλοκές της οξείας λοίμωξης.^{2,4} Στις Η.Π.Α., καταγράφονται περίπου 300.000 νέα κρούσματα ηπατίτιδας Β κάθε χρόνο.⁵

Οι Η.Π.Α., η Δυτική και Βόρεια Ευρώπη, η Αυστραλία και η Νέα Ζηλανδία έχουν χαμηλό επιπολασμό του HBsAg (περίπου 0,1-1,5%). Σε ενδιάμεσης ενδημικότητας περιοχές όπως οι Μεσογειακές χώρες, η Ιαπωνία, η Ινδία και η Σιγκαπούρη το ποσοστό αυτό ανέρχεται στο 2-7%. Περιοχές με επιπολασμό του HBsAg >8% (υψηλής ενδημικότητας) είναι η Κίνα, η Νοτιοανατολική Ασία, η Μέση Ανατολή και η Λατινική Αμερική. Σ' αυτές τις περιοχές, το 70-90% του πληθυσμού έχει ορολογικούς δείκτες παρελθούσας λοίμωξης από τον HBV. Στις Η.Π.Α., οι Αφρο-αμερικανοί, οι Ισπανόφωνοι και οι Ασιάτες έχουν υψηλότερα ποσοστά λοίμωξης από το λευκό πληθυσμό.⁶ Άλλες

ομάδες πληθυσμού με υψηλά ποσοστά λοίμωξης είναι οι Εσκιμώοι της Αλάσκας, οι κάτοικοι των νησιών του Ειρηνικού στην Ασία και οι Αυστραλοί ιθαγενείς.

Στις χώρες με υψηλή ενδημικότητα, η μετάδοση γίνεται κυρίως είτε κάθετα από τη μητέρα στο νεογνό είτε οριζόντια από τους γονείς στα παιδιά κατά τα 5 πρώτα χρόνια της ζωής.⁷ Αντίθετα, η σεξουαλική μετάδοση φαίνεται να αποτελεί το σημαντικότερο τρόπο μόλυνσης στις αναπτυγμένες χώρες. Στις ενδιάμεσες ενδημικότητας χώρες η μετάδοση αφορά σε όλες τις ηλικίες, αλλά η πρώιμη παιδική ηλικία φαίνεται να είναι η ομάδα με τον υψηλότερο κίνδυνο.

Η χώρα μας παρουσιάζει ενδιάμεση ενδημικότητα λοίμωξης από τον HBV:^{4,8}

- Συχνότητα HBsAg 2-7% (υπήρχαν στο παρελθόν και ενδημικές περιοχές με HBsAg >8%, π.χ. Αρχάγγελος Ρόδου, Πλατύ Ημαθίας, Αλόννησος, Θράκη). Στις μέρες μας τα στοιχεία είναι ελλιπή για την παρουσία περιοχών θυλάκων του νοσήματος, αν και είναι βέβαιο ότι υπάρχουν.
- Συχνότητα δεικτών προηγούμενης λοίμωξης, δηλαδή αντί-HBs και αντί-HBc 20-50% (αν και τα τελευταία χρόνια κυμαίνεται μεταξύ 15-25%).

Στην Ελλάδα την τελευταία δεκαετία του 20ού αιώνα έχει παρατηρηθεί σταθερή αύξηση της σεξουαλικής μετάδοσης, ήπια αύξηση στους τοξικομανείς, ενώ το πρόβλημα της ιατρογενούς μετάδοσης κατά τις χειρουργικές ή οδοντιατρικές επεμβάσεις δεν έχει εκτιμηθεί. Αντίθετα, η μετάδοση μετά από μετάγγιση αίματος ή παραγώγων αυτού έχει μειωθεί δραστικά (απαγόρευση της επί πληρωμής αιμοδοσίας, εισαγωγή ορολογικού ελέγχου των αιμοδοτών). Μέχρι το 1998, εμβολιασμός γινόταν μόνο στις ομάδες υψηλού κινδύνου. Από το 1998 και μετά εμβολιάζονται υποχρεωτικά τα βρέφη,

χωρίς ακόμα, λόγω της μικρής διάρκειας του υποχρεωτικού εμβολιασμού, να έχει φανεί η επίδραση αυτού του μέτρου στην επίπτωση της ηπατίτιδας Β στη χώρα μας. Είναι σχεδόν βέβαιο όμως ότι με το μαζικό υποχρεωτικό εμβολιασμό κατά του HBV αναμένεται μακροπρόθεσμα σημαντική μείωση του επιπολασμού του HBsAg και στη χώρα μας. Εξάλλου, κάτι ανάλογο έχει προκύψει από την εφαρμογή του εμβολιασμού στη Νοτιοανατολική Ασία με σημαντική μείωση των περιπτώσεων ανάπτυξης ηπατοκυτταρικού καρκίνου.⁹

Η ανάλυση του επιπολασμού της ηπατίτιδας Β στην Ελλάδα είναι δύσκολη, γιατί: α) Υπάρχουν μεγάλες διακυμάνσεις ακόμα και σε γειτονικές περιοχές, β) Υπάρχουν διαφορές ανάλογα με την ηλικιακή σύνθεση των εξεταζόμενων πληθυσμών και γ) Έλεγχος μεγάλης κλίμακας σε γενικό πληθυσμό (όχι αιμοδότες) δεν έχει γίνει. Γι' αυτό απαιτούνται μελέτες με μεγάλο δείγμα και ευρεία ηλικιακή κατανομή, επί πολλά έτη και σε όλες τις περιοχές της Ελλάδας, αφού ακόμα και σήμερα για μερικές περιφέρειες της χώρας δεν υπάρχουν καθόλου στοιχεία. Από τις μέχρι τώρα ενδείξεις,¹⁰⁻¹⁵ φαίνεται να υπάρχει σαφής μείωση του επιπολασμού τόσο σε αιμοδοτικό όσο και σε μικρής έκτασης γενικό πληθυσμό από ορισμένες περιοχές της χώρας την τελευταία δεκαετία. Επιπλέον, οι πρόσφυγες από τη νότια Αλβανία και τα ανατολικά κράτη φαίνεται ότι αποτελούν ένα νέου είδους μεταναστευτικό πληθυσμό που χαρακτηρίζεται, ιδίως στις νεότερες ηλικίες, από υψηλό επιπολασμό λοίμωξης από ιογενή ηπατίτιδα Β.¹³ Ο επιπολασμός αυτός είναι υψηλότερος από αυτούς που έχουν καταγραφεί σε γνωστές ομάδες υψηλού κινδύνου (αλκοολικοί, τοξικομανείς),^{15,16} ενώ δεν είναι ακόμα απόλυτα σαφής η επίδρασή του στον αντίστοιχο επιπολασμό του γηγενούς Ελληνικού πληθυσμού.

Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η καταγραφή για πρώτη φορά των δημογραφικών χαρακτηριστικών της χρόνιας λοίμωξης από

τον HBV στην Κεντρική Ελλάδα, όπως αυτά έχουν συλλεχθεί στους φακέλους παρακολούθησης των ασθενών του Ειδικού Ηπατολογικού Ιατρείου της Παθολογικής Κλινικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Έτσι, έγινε δυνατή η ανάδειξη του προτύπου της λοίμωξης από τον HBV σε αυτό το τμήμα του Ελλαδικού χώρου (ηλικία, φύλο, παράγοντες κινδύνου, κύριος τρόπος μετάδοσης, διάρκεια λοίμωξης). Επιπλέον, βασικός στόχος της μελέτης ήταν η ανάδειξη τυχόν θυλάκων του νοσήματος μέσω της επίτευξης της γεωγραφικής κατανομής της λοίμωξης. Με δεδομένο ότι τα μέχρι τώρα στοιχεία είναι ελλιπή, η λεπτομερής αποτύπωση της γεωγραφικής κατανομής της χρόνιας λοίμωξης από τον HBV είναι εξαιρετικά σημαντική από επιδημιολογικής άποψης, γιατί τα αποτελέσματα μπορούν να χρησιμοποιηθούν από τις κεντρικές υπηρεσίες υγείας προς την κατεύθυνση της πρόληψης-παρέμβασης και της σωστής αγωγής υγείας.

2. ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1.1. ΑΣΘΕΝΕΙΣ

Με σκοπό την επαρκέστερη απεικόνιση της γεωγραφικής κατανομής της χρόνιας λοίμωξης από τον HBV στην περιοχή της Κεντρικής Ελλάδας χρησιμοποιήθηκαν στοιχεία από τους φακέλους παρακολούθησης 921 διαδοχικών ασθενών του Ηπατολογικού Ιατρείου της Παθολογικής Κλινικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Καταγράφηκαν οι ακόλουθες παράμετροι: ονοματεπώνυμο (αρχικά), ακριβής κατοικία και καταγωγή. Πρόκειται για το σύνολο των ασθενών του Ηπατολογικού Ιατρείου που είχαν τεκμηριωμένα χρόνια ηπατίτιδα Β, [θετικοί για το επιφανειακό αντιγόνο (Hepatitis B surface antigen, HBsAg), θετικοί για αντισώματα κατά του αντιγόνου e (αντί-HBe),

θετικοί για αντισώματα κατά του πυρηνικού αντιγόνου του HBV (αντί-HBc) και αρνητικοί για το αντιγόνο e (Hepatitis B e antigen, HBeAg), αρνητικοί για αντισώματα κατά του επιφανειακού αντιγόνου του HBV (αντί-HBs), αρνητικοί για τον ιό της ηπατίτιδας C (Hepatitis C virus, HCV), αρνητικοί για τον ιό της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας (Human Immunodeficiency virus, HIV) και αρνητικοί για τον ιό της ηπατίτιδας δ (Hepatitis D virus, HDV)] και περιείχαν τα απαιτούμενα στοιχεία μέχρι τον Οκτώβριο του 2004. Η επιλογή των ασθενών ήταν ανεξάρτητη από το μεταξύ τους βαθμό συγγένειας.

Από αυτούς 303 διαδοχικοί ασθενείς με καλά τεκμηριωμένη χρόνια λοίμωξη από τον HBV μελετήθηκαν ως προς τα δημογραφικά χαρακτηριστικά της λοίμωξής τους. Η επιλογή έγινε με βάση την πληρότητα των φακέλων σε στοιχεία, έτσι ώστε να συμπληρωθούν όλες οι παράμετροι βάσει του πρωτοκόλλου της καταγραφής.

Η διάγνωση της χρόνιας λοίμωξης από τον HBV έγινε σύμφωνα με προηγούμενες μελέτες του Ηπατολογικού Ιατρείου¹⁷⁻¹⁹ και με τα κριτήρια του EASL²⁰ (EASL international consensus criteria). Οι ασθενείς που συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη είχαν το ακόλουθο ορολογικό προφίλ: HBsAg (+), αντί-HBe (+), αντί-HBc (+), HBeAg (-) και αντί-HBs (-) (AxSYM Diagnostics, Abbott Laboratories, Wiesbaden, Germany). Επιπλέον, όλοι οι ασθενείς ήταν αρνητικοί για αντισώματα έναντι του ιού της ηπατίτιδας C (αντί-HCV) με ανοσοενζυμική μέθοδο 2^{ης} ή 3^{ης} γενιάς (Murex Diagnostics, Temple Hill, Dartford, UK), αρνητικοί για αντισώματα έναντι του HIV (αντί-HIV, Abbott Laboratories, Wiesbaden, Germany) και για αντισώματα έναντι του ιού της ηπατίτιδας δ (αντί-HDV, Murex Diagnostics, Temple Hill, Dartford, UK).

Κατά τη συλλογή των στοιχείων καταγράφηκαν οι ακόλουθες παράμετροι: ονοματεπώνυμο (αρχικά), φύλο, ηλικία, μόνιμη κατοικία,

καταγωγή, διάρκεια λοίμωξης, πηγή λοίμωξης, επάγγελμα, γραμματικές γνώσεις, αιτία προσέλευσης στο Ηπατολογικό Ιατρείο, συμπτώματα, μεταγγίσεις αίματος ή παραγώγων αυτού, προηγούμενο ιστορικό χειρουργείων (αριθμός, χρονολογία), εισαγωγές σε νοσοκομείο ή κλινική στο παρελθόν, οδοντιατρικές εργασίες, ενημέρωση οδοντιάτρου (εφόσον γνώριζε το πρόβλημα), ατομικό ιστορικό ηπατίτιδας ή ικτέρου, τατουάζ (αριθμός, χρονολογία), τρύπημα αυτιών (για άνδρες) ή σε άλλα σημεία του σώματος (και για τα δύο φύλα), ιστορικό βελονισμού, βεντουζών (ιδιαίτερα με τομές με μαχαιρίδιο), χρήσης κοινοχρήστων βελονών, αιμοδοσία (στο παρελθόν), οικογενειακό ιστορικό ηπατίτιδας ή ικτέρου, οικογενειακό ιστορικό άλλης ηπατοπάθειας, κατανάλωση οينوπνεύματος (διάρκεια, ποσότητα) χρήση τοξικών ουσιών (διάρκεια, είδος), ταξίδια σε χώρες του εξωτερικού, κλινική φάση της χρόνιας λοίμωξης από τον HBV, ορολογικοί δείκτες ως προς την ηπατίτιδα Α (αντί-HAV IgG), σεξουαλικό ιστορικό [ύπαρξη σταθερής σχέσης, λήψη προφυλακτικών μέτρων (στην παρούσα σχέση και το παρελθόν), ιστορικό προηγούμενης σεξουαλικής συμπεριφοράς, είδος σεξουαλικής συμπεριφοράς], ιστορικό και αριθμός αποβολών ή εκτρώσεων.

Η καταγραφή έγινε σε καρτέλες, όπως αυτές φαίνονται στις σελ 14-17.

Επεξηγήσεις της καταγραφής

Φύλο: Α= Άνδρας, Γ= Γυναίκα.

Ηλικία: Η ηλικία σε έτη τη στιγμή της καταγραφής.

Κατοικία: Η μόνιμη κατοικία τα τελευταία 3-5 έτη ως ακολούθως: Ασ = Αστική, Η = Ημιαστική και Αγ = Αγροτική (π.χ. Λάρισα = Αστική,

Ελασσόνα = Ημιαστική, Λουτρό = Αγροτική) και τα αρχικά του νομού (π.χ. Ασ/Μ για το νομό Μαγνησίας).

Καταγωγή: Το ίδιο ως ανωτέρω (Ασ, Η, Αγ) και τα αρχικά του νομού (π.χ. Ασ/Μ).

Διάρκεια Λοίμωξης: Μήνες που είναι γνωστό το πρόβλημα (από τη στιγμή ανίχνευσης του HBsAg έως την ημέρα καταγραφής).

Πηγή Λοίμωξης: Κάθετη, μεταγγίσεις, ενδοοικογενειακή μετάδοση (Ε.Μ.), σεξουαλική, παραδοσιακές πρακτικές (βεντούζες, κοινόχρηστες βελόνες), άγνωστη. Για τη σωστή καταγραφή της πηγής λοίμωξης αξιοποιήθηκαν στοιχεία σχετικά με το ορολογικό προφίλ των συγγενών πρώτου βαθμού (γονείς, αδέρφια) σε κάθε ασθενή, καθώς και πληροφορίες από το ατομικό ιστορικό του. Έτσι, η πηγή λοίμωξης θεωρήθηκε ως κάθετη, όταν η μητέρα ενός ασθενή ήταν HBsAg (+) ή εναλλακτικά αν όλα τα αδέρφια του ήταν HBsAg (+). Σε περιπτώσεις που δεν υπήρχαν πληροφορίες για τη μητέρα (θάνατος, αδυναμία ελέγχου της) και μερικά αδέρφια (όχι όλα) ήταν HBsAg (+), τότε ως πηγή λοίμωξης θεωρήθηκε η ενδοοικογενειακή (οριζόντια) μετάδοση. Αν με βάση τα παραπάνω, δεν ήταν δυνατό να εξαχθεί ασφαλές συμπέρασμα ως προς την πηγή λοίμωξης, τότε αυτή καταχωρήθηκε ως σεξουαλική, μεταγγίσεις ή άλλα, ανάλογα με τις πληροφορίες από το ατομικό ιστορικό του κάθε ασθενή. Στις περιπτώσεις που δεν ανευρέθηκε παράγοντας υπεύθυνος για τη μετάδοση του HBV, η πηγή λοίμωξης θεωρήθηκε άγνωστη.

Γραμματικές Γνώσεις: Αν = Αναλφάβητος (συμπεριλαμβανομένου και των τριών πρώτων τάξεων δημοτικής εκπαίδευσης), Α = Πρωτοβάθμια εκπαίδευση (τουλάχιστον 4 έτη δημοτικής εκπαίδευσης), Β1 = Δευτεροβάθμια εκπαίδευση (Απόφοιτος γυμνασίου), Β2 = Δευτεροβάθμια εκπαίδευση (Απόφοιτος Λυκείου), Γ1 = Τριτοβάθμια Τεχνολογική εκπαίδευση (Τ.Ε.Ι.), Γ2 = Τριτοβάθμια Ανώτατη εκπαίδευση (Α.Ε.Ι.).

Αιτία προσέλευσης: AIM1 = Αιμοδοσία μη εθελοντική, AIM2 = Εθελοντική αιμοδοσία, CK = τυχαίος έλεγχος ρουτίνας (check up), Νοσ = Νοσηλεία για άλλο λόγο, Συγ = Έλεγχος λόγω συγγενούς με ηπατολογικό πρόβλημα, Περιγ = Έλεγχος κατά την εγκυμοσύνη, Ο.Η. = Συμπτωματολογία οξείας ηπατίτιδας.

Συμπτωματολογία: (1) = ασυμπτωματικός, (2) = ήπια γενικά συμπτώματα, (3) = έντονη συμπτωματολογία (π.χ. σε προχωρημένη νόσο).

Μεταγγίσεις: ΝΑΙ (αν ο ασθενής μεταγγίστηκε πριν από το 1985) ή ΟΧΙ (αν ο ασθενής δεν έχει μεταγγιστεί ποτέ ή αν έλαβε μετάγγιση μετά το 1985).

Εισαγωγές (σε νοσοκομείο ή κλινική) και χειρουργεία ακόμα και για απλές επεμβάσεις ή εκτρώσεις: ΝΑΙ ή ΟΧΙ.

Οδοντιατρικές εργασίες: ΝΑΙ (αφορά σε αιματηρές εργασίες π.χ. καθαρισμό, εξαγωγή κλπ., πόσες περίπου ανά έτος και για πόσα έτη) ή ΟΧΙ.

Ενημέρωση οδοντίατρου: Αν οι ασθενείς ενημερώνουν τον οδοντίατρο (ΝΑΙ) ή όχι (ΟΧΙ) από τότε που γνωρίζουν το πρόβλημα.

Ηχ (ιστορικό) ηπατίτιδας ή ικτέρου: Αφορά στον ασθενή στο παρελθόν (ΝΑΙ ή ΟΧΙ).

Ιστορικό τατουάζ: ΝΑΙ ή ΟΧΙ.

Ιστορικό τρυπήματος αυτιών (αφορά σε άνδρες): ΝΑΙ ή ΟΧΙ.

Ιστορικό βελονισμού: ΝΑΙ ή ΟΧΙ.

Χρήση βεντουζών: ΝΑΙ ή ΟΧΙ / Σημειώθηκε ιδιαίτερα αν συνοδεύονταν με τομή με μαχαιρίδιο (1) ή Όχι (2).

Χρήση κοινοχρήστων βελονών (γυάλινες - βρασμού): ΝΑΙ ή ΟΧΙ.

Αιμοδοσία: ΝΑΙ (αν οι ασθενείς είχαν αιμοδοτήσει πριν το 1985) ή ΟΧΙ.

Ηχ (ιστορικό) ηπατίτιδας ή ικτέρου στην οικογένεια: ΝΑΙ ή ΟΧΙ.

Ηγ (ιστορικό) άλλης ηπατοπάθειας στην οικογένεια: ΝΑΙ ή ΟΧΙ.

Κατανάλωση οινοπνεύματος: Για τον υπολογισμό της κατανάλωσης οινοπνεύματος, χρειάστηκε να μετρηθεί η ημερήσια πρόσληψη αιθανόλης σε γραμμάρια, στους ασθενείς που ανέφεραν συστηματική χρήση αλκοόλ. Αυτό έγινε με τον παρακάτω τύπο: ποσότητα αιθανόλης σε γραμμάρια (gr) = αριθμός ποτών ανά ημέρα x περιεκτικότητα αιθανόλης x ειδικό βάρος της αιθανόλης. Η ποσότητα του ενός ποτού ορίστηκε σε 100 ml. Η περιεκτικότητα της αιθανόλης σε βαθμούς υπολογίστηκε ως εξής: 40° για τα είδη ποτών ούισκι, τσίπουρο, ούζο, βότκα και κονιάκ, 12° για το κρασί και 5,5° για την μύρα. Αν η εξαγόμενη με τον παραπάνω τρόπο ποσότητα υπερέβαινε τα 40 gr ή τα 60 gr ανά ημέρα για γυναίκες ή άνδρες αντίστοιχα, τότε καταγραφόταν θετική (ΝΑΙ) για συστηματική χρήση οινοπνεύματος. Σε αντίθετη περίπτωση στις καρτέλες καταγραφής καταχωρήθηκε ΟΧΙ.

Χρήση τοξικών ουσιών: ΝΑΙ ή ΟΧΙ.

Ταξίδια εξωτερικού: ΝΑΙ ή ΟΧΙ. Έγινε ειδική επισήμανση αν τα ταξίδια αφορούσαν χώρες του εξωτερικού στις οποίες ενδημεί ο HBV (π.χ. Αφρική, Τουρκία, Νοτιοανατολική Ασία, Κίνα, χώρες Ανατολικής Ευρώπης, κλπ)

Κλινική φάση λοίμωξης από τον HBV: Φ = φορεία χωρίς βιοχημική δραστηριότητα (chronic inactive carrier state), Η = χρόνια ηπατίτιδα, ΚΑ = κίρρωση αντιρροπούμενη, ΚΜΑ = κίρρωση μη αντιρροπούμενη, ΗΚΚ = ηπατοκυτταρικός καρκίνος. Η διάγνωση της χρόνιας ηπατίτιδας ή της κίρρωσης έγινε με βάση τα ιολογικά, βιοχημικά, ορολογικά κριτήρια που έχουμε ήδη περιγράψει¹⁷⁻¹⁹ σύμφωνα με το EASL,²⁰ καθώς και τα ιστολογικά ευρήματα από τη βιοψία ήπατος, αν δεν υπήρχε αντένδειξη. Από αντιρροπούμενη κίρρωση θεωρήθηκε ότι έπασχαν οι ασθενείς σύμφωνα με τις θέσεις ομοφωνίας του EASL,²⁰ όταν υπήρχε ιστολογική διάγνωση κίρρωσης ή κλινική εικόνα πυλαίας

υπέρτασης σε ασθενή με θετικό HBsAg χωρίς προηγούμενο ιστορικό ηπατικής εγκεφαλοπάθειας, ασκίτη, κιρσορραγίας ή ηπατονεφρικού συνδρόμου. Αντίθετα, επί υπάρξεως των παραπάνω επιπλοκών οι ασθενείς θεωρήθηκε ότι έπασχαν από μη αντιρροπούμενη κίρρωση. Τέλος, η αντίστοιχη διάγνωση του ηπατοκυτταρικού καρκίνου έγινε με βάση τα ήδη υπάρχοντα διεθνή κριτήρια.²⁰⁻²³ Σύμφωνα με αυτά, όταν ανιχνεύονται στο ηπατικό παρέγχυμα όζοι 1-2 εκατοστών, απαιτείται ιστολογική διάγνωση του καρκίνου. Όταν οι όζοι έχουν μέγεθος άνω των 2 εκατοστών, τότε αρκεί η ανάδειξη με δύο απεικονιστικές μεθόδους (ελικοειδής αξονική τομογραφία, μαγνητική τομογραφία, αγγειογραφία) υπεραγγειούμενων όζων άνω των δύο εκατοστών ή η μία απεικονιστική επιβεβαίωση του υπεραγγειούμενου όζου σε συνδυασμό με αύξηση της α-εμβρυϊκής πρωτεΐνης >400μg/L. Τέλος, σε περίπτωση ανίχνευσης όζων <1 εκατοστού, τότε η αξιόπιστη διάγνωση του ηπατοκυτταρικού καρκίνου είναι δύσκολη και γι' αυτό συστήνεται παρακολούθηση με νέα απεικόνιση σε διάστημα 3 μηνών.

Ηπατίτιδα Α: αντί-HAV IgG (+) = 1 ή (-) = 2.

Σεξουαλικό Ιστορικό

Σταθερή σχέση/ Διάρκεια: ΝΑΙ /διάρκεια σε έτη ή ΟΧΙ ή παράλληλη σχέση.

Λήψη προφυλακτικών μέτρων: ΝΑΙ ή ΟΧΙ.

ΠΡΟΗΓΟΥΜΕΝΗ ΣΕΞΟΥΑΛΙΚΗ ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑ

Πολλαπλοί σύντροφοι: ΝΑΙ (>2/ΕΤΟΣ) ή ΟΧΙ.

Συχνότητα συντρόφων ανά έτος: Αριθμός /έτος.

Προφύλαξη: ΝΑΙ ή ΟΧΙ.

Σεξουαλικές πρακτικές: Σ = συνήθεις, Ε = και στη διάρκεια της εμμηνορρυσίας.

Έναρξη σεξουαλικής δραστηριότητας: Ηλικία σε έτη.

Είδος σεξουαλικής συμπεριφοράς: E = Ετεροφυλοφιλική μόνο, A = αμ-
φυλοφιλική, O = ομοφυλοφιλική μόνο.

Αποβολές / Εκτρώσεις: ΝΑΙ ή ΟΧΙ.

Ονοματεπώνυμο (αρχικά)	Φύλο	Ηλικία	Κατοικία	Καταγωγή	Διάρκεια Λοίμωξης	Επάγγελμα	Γραμματικές Γνώσεις	Αιτία Προσέλευσης

Συμπτώματα	Μεταγ- γίσεις	Εισαγωγή σε Νοσ-Κλιν	Οδοντια- τρικές Εργασίες	Ενημέρωση Οδοντιάτρου	Ηλ ηπατίτι- δας/ικτέρου	Τατουάζ	Τρόπιμα Αυτιών (άνδρες)	Βελονισμός

Σταθερή σχέση (τόρα) Διάρκεια	Λήψη προφυλακτ ικών μέτρων	Προηγούμενη Σεξουαλική Συμπεριφορά					Είδος Σεξουαλικής συμπεριφοράς
		Πολλαπλοί Σύντροφοι	Συχνότητα ανά έτος	Προφύλαξη	Σεξουαλικές Πρακτικές	Έναρξη Δραστικότητας	

2.1.2. ΓΕΩΓΡΑΦΙΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΤΗΣ ΧΡΟΝΙΑΣ ΛΟΙΜΩΞΗΣ ΑΠΟ ΤΟΝ HBV

Για την επίτευξη της γεωγραφικής κατανομής της χρόνιας λοίμωξης από τον HBV στην περιοχή της Κεντρικής Ελλάδας, καταγράφηκε ο ακριβής τόπος καταγωγής και κατοικίας (πόλη, χωριό, κοινότητα) του κάθε ασθενή ($n = 303$). Τα αποτελέσματα ομαδοποιήθηκαν αντίστοιχα προς τους Καποδιστριακούς δήμους. Στη συνέχεια το σύνολο των περιπτώσεων χρόνιας ηπατίτιδας Β σε κάθε δήμο ή κοινότητα ανάχθηκε στον πραγματικό πληθυσμό τους (υπολογίστηκε δηλαδή το πηλίκο του συνολικού αριθμού των περιπτώσεων λοίμωξης σε κάθε δήμο ή κοινότητα προς τον πληθυσμό τους). Οι ασθενείς με καταγωγή από περιοχές με υψηλό ποσοστό λοίμωξης από τον HBV μελετήθηκαν ως προς την πηγή της λοίμωξης, ενώ οι αντίστοιχοι με κατοικία σε περιοχές με υψηλή συχνότητα HBV λοίμωξης, μελετήθηκαν ως προς το φύλο, την ηλικία, τη διάρκεια λοίμωξης, την πηγή της λοίμωξης, το μορφωτικό επίπεδο, την ενημέρωση του οδοντιάτρου, την κατανάλωση οινοπνεύματος και τη σεξουαλική τους συμπεριφορά.

Τα στοιχεία για τη διοικητική διάρθρωση της Κεντρικής Ελλάδας σε Καποδιστριακούς δήμους, οι κωδικοί αυτών καθώς και τα αποτελέσματα της απογραφής του 2001 αντλήθηκαν από το δικτυακό τόπο της Γενικής Γραμματείας της Εθνικής Στατιστικής Υπηρεσίας (www.statistics.gr).

Για στατιστικούς λόγους και ιδιαίτερα για την αποφυγή ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων σε περιοχές με χαμηλό συνολικά πληθυσμό (π.χ. μία πολυμελής οικογένεια πασχόντων που κατοικεί σε μικρή

ορεινή κοινότητα), οι 303 ασθενείς του δείγματος προβλέφθηκε να μην έχουν συγγένεια πρώτου βαθμού μεταξύ τους.

2.2. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

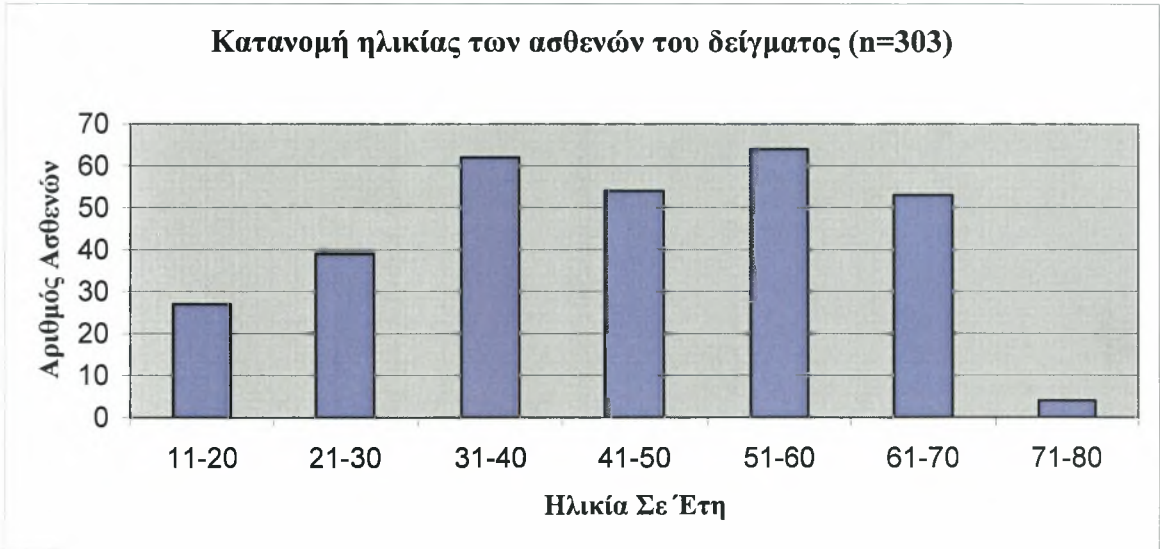
Όλοι οι στατιστικοί υπολογισμοί έγιναν σε Microsoft computer με τη χρήση των προγραμμάτων SPSS 11.0 και Epi Info 2002. Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως μέση τιμή $\pm$ σταθερά απόκλιση. Τα ευρήματα αναλύθηκαν χρησιμοποιώντας τις παρακάτω μεθόδους: χ^2 και Fisher's exact test. Στατιστικά σημαντική διαφορά θεωρήθηκε εκείνη όπου η διπλής κατεύθυνσης τιμή του P ήταν μικρότερη του 0,05 ($P < 0,05$). Τα όρια αξιοπιστίας προσδιορίστηκαν βάση του τύπου $P = p \pm 1,96 (pq/n)^{1/2}$ (όπου p είναι η συχνότητα, q είναι το 1-p και n είναι ο αριθμός των ατόμων που ελέγχθηκαν από κάθε ομάδα). Οι γεωγραφικές απεικονίσεις έγιναν με τη χρήση του Epi map.

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΣΤΟΥΣ 303 ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΧΡΟΝΙΑ ΛΟΙΜΩΞΗ ΑΠΟ ΤΟΝ HBV

Από τους 303 ασθενείς, 183 ήταν άνδρες (60,4%, CI: 54,6-65,9%) και 120 ήταν γυναίκες. Ο μέσος όρος ηλικίας των ασθενών του δείγματος ήταν 44,37±15,65 έτη (άνδρες 45,58±15,41 έτη, γυναίκες 42,52±15,90 έτη). Δεν υπήρχε στατιστικώς σημαντική συσχέτιση μεταξύ της ηλικίας και του φύλου ($p > 0,05$, Anova test). Το ηλικιακό εύρος των ασθενών κυμαινόταν από 11-75 έτη, ενώ η συνηθέστερη τιμή ήταν τα 40 έτη. Στο Γράφημα 1 παρουσιάζεται η κατανομή ηλικίας των 303 ασθενών του δείγματος, ενώ στο Γράφημα 2 η κατανομή ηλικίας στα δύο φύλα.

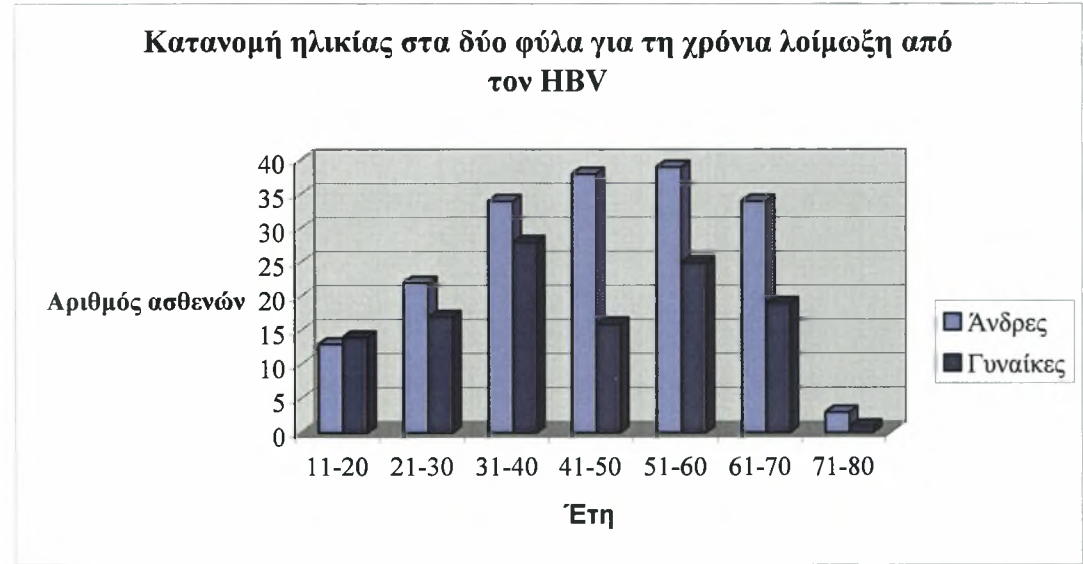
Γράφημα 1. Κατανομή ηλικίας στους 303 ασθενείς του δείγματος.



Εκατόν ενενήντα πέντε ασθενείς κατάγονταν από το νομό Λάρισας (64,3%, CI: 58,8-69,9%), 31 (10,2%, CI: 7,2-14,4%) από το νομό Καρδίτσας, 35 (11,5%, CI: 8,1-15,6%) από το νομό Τρικάλων, 9 (3%, CI: 1,5-5,8%) από το νομό Μαγνησίας, 15 από το νομό Γρεβενών

(5%, CI: 2,6-7,9%) και 18 (6%, CI: 3,3-9,62%) από την Αλβανία ή άλλες περιοχές της Ελλάδας. Διακόσιοι δεκαεννέα κατοικούσαν στο νομό Λάρισας (72,2%, CI: 66,9-76,9%), 23 (7,5%, CI: 4,6-11,3%) στο νομό Καρδίτσας, 19 (6,2%, CI: 3,5-9,8%) στο νομό Τρικάλων, 12 (4%,CI: 1,9-7%) στο νομό Μαγνησίας, 8 (2,6%, CI: 1,3-5,7%) στο νομό Γρεβενών και 22 (7,2%, CI: 4,6-11,5%) σε περιοχές εκτός της Κεντρικής Ελλάδας. Εκατόν δεκαέξι κατοικούσαν σε αστικό κέντρο (38,3%, CI: 32.8-40%), 78 (25,7%, CI: 21-31,1%) σε ημιαστική και 109 (36%, CI: 30,6-41,7%) σε αγροτική περιοχή.

Γράφημα 2. Κατανομή ηλικίας στα δύο φύλα της χρόνιας λοίμωξης από τον HBV στην Κεντρική Ελλάδα.



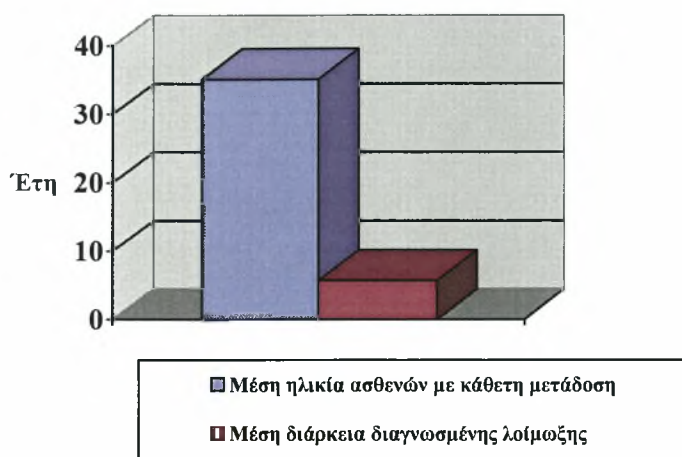
Ο μέσος όρος της διάρκειας λοίμωξης ήταν $69,8 \pm 66,92$ μήνες. Ως πιθανότερη πηγή λοίμωξης θεωρήθηκε η κάθετη μετάδοση σε 103 από τους 303 ασθενείς (34%, CI: 28,8-39,8%), η σεξουαλική μετάδοση σε 46 ασθενείς (15,1%, CI: 11,5-19,9%), η ενδοοικογενειακή μετάδοση σε 98 (32,3%, CI: 27,3-38,1%), οι προηγούμενες μεταγγίσεις σε 9 (3%, CI: 1,5-5,8%), οι παραδοσιακές πρακτικές (κοινόχρηστες βελόνες, βεντούζες με χρήση τομών) σε 38 ασθενείς (12,6%, CI: 9,2-17%), ενώ σε 9 (3%, CI: 1,5-5,8%) ασθενείς η οδός μετάδοσης της λοίμωξης από

τον HBV ήταν άγνωστη. Η σεξουαλική μετάδοση της λοίμωξης συσχετιζόταν με το άρρεν φύλο (OR: 2, $p=0,04$), ενώ στατιστικά σημαντική διαφορά βρέθηκε μεταξύ του ανδρικού φύλου και των πολλαπλών σεξουαλικών συντρόφων στο παρελθόν (OR: 28, $p=0,000005$).

Ο μέσος όρος ηλικίας των ασθενών με πιθανολογούμενη πηγή λοίμωξης την κάθετη μετάδοση ήταν $35,11 \pm 15,44$ έτη, αλλά η μέση διάρκεια της γνωστής λοίμωξης ήταν μόλις $5,68 \pm 5,35$ έτη (Γράφημα 3). Κατά τη διάρκεια των ετών που δεν γνώριζαν ότι πάσχουν από χρόνια ηπατίτιδα Β (μέσος όρος $29,43 \pm 10,09$ έτη), 58 από τους 103 ανέφεραν τουλάχιστον μία εισαγωγή σε νοσοκομείο ή κλινική (56,3%, CI: 46,2-66,1%), 28 είχαν κάνει χρήση κοινοχρήστων βελονών (27,7%, CI: 19,3-37,5), 7 είχαν υποβληθεί σε βεντούζες με τομή δέρματος (6,9%, CI: 2,8-13,8%) και 9 (8,7%, CI: 4,1-15,9%) είχαν αιμοδοτήσει χωρίς να ειδοποιηθούν ή να ελεγχθούν μετά την ενημέρωση από τα τμήματα αιμοδοσίας. Επιπλέον, 17/24 (70,8%, CI: 48,9-87,4%) είχαν >2 σεξουαλικές σχέσεις ανά έτος χωρίς τη χρήση προφυλακτικού, ενώ άλλοι 16/25 (64%, CI: 42,5-82%) είχαν λιγότερες από 2 διαφορετικές σχέσεις ανά έτος πάλι χωρίς να λαμβάνουν προφυλακτικά μέτρα. Τέλος, 72/95 ανέφεραν πολλαπλές οδοντιατρικές εργασίες στο παρελθόν χωρίς να ενημερώνουν τον οδοντίατρό τους ή χωρίς να γνωρίζουν το πρόβλημά τους (75,8, CI: 65,9-84%).

Δεκαεννέα ασθενείς ήταν αναλφάβητοι (6,3%, CI: 3,8-9,8%), 155 (51,2%, CI: 45,3-57,2%) απόφοιτοι δημοτικού, 29 είχαν λάβει την υποχρεωτική εκπαίδευση (9,5%, CI: 6,3-13,5%), 58 ήταν απόφοιτοι λυκείου (19,3%, CI: 14,9-24,4%), 14 είχαν αποφοιτήσει από ανώτερο τεχνολογικό ίδρυμα (4,6%, CI: 2,5-7,7%) και 28 από ανώτατη πανεπιστημιακή σχολή (9,1%, CI: 6-13,1%). Το 22,77% των ατόμων του

Γράφημα 3. Σχέση της μέσης ηλικίας των ασθενών με κάθετη μετάδοση της χρόνιας ηπατίτιδας B με τη μέση διάρκεια γνωστής λοίμωξης σε έτη.



δείγματος ήταν αγρότες (n=69), 13,2% ήταν ελεύθεροι επαγγελματίες (n=40), 15,84% ήταν ιδιωτικοί υπάλληλοι (n=48), 11,55% ήταν δημόσιοι υπάλληλοι (n=35), 7,92% ήταν φοιτητές (n=24), 4,95% ήταν συνταξιούχοι (n=15), 2,31% ήταν άνεργοι (n=7), ενώ 20,46% (n=62 γυναίκες ασθενείς) ανέφεραν ως απασχόλησή τους τα οικιακά.

Εξήντα έξι ασθενείς (22,1% CI: 17,5-27,2%) έμαθαν ότι πάσχουν από χρόνια ηπατίτιδα B στα πλαίσια ελέγχου των αιμοδοτών μετά από μη εθελοντική αιμοδοσία, 27 (9%, CI: 6-12,9%) μετά από εθελοντική αιμοδοσία, 78 (26,1%, CI: 21,2-31,5%) μετά από έλεγχο τους λόγω θετικού οικογενειακού ιστορικού, 85 (28,4%, CI: 23,4-33,9%) μετά από τυχαίο check-up, 7 (2,3%, CI: 0,9-4,8%) στα πλαίσια προγεννητικού ή περιγεννητικού ελέγχου, 30 (10%, CI: 6,9-14%) κατά τη διάρκεια νοσηλείας τους λόγω άλλου προβλήματος υγείας και 6 (2%, CI: 0,7-4,3%) μετά από έλεγχο στον οποίο υποβλήθηκαν λόγω συμπτωματολογίας οξείας ηπατίτιδας. Διακόσιοι εξήντα ήταν πλήρως ασυμπτωματικοί (85,8%, CI: 81,4-89,5%), 39 είχαν ήπια συμπτώματα (12,9%, CI: 9,4-17,3%) και 4 είχαν έντονη κλινική εικόνα μη αντιρροπούμενης νόσου (1,3%, CI: 0,4-3,6%). Ένας ασθενής είχε συμπτωματολογία αγγειίτιδας μέσω κρυοσφαιριναιμίας.

Είκοσι δύο (7,3%, CI: 4,7-10,9%) από τους 303 ασθενείς είχαν λάβει μία τουλάχιστον μετάγγιση αίματος πριν το 1985 [9 από αυτούς (40,9%) έχουν τέτοια πιθανολογούμενη πηγή λοίμωξης)], 198 (65,6%, CI: 59,9-70,9%) είχαν εισαχθεί σε νοσοκομείο ή κλινική στο παρελθόν, 270 (91,2%, CI: 87,4-94,2%) είχαν υποβληθεί σε οδοντιατρικές αιματηρές εργασίες πριν από τη στιγμή της καταγραφής. Από αυτούς, μόλις 51 (19%, CI: 14,5-24,2%) ενημερώνουν τον οδοντίατρό τους για το πρόβλημά τους (χρόνια HBV λοίμωξη). Οι υπόλοιποι δεν ενημερώνουν είτε επειδή δεν γνώριζαν ότι πάσχουν από χρόνια λοίμωξη από τον HBV είτε επειδή αρνήθηκαν να πληροφορήσουν τον οδοντίατρό τους ακόμα και μετά από σχετική σύσταση κατά τη διάρκεια παρακολούθησης στο Ηπατολογικό Ιατρείο.

Τριάντα τέσσερις ασθενείς (11,2% CI: 8-15,5%) ανέφεραν προηγούμενο ιστορικό ηπατίτιδας ή ικτέρου, 66 (21,9%, CI: 17,4-27%) είχαν ιστορικό χρόνιας ηπατίτιδας Β στην οικογένεια και 62 (20,5%, CI: 16,2-25,6%) ανέφεραν ιστορικό άλλης ηπατοπάθειας στην οικογένεια (π.χ. αλκοολική ηπατοπάθεια). Έξι είχαν κάνει τουλάχιστον μία φορά τατουάζ (2%, CI: 0,8-4,5%), 5 άνδρες είχαν υποβληθεί σε τρύπημα αυτιών (2,7%, CI: 0,9-6,3%) και 12 (4%, CI: 2,2-7%) είχαν επισκεφθεί ιατρούς εναλλακτικής ιατρικής (βελονιστές). Τριάντα επτά ήταν αιμοδότες πριν από το 1985 (12,2%, CI: 8,8-16,6%), 60 είχαν ταξιδέψει σε χώρες με αυξημένο επιπολασμό της χρόνιας ηπατίτιδας Β (19,8%, CI: 15,6-24,8%) και 4 (1,3%, CI: 0,4-3,6%) έκαναν στο παρελθόν χρήση τοξικών ναρκωτικών ουσιών.

Σαράντα τρεις (14,3%, CI: 10,6-18,9%) είχαν υποβληθεί σε βεντούζες με τομή δέρματος και 123 (41%, CI: 35,4-46,8%) είχαν χρησιμοποιήσει στο παρελθόν κοινόχρηστες βελόνες. Εξάλλου, η διενέργεια βεντουζών με τομή δέρματος συσχετιζόταν σημαντικά με

την αγροτική κατοικία (OR: 2,3, $p=0,009$). Το ίδιο ισχύει και για τη χρήση κοινοχρήστων βελονών (OR: 1,5, $p=0,05$).

Διακόσιοι δεκαοχτώ είχαν σταθερή σχέση τη στιγμή της καταγραφής (74,7%, CI: 69,3-79,5%) και 10 διατηρούσαν παράλληλο ερωτικό δεσμό (3,4%, CI: 1,7-6,2%). Εβδομήντα εννέα είχαν >2 ερωτικές σχέσεις στο παρελθόν (47,6%, CI: 39,8-55,5%), οι 19 από αυτούς χωρίς προφύλαξη (24,1%, CI: 15,1-35%), ενώ 87 (52,4%, CI: 44,5-60,2%) ανέφεραν λιγότερους από δύο ερωτικούς συντρόφους ανά έτος στο παρελθόν. Οι υπόλοιποι 137 δεν είχαν προηγούμενο σεξουαλικό ιστορικό. Τριάντα ανέφεραν ερωτικές επαφές και κατά τη διάρκεια της εμμηνορρυσίας (12,9%, CI: 8,9-17,9%), ενώ 10 ήταν αμφιφυλόφιλοι (3,8%, CI: 1,8-6,8%) και ένας ομοφυλόφιλος (0,4%, CI: 0-2,1%). Τέλος, 63 γυναίκες (52,5%, CI: 43,2-61,7%) είχαν ιστορικό αποβολών ή εκτρώσεων στο παρελθόν. Τα κυριότερα επιδημιολογικά χαρακτηριστικά των ασθενών παρουσιάζονται στον Πίνακα 1.

Πίνακας 1. Κυριότερα επιδημιολογικά χαρακτηριστικά των ασθενών με χρόνια
λοίμωξη από τον HBV στην Κεντρική Ελλάδα.

	Αριθμός/Σύνολο ασθενών	95% CI
Φύλο		
Άνδρες	183/303	54,6-65,9
Γυναίκες	120/303	
Καταγωγή (Νομός)		
Λάρισας	195/303	58,8-69,9
Καρδίτσας	31/303	7,2-14,4
Τρικάλων	35/303	8,1-15,6
Μαγνησίας	9/303	1,5-5,8
Γρεβενών	15/303	7,8-15,2
Κατοικία (Νομός)		
Λάρισας	219/303	66,9-76,9
Καρδίτσας	23/303	4,6-11,3
Τρικάλων	19/303	3,5-9,8
Μαγνησίας	12/303	1,9-7
Γρεβενών	8/303	1,3-5,7
Πηγή λοίμωξης		
Κάθετη	103/303	28,8-39,8
Σεξουαλική	46/303	11,5-19,9
Ενδοοικογενειακή	98/303	27,3-38,1
Μεταγγίσεις	9/303	1,5-5,8
Παραδοσιακές πρακτικές	38/303	9,2-17
Άγνωστη	9/303	1,5-5,8
Μορφωτικό επίπεδο		
Αναλφάβητοι	19/303	3,8-9,8
Δημοτικό	155/303	45,3-57,2
Υποχρεωτική εκπαίδευση	29/303	6,3-13,5
Λύκειο	58/303	14,9-24,4
Τ.Ε.Ι.-Α.Ε.Ι.	42/303	8,5-20,8
Κλινική φάση		
Ανενεργοί φορείς	187/303	56-67,2
Ηπατίτιδα	78/303	21-31,1
Κίρρωση αντιρροπούμενη	14/303	2,6-7,8
Κίρρωση μη αντιρροπού- μένη	15/303	2,9-8,2
ΗΚΚ	9/303	1,5-5,8
Κατανάλωση αλκοόλ	84/303	22,8-33,2
Συμπτωματική νόσος	43/303	10,6-18,8
Πολλαπλές σεξουαλικές επαφές στο παρελθόν	79/166	39,8-55,5
Χρήση προφυλακτικού	44/160	20,7-35,1

3.2. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΜΕ ΒΑΣΗ ΤΗΝ ΚΛΙΝΙΚΗ ΦΑΣΗ ΤΗΣ ΧΡΟΝΙΑΣ ΛΟΙΜΩΞΗΣ ΑΠΟ ΤΟΝ HBV

Από τους 303 ασθενείς, οι 187 ήταν «χρόνιοι ανενεργοί φορείς» (chronic inactive carrier state) του ιού (61,7%, CI: 56-67,2%), 78 είχαν βιοχημική δραστηριότητα και βιοψία ήπατος συμβατή με αλλοιώσεις χρόνιας ηπατίτιδας (25,7%, CI: 21-31,1%), 29 είχαν ήδη αναπτύξει κίρρωση (9,6%, CI: 6,6-13,6%) και 9 έπασχαν από ηπατοκυτταρικό καρκίνο (3%, CI: 1,5-5,8%). Δεν υπήρχε στατιστικώς σημαντική συσχέτιση μεταξύ της πηγής λοίμωξης, της κατανάλωσης οينوπνεύματος, της ηλικίας και της διάρκειας λοίμωξης με τους ασθενείς που βρίσκονταν στην κλινική φάση της ηπατίτιδας ή της «χρόνιας φορείας» από τον HBV. Αντίθετα, υπήρχε συσχέτιση μεταξύ της εξέλιξης της λοίμωξης σε κίρρωση ή ηπατοκυτταρικό καρκίνο και: α) της κατανάλωσης οينوπνεύματος (OR: 2,7, $p=0,003$), β) της μετάδοσης της λοίμωξης μέσω κοινοχρήστων βελονών (OR: 3, $p=0,006$), γ) του ηλικιακού εύρους 61-70 ετών (OR: 5,14, $p=0,000003$), δ) της διάρκειας λοίμωξης 180-240 μήνες (OR: 4,3, $p=0,007$) και ε) της συμπτωματικής νόσου (OR: 3,4, $p=0,001$). Τα χαρακτηριστικά των ασθενών ανάλογα με την κλινική φάση της χρόνιας λοίμωξης από τον HBV παρουσιάζονται στον Πίνακα 2.

Σε μοντέλο πολυπαραγοντικής ανάλυσης (multivariate logistic regression), στο οποίο εξετάστηκε η επίδραση των παραπάνω παραγόντων στην εξέλιξη της χρόνιας ηπατίτιδας Β σε κίρρωση ή ηπατοκυτταρικό καρκίνο, προκύπτει ότι η κατανάλωση οينوπνεύματος είναι ο μοναδικός ανεξάρτητος παράγοντας σε σχέση με την ηλικία καθώς και τη διάρκεια και την πηγή της λοίμωξης που επηρεάζει την

εξέλιξη της νόσου σε κίρρωση ή ανάπτυξη ηπατοκυτταρικού καρκίνου (OR: 2,5, CI: 1,24-5,18%, p=0,01)(Πίνακας 3).

Πίνακας 2. Χαρακτηριστικά των ασθενών με χρόνια λοίμωξη από HBV, ανάλογα με την κλινική φάση της λοίμωξης.

	«Ανενεργοί Φορείς» (n=187)	Χρόνια Ηπατίτιδα Β (n=78)	HBV-σχετιζόμενη Κίρρωση-ΗΚΚ (n=38)
Ηλικιακό εύρος (έτη)			
11-20	22	5	0
21-30	25	13	1
31-40	45	16	1
41-50	28	16	10
51-60	42	14	8
61-70	23	13	¹ 17
>70	2	1	1
Διάρκεια λοίμωξης (μήνες)			
0-60	187	78	19
61-120	0	0	9
121-180	0	0	4
181-240	0	0	² 5
241-300	0	0	0
>300	0	0	1
Πηγή λοίμωξης			
Κάθετη	69	27	7
Σεξουαλική	32	8	6
Ενδοοικογενειακή	55	30	13
Μεταγγίσεις	6	2	1
Παραδοσιακές πρακτικές	19	9	³ 10
Κατανάλωση αλκοόλ			
	45	21	⁴ 18
Συμπτωματική νόσος			
	14	61	⁵ 12

¹P: 0,000003, ²P: 0,007, ³P: 0,006, ⁴P: 0,003, ⁵P: 0,001. ΗΚΚ=ηπατοκυτταρικός καρκίνος.

Πίνακας 3. Παράγοντες κινδύνου εμφάνισης κίρρωσης-ΗΚΚ σε ασθενείς με χρόνια
 ηπατίτιδα Β (πολυπαραγοντική ανάλυση).

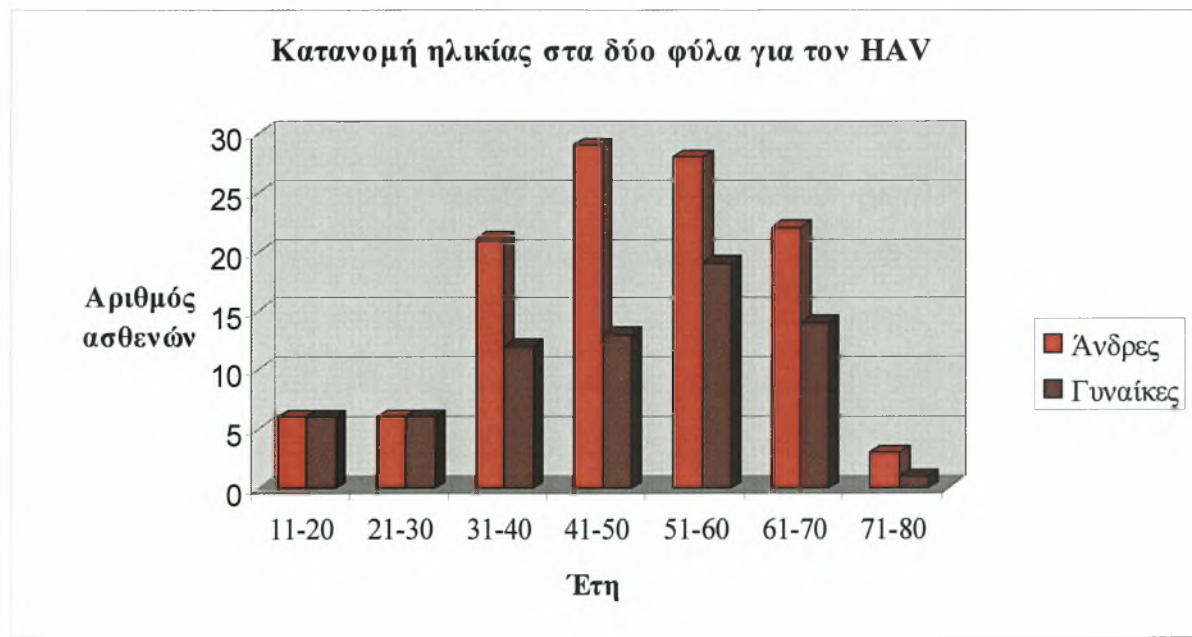
Παράγοντες κινδύνου	OR	95% (CI)	P
Διάρκεια λοίμωξης 181-240 μήνες	0,8237	0,0561-12,1007	0,8875
Παραδοσιακές πρακτικές	2,2863	0,4335-12,0594	0,3297
Κατανάλωση οινοπνεύματος	2,538	1,2412-5,1897	0,0107
Ηλικία 61-70 έτη	0,7383	0,3207-7,9532	0,8024

ΗΚΚ=ηπατοκυτταρικός καρκίνος.

3.3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΣΕ 225 ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΧΡΟΝΙΑ ΛΟΙΜΩΞΗ ΑΠΟ ΤΟΝ HBV ΠΟΥ ΕΛΕΓΧΘΗΚΑΝ ΓΙΑ ΠΑΡΕΛΘΟΥΣΑ ΛΟΙΜΩΞΗ ΑΠΟ ΤΟΝ ΙΟ ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ Α

Ορολογικά δεδομένα παρελθούσας λοίμωξης από τον ιό της ηπατίτιδας Α (HAV) ήταν διαθέσιμα σε 225 ασθενείς. Ο μέσος όρος ηλικίας των ατόμων με οροθετικότητα για αντί-HAV IgG ήταν $47,59 \pm 14,48$ έτη (μέση ηλικία των ασθενών με αρνητικά αντί-HAV IgG $28,84 \pm 9,07$ έτη, $p < 0,00001$, Kruskal-Wallis test). Από αυτούς, 111 ήταν άνδρες και 70 ήταν γυναίκες (181 ασθενείς συνολικά). Δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ των δύο φύλων και λοίμωξης από HAV ($p > 0,05$). Η κατανομή ηλικίας τους φαίνεται στο γράφημα 4. Τα ποσοστά προηγούμενης λοίμωξης από τον ιό HAV στους ασθενείς με χρόνια λοίμωξη από τον HBV ανάλογα με την ηλικία ήταν 57,1,

Γράφημα 4. Κατανομή ηλικίας στα δύο φύλα των ασθενών με προηγούμενη λοίμωξη από τον HAV.



42,9, 67,3 και 93% αντίστοιχα για τις ηλικίες 11-20, 21-30, 31-40 και 41-50 ετών, ενώ ήταν 100% για τους ασθενείς ηλικίας 51-60, 61-70 και μεγαλύτερης των 70 ετών. Ο συνολικός επιπολασμός ήταν 80,4% (95% CI: 74,7-85,4%). Επιπλέον, 7 από τους παραπάνω ανέπτυξαν αντί-HAV IgG αντισώματα κατά τη διάρκεια της παρακολούθησής τους στο Ηπατολογικό Ιατρείο μετά από επιτυχή εμβολιασμό κατά του HAV.

Από τους 181 ασθενείς οι 12 ήταν αναλφάβητοι (7%, CI: 3,7-11,9%), 106 ήταν απόφοιτοι δημοτικού (62%, CI: 54,3-69,3%), 14 είχαν λάβει την υποχρεωτική εκπαίδευση (8,2%, CI: 4,5-13,4%), 23 ήταν απόφοιτοι λυκείου (13,5%, CI: 8,7-19,5%), 4 ήταν απόφοιτοι Τ.Ε.Ι. (2,3%, CI: 0,6-5,9%) και 12 είχαν μορφωτικό επίπεδο ανώτατης τριτοβάθμιας εκπαίδευσης (7%, CI: 3,7-11,9%).

Από αυτούς τους ασθενείς (n = 181), οι 55 (30,4%, CI: 23,8-37,6%) ζουν σε μεγάλο αστικό κέντρο, 46 (25,4%, CI: 19,2-32,4%) σε ημιαστική περιοχή και 80 (44,2%, CI: 36,8-51,8%) σε ορεινή ή πεδινή αγροτική περιοχή. Μόνο 25 (13,8%, CI: 9,1-19,7%) ανέφεραν παλαιότερο ιστορικό ηπατίτιδας ή ικτέρου. Επιπρόσθετα, 2 ασθενείς (4,5%, CI: 0,6-15,5%) ανέφεραν παρόμοιο ιστορικό χωρίς προηγούμενη λοίμωξη από τον ιό HAV (συνολικά 44 αντί-HAV IgG αρνητικοί ασθενείς). Και οι 2 ασθενείς είχαν σαν πιθανότερη πηγή λοίμωξης της χρόνιας ηπατίτιδας Β την ενδοικογενειακή μετάδοση (ο πρώτος είναι υγιής φορέας και ο δεύτερος παρουσιάζει βιοχημική δραστηριότητα με ιστολογικά επιβεβαιωμένη χρόνια ηπατίτιδα).

Τα χαρακτηριστικά των ασθενών με χρόνια ηπατίτιδα Β και παρελθούσα λοίμωξη από τον HAV φαίνονται στον Πίνακα 4. Το ηλικιακό εύρος 11-20 ετών (OR: 0,2, p=0,008), 21-30 ετών (OR: 0,1, p=0,000001), 31-40 ετών (OR: 0,4, p=0,01), καθώς και η αστική κατοικία (OR: 0,3, p=0,004) και το υψηλό μορφωτικό επίπεδο [λυκείου (OR: 0,2, p=0,0004) και πανεπιστημίου (OR: 0,2, p=0,002)] έχουν

αρνητική συσχέτιση με τη λοίμωξη από τον HAV. Αντίθετα, στους ασθενείς με χρόνια λοίμωξη από τον HBV, η παρελθούσα λοίμωξη από τον HAV παρουσιάζει θετική στατιστικώς σημαντική συσχέτιση με το ηλικιακό εύρος 41-50 ετών (OR: 3,8, p=0,03), 51-60 ετών (RR: 1,3, p=0,0004) και 61-70 ετών (RR: 1,3, p=0,003), καθώς και με την αγροτική κατοικία (OR: 3, p=0,006) και με το χαμηλό μορφωτικό επίπεδο αποφοίτων δημοτικού σχολείου (OR: 11, p=0,000001).

Πίνακας 4. Χαρακτηριστικά ασθενών με χρόνια ηπατίτιδα Β και παρελθούσα λοίμωξη από τον HAV (n=181).

Προηγηθείσα λοίμωξη από τον HAV			
	Ναι (n=181)	Όχι (n=44)	P
Φύλο (άνδρες/γυναίκες)	111/70	23/21	>0,05
Μέση ηλικία (έτη)	47,59±14,48	28,84±9,07	<0,00001
11-20	12	9	0,008
21-30	12	16	0,000001
31-40	33	16	0,01
41-50	40	3	0,03
51-60	45	0	0,0004
61-70	35	0	0,003
>70	4	0	>0,05
Κατοικία			
Αστική	55	24	0,004
Ημιαστική	46	11	>0,05
Αγροτική	80	9	0,006
Μορφωτικό Επίπεδο			
Αναλφάβητοι	12	0	>0,05
Δημοτικό	106	5	0,000001
Γυμνάσιο	14	7	>0,05
Λύκειο	23	16	0,0004
Πανεπιστήμιο	16	12	0,002

Τα δεδομένα εκφράζονται ως μέση τιμή±SD.

3.4. ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΙΣΤΟΡΙΚΟ ΧΡΗΣΗΣ ΟΙΝΟΠΝΕΥΜΑΤΟΣ (n = 84)

Από τους 303 ασθενείς με χρόνια λοίμωξη από τον HBV, 84 ανέφεραν σημαντική κατανάλωση οινόπνευματος (27,7%, CI: 22,8-33,2%). Από αυτούς 79 ήταν άνδρες (94%, CI: 86,7-98%) και 5 ήταν γυναίκες. Ο μέσος όρος ηλικίας τους ήταν $49,03 \pm 12,68$ έτη, ενώ η μέση ηλικία όσων δεν κατανάλωναν οινόπνευμα ήταν $42,58 \pm 16,33$ έτη ($p = 0,0022$, Kruskal-Wallis test). Η χρήση οινόπνευματος φαίνεται να σχετίζεται περισσότερο με τις ηλικίες 35-70 ετών (OR: 2,8, CI: 1,49-5,33, $p = 0,001$). Από τους 84 ασθενείς, 26 κατοικούσαν σε αστικό κέντρο (31%, CI: 21,3-42%), 24 σε ημιαστική περιοχή (28,6%, CI: 19,2-39,5%) και 34 σε αγροτική περιοχή (40,5%, CI: 29,9-51,7%).

Οι περισσότεροι από αυτούς ήταν χαμηλού μορφωτικού επιπέδου [51 αναλφάβητοι και απόφοιτοι πρωτοβάθμιας εκπαίδευσης (60,7%, CI: 49,5-75,2%)], 19 απόφοιτοι γυμνασίου ή λυκείου (22,6%, CI: 14,2-33%) και 10 είχαν πτυχίο ανώτερης ή ανώτατης σχολής (11,9%, CI: 5,9-20,8%). Παρ' όλα αυτά δεν υπήρχε στατιστικώς σημαντική συσχέτιση μεταξύ του μορφωτικού επιπέδου των ασθενών αυτών και της χρήσης οινόπνευματος.

Επιπλέον, το ατομικό και οικογενειακό ιστορικό ηπατίτιδας ή ικτέρου καθώς και το ιστορικό άλλης ηπατοπάθειας στην οικογένεια των ασθενών, δε συσχετιζόταν με τη συστηματική κατανάλωση οινόπνευματος. Αντίθετα, ενδιαφέρον παρουσιάζει η σεξουαλική συμπεριφορά του συγκεκριμένου δείγματος (πότες). Υπάρχει στατιστικά σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στη χρήση οινόπνευματος και την έναρξη της σεξουαλικής δραστηριότητας πριν τα 18 έτη (OR: 2,6, $p=0,0002$), τη μη χρήση προφυλακτικού (OR: 3,9, $p=0,000001$) και

την εναλλαγή πολλών ερωτικών συντρόφων ανά έτος (OR: 2,6, p=0,002). Τριάντα επτά ασθενείς (44%, CI: 33,2-55,3%) αναφέρουν έναρξη σεξουαλικών επαφών πριν συμπληρώσουν το 18^ο έτος της ηλικίας τους,

Πίνακας 5. Χαρακτηριστικά 84 ασθενών με ταυτόχρονη χρόνια λοίμωξη από τον HBV και αυξημένη κατανάλωση οινοπνεύματος.

Κατανάλωση αλκοόλ			
	Ναι (n=84)	Όχι (n=219)	P
Φύλο (άνδρες/γυναίκες)	79/5	104/115	<0,000001
Μέση ηλικία (έτη)	49,03±12,68	42,58±16,33	0,0022
10-34 έτη	13	76	>0,05
35-70 έτη	70	140	0,001
Σεξουαλικό Ιστορικό			
Μη χρήση προφυλακτικού (Ναι/Όχι)	52/32	64/155	0,000001
Παράλληλη σχέση (Ναι/Όχι)	7/77	3/216	0,003
Έναρξη πριν τα 18 έτη (Ναι/Όχι)	37/47	50/169	0,002
Πολλαπλές επαφές (Ναι/Όχι)	42/26	37/61	0,0002
Μορφωτικό επίπεδο			
Αναλφάβητοι-Δημοτικό	51	113	>0,05
Γυμνάσιο-Λύκειο	19	63	>0,05
Πανεπιστήμιο	10	29	>0,05

Τα δεδομένα εκφράζονται ως μέση τιμή±SD.

ενώ 42 (61,8%, CI: 49,2-73,3%) είχαν πολλαπλές ερωτικές σχέσεις (>2/έτος) στο παρελθόν. Επιπρόσθετα, 52 από αυτούς (συμπεριλαμβάνονται και όσοι είχαν λιγότερες από 2 ερωτικές σχέσεις ανά έτος), δε χρησιμοποιούσαν προφύλαξη κατά τη σεξουαλική επαφή (61,9%, CI: 50,7-72,3%). Όμως, οι περισσότεροι (n=58) αναφέρουν σταθερή

ερωτική σχέση τη στιγμή της καταγραφής (69%, CI: 58-78,7%). Αξίζει να σημειωθεί ότι 7/58 από αυτούς (8,3%, CI: 3,4-16,4%) διατηρούν παράλληλη ερωτική σχέση (OR: 6,5, $p = 0,003$). Αντίθετα, δεν υπάρχει στατιστικώς σημαντική συσχέτιση μεταξύ της χρήσης οινόπνευματος και της σεξουαλικής μετάδοσης της χρόνιας λοίμωξης από τον HBV, καθώς και του είδους της σεξουαλικής συμπεριφοράς (ετεροφυλοφιλική, ομοφυλοφιλική, αμφιφυλοφιλική).

Τα χαρακτηριστικά αυτής της ομάδας ασθενών φαίνονται στον πίνακα 5.

3.5. ΓΕΩΓΡΑΦΙΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΤΗΣ ΛΟΙΜΩΞΗΣ ΑΠΟ ΤΟΝ HBV

3.5.1. ΓΕΩΓΡΑΦΙΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΤΗΣ ΛΟΙΜΩΞΗΣ ΑΠΟ ΤΟΝ HBV ΣΕ ΣΥΝΑΡΤΗΣΗ ΜΕ ΤΗΝ ΚΑ- ΤΑΓΩΓΗ ΤΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ (n=921)

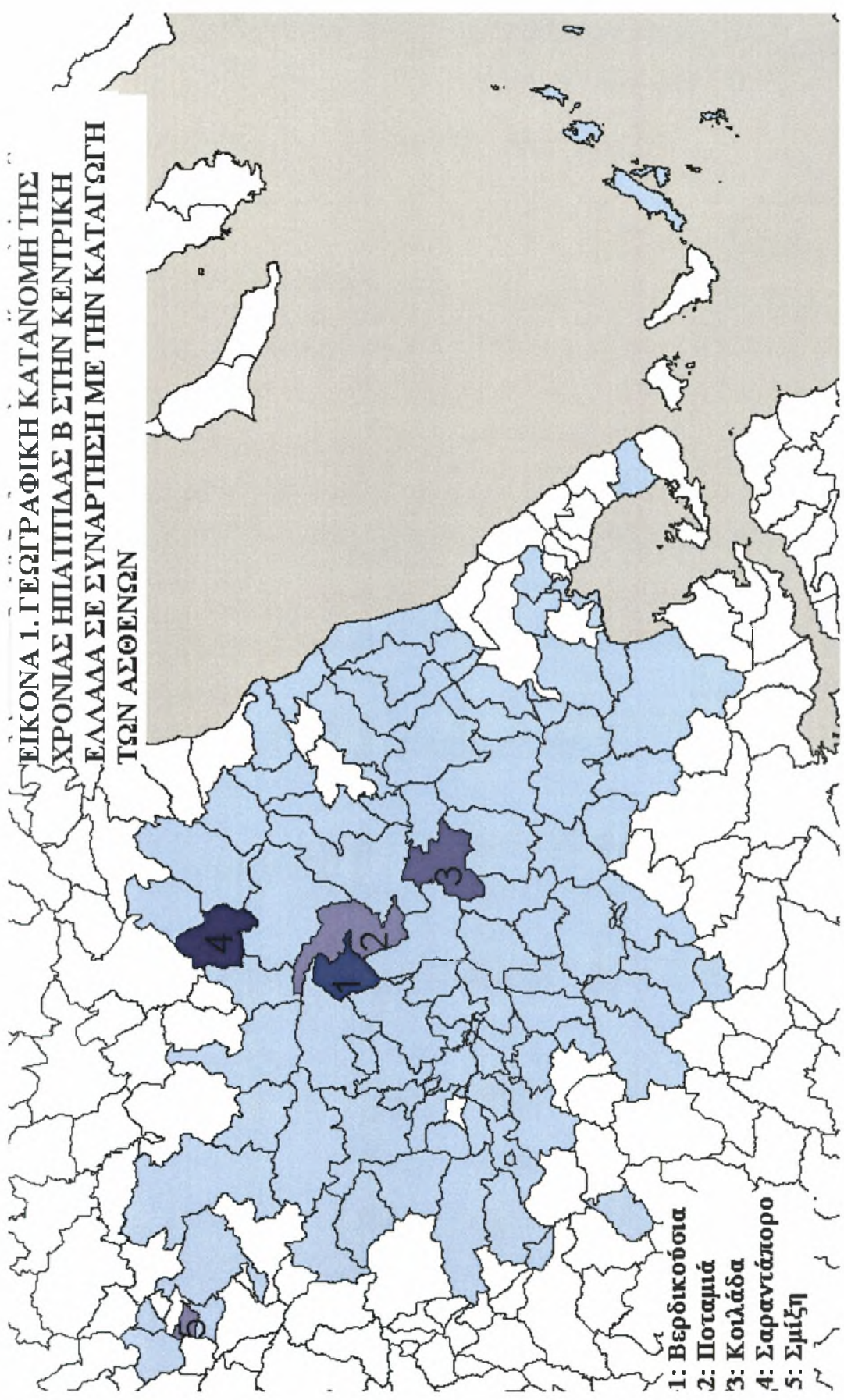
Βρέθηκαν πέντε περιοχές με αυξημένη σχέση ασθενών με χρόνια λοίμωξη από τον HBV προς τον αντίστοιχο πληθυσμό τους. Τριάντα έξι ασθενείς (3,9%, CI: 2,8-5,4%) κατάγονται από την κοινότητα Βερδικούσιας, 32 (3,4%, CI: 2,4-4,9%) από το δήμο Ποταμιάς, 35 (3,8%, CI: 2,7-5,3%) από το δήμο Κοιλιάδας, 44 (4,7%, CI: 3,5-6,4%) από το δήμο Σαρανταπόρου και 3 (0,3%, CI: 0,1-1%) από την κοινότητα της Σμίξης (Εικόνα 1). Όλες οι παραπάνω περιοχές υπάγονται στο νομό Λάρισας, εκτός από την κοινότητα Σμίξης η οποία ανήκει διοικητικά στο νομό Γρεβενών. Στον Πίνακα 6 παρουσιάζονται αναλυτικότερα τα χαρακτηριστικά των παραπάνω περιοχών.

Πίνακας 6. Χαρακτηριστικά δήμων - κοινοτήτων με αυξημένο ποσοστό λοίμωξης από τον HBV αναλογικά με τον πληθυσμό τους, σε συνάρτηση με την καταγωγή των ασθενών (n=921).

	Βερδικούσια	Ποταμιά	Κοιλάδα	Σαραντάπορο	Σμίξη
Αριθμός ασθενών	36	32	35	44	3
(95% CI)	(2,8-5,4)	(2,4-4,9)	(2,7-5,3)	(3,5-6,4)	(0,1-1)
Πληθυσμός	2.236	5.065	3.305	3.588	509
Ratio	0,0161	0,0063	0,0105	0,0122	0,0058
Νομός	Λάρισας	Λάρισας	Λάρισας	Λάρισας	Γρεβενών

Ratio: ο λόγος των περιπτώσεων λοίμωξης από τον HBV ανά περιοχή με το συνολικό πληθυσμό της.

ΕΙΚΟΝΑ 1. ΓΕΩΓΡΑΦΙΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΤΗΣ
ΧΡΟΝΙΑΣ ΗΠΙΑΠΠΙΑΣ Β ΣΤΗΝ ΚΕΝΤΡΙΚΗ
ΕΛΛΑΔΑ ΣΕ ΣΥΝΑΡΤΗΣΗ ΜΕ ΤΗΝ ΚΑΤΑΓΩΓΗ
ΤΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ



3.5.2. ΓΕΩΓΡΑΦΙΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΤΗΣ ΛΟΙΜΩΞΗΣ
ΑΠΟ ΤΟΝ HBV ΣΕ ΣΥΝΑΡΤΗΣΗ ΜΕ ΤΗ ΜΟΝΙ-
ΜΗ ΚΑΤΟΙΚΙΑ ΤΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ (n=921)

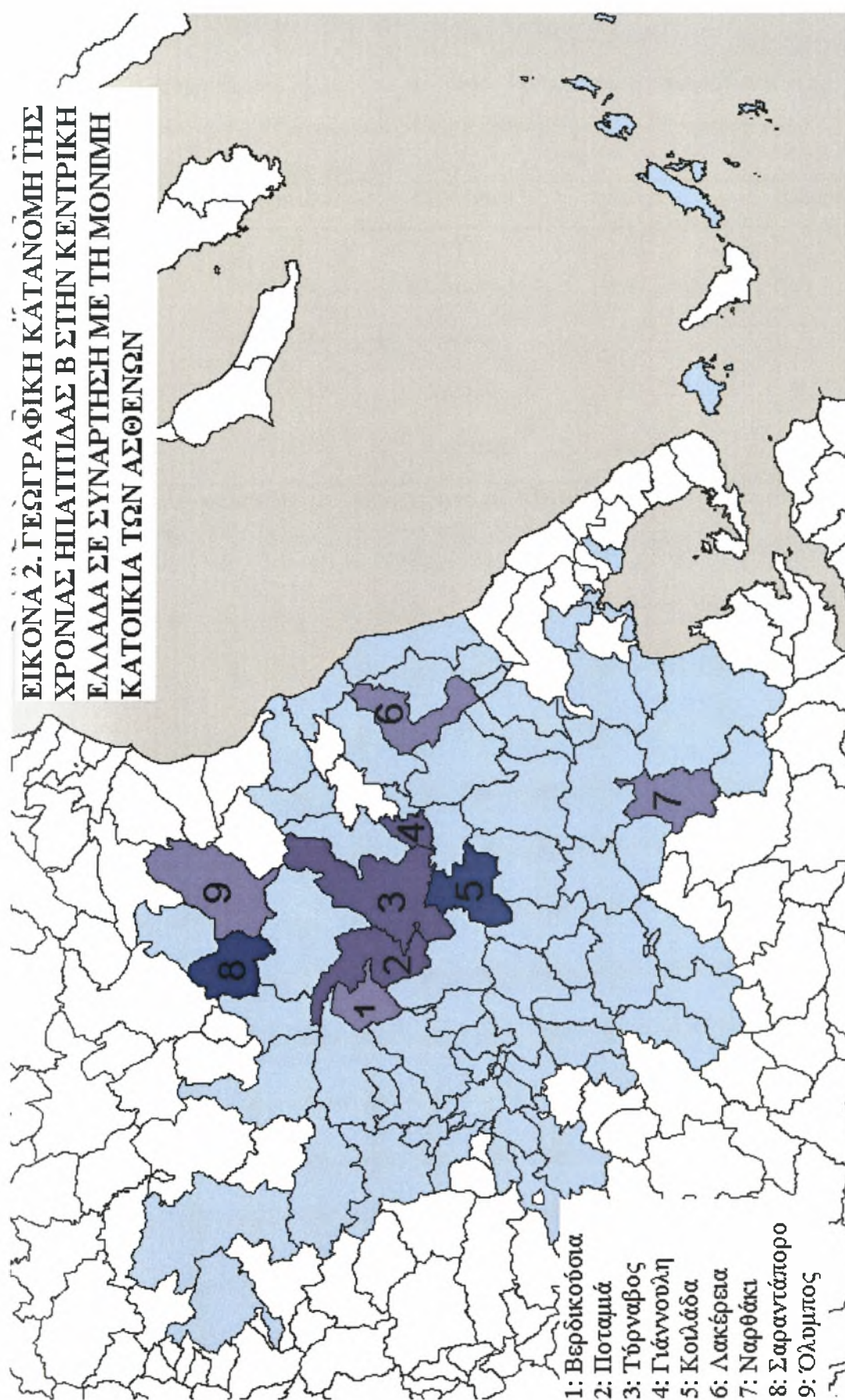
Εννέα περιοχές (δήμοι ή κοινότητες), όλες στο νομό Λάρισας, έχουν αυξημένη συχνότητα χρόνιας λοίμωξης από τον HBV σε σχέση με τον πληθυσμό τους (Εικόνα 2). Επτά ασθενείς (0,7%, CI: 0,3-1,6%) κατοικούν στην κοινότητα Βερδικούσιας, 19 (2,1%, CI: 1,3-3,3%) στο δήμο Ποταμιάς, 73 στο δήμο Τυρνάβου (7,9%, CI: 6,3-9,9%), 43 (4,6%, CI: 3,4-6,3%) στο δήμο Γιάννουλης, 22 (2,3%, CI: 1,5-3,7%) στο δήμο Κοιλάδας, 5 (0,5%, CI: 0,2-1,3%) στο δήμο Λακερείας, 5 (0,5%, CI: 0,2-1,3%) στο δήμο Ναρθακίου, 25 (2,7%, CI: 1,8-4%) στο δήμο Σαρανταπόρου και τέλος, 10 (1,08%, CI: 0,6-1,3%) κατοικούν στο δήμο Ολύμπου. Στους Πίνακες 7α και 7β παρουσιάζονται αναλυτικότερα τα χαρακτηριστικά των παραπάνω περιοχών.

Πίνακας 7α. Χαρακτηριστικά δήμων - κοινοτήτων με αυξημένο ποσοστό λοίμωξης από τον HBV αναλογικά με τον πληθυσμό τους, σε συνάρτηση με τη μόνιμη κατοικία των ασθενών (n=921).

	Βερδικούσια	Ποταμιά	Κοιλάδα	Σαραντάπορο	Ναρθάκι
Αριθμός ασθενών	7	19	22	25	5
(95% CI)	(0,3-1,6%)	(1,3-3,3%)	(1,5-3,7%)	(1,8-4%)	(0,2-1,3%)
Πληθυσμός	2.236	5.065	3.305	3.588	1.781
Ratio	0,0031	0,0037	0,0066	0,0070	0,0028
Νομός	Λάρισα	Λάρισα	Λάρισα	Λάρισα	Λάρισα

Ratio: ο λόγος των περιπτώσεων λοίμωξης από τον HBV ανά περιοχή με το συνολικό πληθυσμό της.

ΕΙΚΟΝΑ 2. ΓΕΩΓΡΑΦΙΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΤΗΣ
ΧΡΟΝΙΑΣ ΗΠΑΤΤΙΔΑΣ Β ΣΤΗΝ ΚΕΝΤΡΙΚΗ
ΕΛΛΑΔΑ ΣΕ ΣΥΝΑΡΤΗΣΗ ΜΕ ΤΗ ΜΟΝΙΜΗ
ΚΑΤΟΙΚΙΑ ΤΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ



Πίνακας 7β. Χαρακτηριστικά δήμων - κοινοτήτων με αυξημένο ποσοστό λοίμωξης από τον HBV αναλογικά με τον πληθυσμό τους, σε συνάρτηση με τη μόνιμη κατοικία των ασθενών (n=921).

	Τύρναβος	Γιάννουλη	Λακέρεια	Όλυμπος
Αριθμός ασθενών	73	43	5	10
(95% CI)	(6,3-9,9%)	(3,4-6,3%)	(0,2-1,3%)	(0,6-1,3%)
Πληθυσμός	16.900	10.022	1.763	3.588
Ratio	0,0043	0,0042	0,0028	0,0027
Νομός	Λάρισας	Λάρισας	Λάρισας	Λάρισας

Ratio: ο λόγος των περιπτώσεων λοίμωξης από τον HBV ανά περιοχή με το συνολικό πληθυσμό της.

3.5.3. ΓΕΩΓΡΑΦΙΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΤΗΣ ΛΟΙΜΩΞΗΣ ΑΠΟ ΤΟΝ HBV ΣΕ ΣΥΝΑΡΤΗΣΗ ΜΕ ΤΗΝ ΚΑ- ΤΑΓΩΓΗ ΤΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΠΛΗΡΗ ΔΗΜΟ- ΓΡΑΦΙΚΑ ΚΑΙ ΚΛΙΝΙΚΟΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΑ ΧΑ- ΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ (n=303)

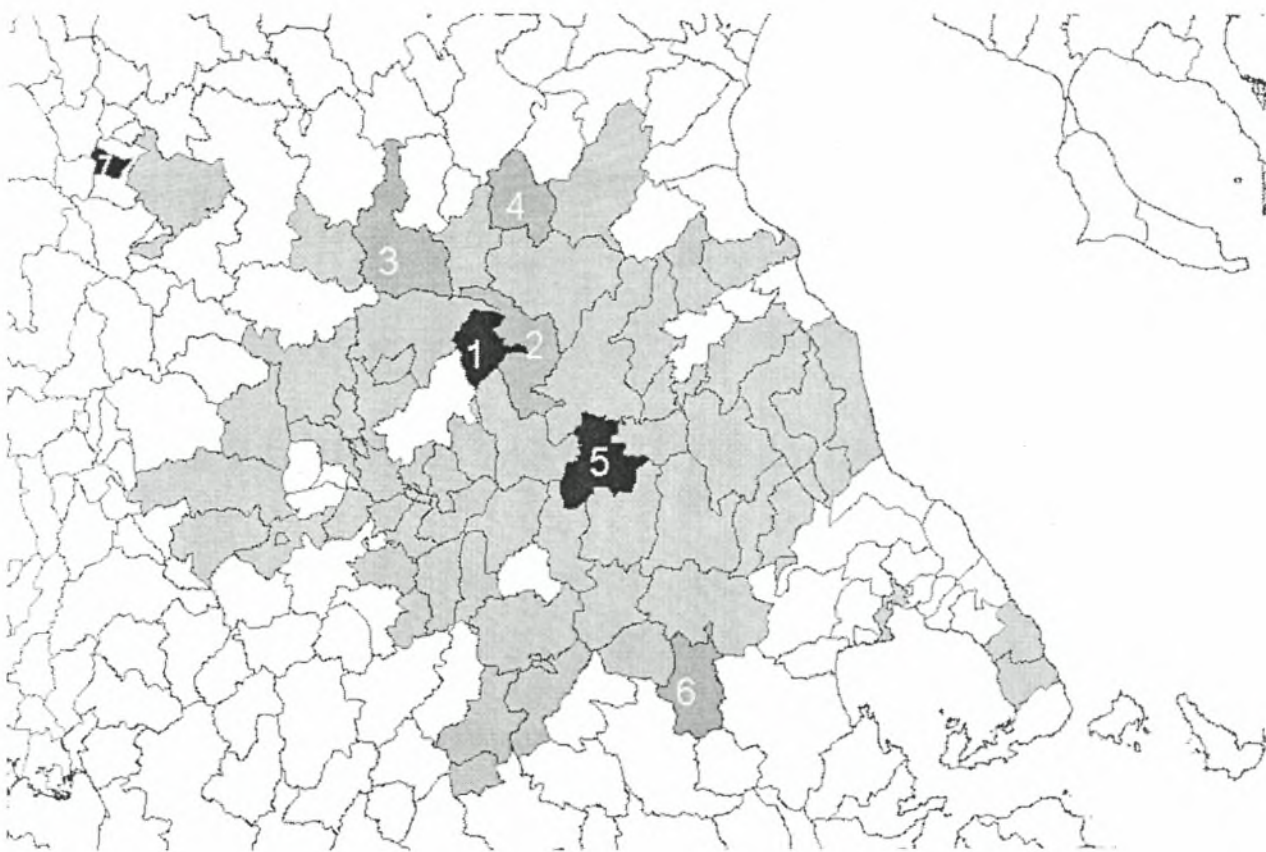
Στην εικόνα 3 παρουσιάζεται η αναλυτική γεωγραφική κατανομή της χρόνιας λοίμωξης από τον HBV (ως προς την καταγωγή), όπως προκύπτει από τη στατιστική επεξεργασία του τόπου καταγωγής 303 ασθενών του Ειδικού Ηπατολογικού Ιατρείου της Πανεπιστημιακής Παθολογικής Κλινικής. Οι Καποδιστριακοί δήμοι με αυξημένη συχνότητα της λοίμωξης αναλογικά με τον πληθυσμό τους είναι: η κοινότητα Βερδικούσιας, ο δήμος Ποταμιάς, ο δήμος Σαρανταπόρου, ο δήμος Κοιλιάδας και ο δήμος Ναρθακίου στο νομό Λάρισας, καθώς επίσης η κοινότητα Σμίξης και ο δήμος Δεσκάτης του νομού Γρεβενών. Αναλυτικότερα χαρακτηριστικά αυτών των περιοχών αναδεικνύονται στον πίνακα 8.

Από το δήμο Κοιλιάδας κατάγονται 16 ασθενείς (5,3%, CI: 3,6-8,6%), ενώ η λοίμωξη σε αυτήν την περιοχή συσχετίζεται με τη σεξουαλική μετάδοση του ιού (OR: 3,7, $p=0,02$). Καμία άλλη από τις οδούς μετάδοσης της λοίμωξης δε συσχετίστηκε με τους ασθενείς με αυτήν την καταγωγή. Επιπρόσθετα, δεν ανευρέθηκε στατιστικώς σημαντική συσχέτιση με επιδημιολογικά δεδομένα του σεξουαλικού ιστορικού τους (μη λήψη προφύλαξης, πολλαπλές σεξουαλικές επαφές, πρόωμη έναρξη σεξουαλικής δραστηριότητας).

Η λοίμωξη των 3 ασθενών (1%, CI: 0,3-3,1%) προερχόμενων από την κοινότητα Σμίξης σχετίζεται με τη μετάδοση μέσω παραδοσιακών πρακτικών (βεντούζες με συνοδό δερματική τομή,

κοινόχρηστες βελόνες) (OR: 14,6, $p=0,04$, Fisher's exact test). Αντίθετα, η μετάδοση της χρόνιας ηπατίτιδας B στην περιοχή της Ποταμιάς φαίνεται να γίνεται κάθετα (OR: 5,2, $p=0,003$, Fisher's exact test). Επίσης, δε βρέθηκε καμία άλλη συσχέτιση μεταξύ των ασθενών καταγόμενων από τις παραπάνω περιοχές και των οδών μετάδοσης της χρόνιας ηπατίτιδας B (univariate analysis και multivariate logistic regression analysis), είτε θεωρώντας τους συνολικά ($n=71$) είτε εξετάζοντάς τους ξεχωριστά για κάθε περιοχή.

Εικόνα 3. Γεωγραφική κατανομή της λοίμωξης από τον HBV στην Κεντρική Ελλάδα σε συνάρτηση με την καταγωγή των ασθενών.



1: Κοινότητα Βερδικούσιας, 2: Δήμος Ποταμιάς, 3: Δήμος Δεσκάτης, 4: Δήμος Σαρανταπόρου, 5: Δήμος Κοιλάδας, 6: Δήμος Ναρθακίου, 7: Κοινότητα Σμίξης.

Πίνακας 8. Χαρακτηριστικά δήμων - κοινοτήτων με αυξημένο ποσοστό λοίμωξης από τον HBV αναλογικά με τον πληθυσμό τους, σε συνάρτηση με την καταγωγή των ασθενών.

	Κοιλιάδα	Σμίξη	Ποταμιά	Δεσκάτη	Βερδικούσια	Σαραντάπορο	Ναρθάκι
Αριθμός ασθενών (95% CI)	16 (3,6-8,6)	3 (0,3-3,1)	14 (2,6-7,8)	9 (1,5-5,8)	17 (3,4-9)	9 (1,5-5,8)	3 (0,3-3,1)
Πληθυσμός	3305	509	5065	5066	2236	3588	1781
Ratio	0,0048	0,0058	0,0029	0,0017	0,0076	0,0019	0,0028
Κάθετη μετάδοση	3/16	0/3	³ 10/14	5/9	5/17	0/9	0/3
Σεξουαλική	¹ 6/16	0/3	1/14	1/9	3/17	1/9	1/3
Ενδοοικογενειακή	5/16	1/3	1/14	2/9	7/17	4/9	1/3
Μεταγγίσεις	0/16	0/3	1/14	0/9	0/17	0/9	0/3
Παραδοσιακές Πρακτικές	2/16	² 2/3	1/14	0/9	1/17	3/9	1/3
Άγνωστη	0/16	0/3	0/14	1/9	1/17	1/9	0/3

Ratio: ο λόγος των περιπτώσεων λοίμωξης από τον HBV ανά περιοχή με το συνολικό πληθυσμό της. ¹p=0,02, ²p=0,04 (Fisher's exact test), ³p=0,03 (Fisher's exact test).

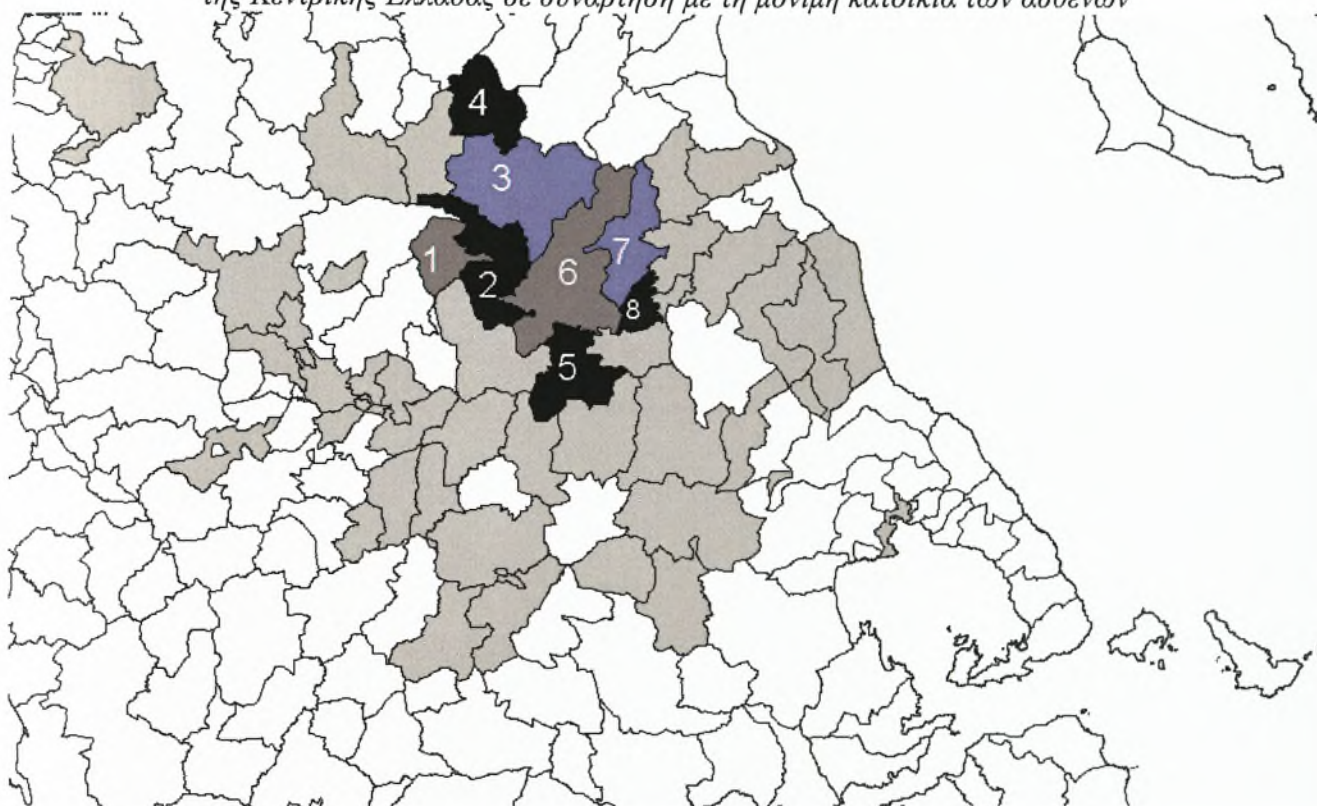
3.5.4. ΓΕΩΓΡΑΦΙΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΤΗΣ ΛΟΙΜΩΞΗΣ ΑΠΟ ΤΟΝ HBV ΣΕ ΣΥΝΑΡΤΗΣΗ ΜΕ ΤΗ ΜΟ- ΝΙΜΗ ΚΑΤΟΙΚΙΑ ΤΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ (n=303)

Βρέθηκαν 8 περιοχές με αυξημένη συχνότητα χρόνιας ηπατίτιδας Β σε σχέση με τον πληθυσμό τους (Εικόνα 4). Όλες αφορούν στο νομό Λάρισας και είναι οι δήμοι της Ποταμιάς, του Σαρανταπόρου, της Ελασσόνας, της Κοιλιάδας, του Τυρνάβου, του Αμπελώνα και της Γιάννουλης, καθώς επίσης και η κοινότητα της Βερδικούσιας. Τα

πληθυσμιακά και επιδημιολογικά χαρακτηριστικά των ασθενών στις παραπάνω περιοχές παρουσιάζονται στους Πίνακες 9α και 9β.

Επτά ασθενείς (2,3%, OR: 1-4,9%) κατοικούν στο δήμο της Ποταμιάς. Πέντε από αυτούς (83,3%, OR: 35,9-99,6%) έχουν ιστορικό πολλαπλών αιματηρών οδοντιατρικών εργασιών στο παρελθόν χωρίς να

Εικόνα 4. Γεωγραφική κατανομή της χρόνιας λοίμωξης από τον HBV στην περιοχή της Κεντρικής Ελλάδας σε συνάρτηση με τη μόνιμη κατοικία των ασθενών



1□Βερδικούσια, 2□Ποταμιά, 3□Ελασσόνα, 4□Σαραντάπορο, 5□Κουλάδα, 6□Γύρναβος, 7□Αμπελώνας, 8□Γιάννουλη.

ενημερώνουν τον οδοντίατρό τους ή να γνωρίζουν το πρόβλημά τους. Επιπλέον, 4 (57,1%, OR: 18,4-90,1%) δε διατηρούσαν σταθερή ερωτική σχέση τη στιγμή της καταγραφής, ενώ 3 από αυτούς (40%, OR: 5,3-85,3%) ανέφεραν δύο ή περισσότερες σχέσεις ανά έτος στο παρελθόν, χωρίς να λαμβάνουν προφύλαξη.

Στο δήμο Ελασσόνας κατοικούν 11 ασθενείς (3,6%, CI: 1,9-6,6%). Οχτώ είναι άνδρες και 3 είναι γυναίκες. Από αυτούς, 9 (81,8%,

CI: 48,2-99,7%) είχαν πολλαπλές επισκέψεις σε οδοντίατρο, 1 (9%, CI: 2-33%) ηλικίας <35 ετών δε διατηρούσε σταθερή σχέση στην πρώτη επίσκεψη στο Ηπατολογικό Ιατρείο, ενώ 3 (27,2%, CI: 9,1-58,1%) είχαν προηγούμενο σεξουαλικό ιστορικό πολλαπλών επαφών.

Πίνακας 9α. Χαρακτηριστικά δήμων - κοινοτήτων με αυξημένο ποσοστό λοίμωξης από τον HBV αναλογικά με τον πληθυσμό τους, σε συνάρτηση με τη μόνιμη κατοικία των ασθενών (n=303).

	Βερδικούσια	Ποταμιά	Ελασσόνα	Σαραντάπορο
Αριθμός ασθενών (95% CI)	4 (0,4-3,6%)	7 (1-4,9%)	11 (1,9-6,6%)	5 (0,6-4)
Πληθυσμός	2236	5065	10969	3588
Ratio	0,0017	0,0013	0,0010	0,0014
Φύλο (Α/Γ)	2/2	7/2	8/3	2/3
Ηλικιακό εύρος (έτη)				
10-35	3/4	5/7	4/11	0/5
35-70	1/4	2/7	7/11	5/5
Διάρκεια λοίμωξης (μήνες)				
0-60	2/4	4/7	4/11	2/5
61-120	1/4	1/7	4/11	2/5
121-180	0/4	1/7	3/11	0/5
181-240	1/4	1/7	0/11	1/5
241-300	0/4	0/7	0/11	0/5
>300	0/4	0/7	0/11	0/5
Κατανάλωση αλκοόλ	1/4	2/7	3/11	2/5
Μορφωτικό επίπεδο				
Αναφάβητοι- δημοτικό	4/4	1/7	5/11	5/5
Γυμνάσιο-λύκειο	0/4	4/7	5/11	0/5
Ανώτερη-ανώτατη	0/4	1/7	1/11	0/5
Οδοντ/κές εργασίες (ενημέρωση)	4/4 (1)	5/7 (0)	9/11 (2)	4/5 (0)
Μη χρήση προφυλακτικού	1/4	5/7	1/11	2/5
Πολλαπλές επαφές	0/4	2/7	3/11	0/5
Παράλληλη σχέση	0/4	0/7	0/11	0/5

Ratio: ο λόγος των περιπτώσεων λοίμωξης από τον HBV ανά περιοχή με το συνολικό πληθυσμό της.

Στην περιοχή του Σαρανταπόρου κατοικούν 5 ασθενείς (1,7%, CI: 0,6-4%), 4 εκ των οποίων (80%, CI: 28,4-99,5%) υπέστησαν οδοντιατρικές εργασίες χωρίς να γνωρίζουν το πρόβλημά τους. Επιπρόσθετα, από τους 11 ασθενείς (3,6%, CI: 1,9-6,6%) που κατοικούν στο δήμο Κοιλιάδας, 9 (81,8%,CI: 48,2-99,7%) δεν ενημερώ-

Πίνακας 9β. Χαρακτηριστικά δήμων - κοινοτήτων με αυξημένο ποσοστό λοίμωξης από τον HBV αναλογικά με τον πληθυσμό τους σε συνάρτηση με τη μόνιμη κατοικία των ασθενών.

	Κοιλιάδα	Τύρναβος	Αμπελώνας	Γιάννουλη
Αριθμός ασθενών (95% CI)	11 (1,9-6,6%)	30 (6,9-14%)	7 (1-4,9%)	17 (3,4-9%)
Πληθυσμός	3305	16900	8407	10022
Ratio	0,0034	0,0017	0,0010	0,0016
Φύλο (Α/Γ)	6/5	15/15	3/4	9/8
Ηλικιακό εύρος (έτη)				
10-35	0/11	19/30	6/7	10/17
35-70	11/11	11/30	1/7	7/17
Διάρκεια λοίμωξης (μήνες)				
0-60	3/11	20/30	4/7	10/17
61-120	8/11	8/30	1/7	4/17
121-180	0/11	2/30	1/7	2/17
181-240	0/11	0/30	1/7	1/17
241-300	0/11	0/30	0/7	0/17
>300	0/11	0/30	0/7	0/17
Κατανάλωση αλκοόλ	2/11	8/30	2/7	4/17
Μορφωτικό επίπεδο				
Αναλφάβητοι- δημοτικό	10/11	7/30	1/7	8/17
Γυμνάσιο-λύκειο	0/11	15/30	4/7	8/17
Ανώτερη-ανώτατη	1/11	3/30	2/7	1/17
Οδοντ/κές εργασίες (ενημέρωση)	9/11 (2)	29/30 (4)	7/7 (2)	15/17 (4)
Μη χρήση προφυλακτικού	1/11	9/30	4/7	4/17
Πολλαπλές επαφές	3/11	3/30	2/7	0/17
Παράλληλη σχέση	0/11	1/30	0/7	1/17

Ratio: ο λόγος των περιπτώσεων λοίμωξης από τον HBV ανά περιοχή με το συνολικό πληθυσμό της.

νουν σχετικά με το πρόβλημα υγείας τους, ενώ το ίδιο ισχύει για 25, 5 και 11 ασθενείς από τους δήμους Τυρνάβου, Αμπελώνα και Γιάννουλης αντίστοιχα. Τέλος, δε βρέθηκε καμία στατιστικώς σημαντική συσχέτιση μεταξύ των ασθενών κατοίκων των παραπάνω περιοχών και του φύλου, της ηλικίας, του μορφωτικού επιπέδου, της πηγής και της διάρκειας της λοίμωξης και της κατανάλωσης οινόπνεύματος είτε θεωρώντας τους συνολικά (n=92) είτε εξετάζοντάς τους ξεχωριστά για κάθε περιοχή.

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η παρούσα μελέτη ανέδειξε, σε μεγάλη σειρά διαδοχικών ασθενών, τα επιδημιολογικά χαρακτηριστικά της χρόνιας λοίμωξης από τον HBV στην Κεντρική Ελλάδα. Η κατανομή ηλικίας στους άνδρες με λοίμωξη από τον HBV είναι κανονική, ενώ στις γυναίκες παρουσιάζει δύο κορυφές στα 31-40 και τα 51-60 έτη, αντίστοιχα. Φαίνεται πως στην συγκεκριμένη γεωγραφική περιφέρεια οι άνδρες μολύνονται πιο συχνά από τις γυναίκες (αναλογία 1,5 : 1 στο δείγμα). Το ανδρικό φύλο έχει αναφερθεί και στο παρελθόν ως παράγοντας κινδύνου για τη μετάδοση της χρόνιας ηπατίτιδας Β.²⁴ Στις αναπτυσσόμενες χώρες και ιδιαίτερα στις αγροτικές περιοχές, όπως είναι η Κεντρική Ελλάδα (στοιχεία απογραφής 2001), το ανδρικό φύλο, πολύ περισσότερο σε σχέση με το γυναικείο, έχει συνδεθεί με συγκεκριμένες μορφές «παραβατικής» συμπεριφοράς (πολλαπλοί σεξουαλικοί σύντροφοι, ξύρισμα σε κουρέια, συχνά ταξίδια), κάτι που θα μπορούσε να εξηγήσει τη μεγαλύτερη συχνότητα λοίμωξης στους άνδρες. Στην παρούσα μελέτη η σεξουαλική μετάδοση της χρόνιας ηπατίτιδας Β σχετίστηκε δύο φορές περισσότερο με το άρρεν φύλο, ενώ οι άνδρες αναφέρουν την ύπαρξη πολλαπλών ερωτικών συντρόφων 28 φορές συχνότερα.

Τα παραπάνω γίνονται πιο σαφή, αν αναλογιστούμε τις κοινωνικοοικονομικές συνθήκες που επικρατούσαν στην Ελλάδα πριν από 3-4 δεκαετίες, περίοδος στην οποία συνέβη και το μεγαλύτερο ποσοστό των μολύνσεων, τις οποίες και ερευνούμε στην παρούσα μελέτη. Επιπλέον, παρόμοια αποτελέσματα έχουν ήδη αναφερθεί σε μελέτες από την Ελλάδα,^{11,25} αλλά και σε πρόσφατες αναφορές από μουσουλμανικές χώρες στις οποίες ο αποκλεισμός του γυναικείου φύλου από την ενεργό κοινωνική ζωή συνεχίζεται.²⁶⁻²⁸

Η αυξημένη συχνότητα λοίμωξης από τον HBV μεταξύ ατόμων χαμηλού μορφωτικού επιπέδου βρίσκεται σε συμφωνία με παρόμοιες αναφορές από ποικίλες περιοχές της γης.^{11,13,14,26,29-31} Πραγματικά, τα υψηλού μορφωτικού επιπέδου άτομα τείνουν να συμμορφώνονται με τις υπηρεσίες αγωγής υγείας (μέτρα πρόληψης, εμβολιασμός, υψηλής ποιότητας οδοντιατρικές εργασίες), ζουν σε καλύτερες συνθήκες υγιεινής, ενώ κατοικώντας συνήθως σε αστικές περιοχές έχουν καλύτερη πρόσβαση στις υπηρεσίες του συστήματος υγείας.³²

Η Ελλάδα εξακολουθεί να είναι μία χώρα με ενδιάμεση ενδημικότητα λοίμωξης από τον HBV, και ως εκ τούτου μικτό πρότυπο λοίμωξης αναφορικά με τον τρόπο μετάδοσης (μετάδοση στη βρεφική και πρώιμη παιδική ηλικία αλλά και στην ενήλικη ζωή).³³ Αποτελέσματα μελετών σε παρόμοιας ενδημικότητας γεωγραφικές περιφέρειες συμβαδίζουν με τα ευρήματα από την Κεντρική Ελλάδα.^{26,34-36} Πράγματι, η κάθετη και η ενδοοικογενειακή μετάδοση της λοίμωξης φαίνεται να είναι δύο από τις κυριότερες οδούς διασποράς του HBV στη χώρα μας τις προηγούμενες δεκαετίες (66% των ασθενών στην παρούσα μελέτη). Οι αγροτικές οικογένειες, όντας συχνά πολυμελείς με συγχρωτισμό πολλών ατόμων σε μικρούς χώρους, συμβάλλουν καταλυτικά στην οριζόντια μετάδοση της λοίμωξης από τον HBV από τους γονείς στα παιδιά ή μεταξύ των αδελφών και γονέων. Είναι επίσης εξαιρετικά ενδιαφέρον ότι περίπου το 20% των ασθενών της μελέτης αναφέρουν θετικό οικογενειακό ιστορικό ικτέρου ή άλλης ηπατοπάθειας.

Το μεγαλύτερο ποσοστό των μολύνσεων συμβαίνει μέχρι την πρώιμη παιδική ηλικία³³ και με δεδομένο ότι πάνω από το 90% αυτών είναι ασυμπτωματικές, τα νοσούντα άτομα δεν έχουν κλινικά έκδηλη νόσο. Στην παρούσα μελέτη, οι ασθενείς με σχεδόν βέβαιη πηγή λοίμωξης την κάθετη μετάδοση παρέμειναν αδιάγνωστοι επί 38 περίπου

έτη κατά μέσο όρο. Το γεγονός αυτό είναι εξαιρετικής σημασίας από πλευράς δημόσιας υγείας, αν αναλογιστεί κανείς ότι κατά τη διάρκεια αυτών των ετών οι ασθενείς αυτοί συνάπτουν ερωτικούς δεσμούς (16,5% έχει >2 σχέσεις κάθε έτος), προσφεύγουν στις υγειονομικές υπηρεσίες (χειρουργεία, εισαγωγές σε νοσοκομεία, οδοντιατρικές εργασίες) και γενικότερα είναι ενεργά μέλη της κοινότητας. Είναι προφανές ότι οι ασθενείς αυτοί αποτελούν μία «σιωπηλή δεξαμενή» της λοίμωξης, το μέγεθος της οποίας καθώς και την επίπτωσή της στην παράταση του προβλήματος στην Κεντρική Ελλάδα είναι δύσκολο να εκτιμηθούν. Είναι επιβεβλημένο να διεξαχθούν μελέτες που να περιλαμβάνουν στοιχεία από το γενικό πληθυσμό της Κεντρικής Ελλάδας, μιας και η έλλειψή τους σηματοδοτεί έναν από τους περιορισμούς της παρούσας έρευνας.

Εντούτοις, αδημοσίευτες παρατηρήσεις (Νταλέκος και Γατσέλης 2005) σε τυχαίο μη επιλεγμένο δείγμα γενικού πληθυσμού 1.147 Θεσσαλών από τους τρεις νομούς της Περιφέρειας Θεσσαλίας (Λάρισα, Τρικάλων, Καρδίτσας) με τη χρήση στατιστικού μοντέλου, ώστε να είναι αντιπροσωπευτικό, έδειξε μέσο επιπολασμό 4,26% (εύρος 3,6-5,2%).

Όπως αναμενόταν και έχει ήδη περιγραφεί³⁷ το τρύπημα των αυτιών για τους άνδρες, το τατουάζ και ο βελονισμός δεν αποτελούν συνήθεις οδούς λοίμωξης από τον HBV, καθώς κανένας από τους ασθενείς δεν είχε πηγή λοίμωξης που να συνδέεται με τις παραπάνω δραστηριότητες. Επιπρόσθετα, οι προηγούμενες μεταγγίσεις ενοχοποιήθηκαν για τη μετάδοση της λοίμωξης μόνο στο 3% του δείγματος (9 ασθενείς με αναφερόμενη μετάγγιση πριν το 1985), γεγονός που αντανακλά τη σημασία του σχολαστικού και συστηματικού ελέγχου των αιμοδοτών από τις Αιμοδοσίες της χώρας.

Από την άλλη μεριά, η λοίμωξη από τον HAV έχει παγκόσμια εξάπλωση. Η οξεία ηπατίτιδα Α είναι ως επί το πλείστον αυτοπεριοριζόμενη με εξαιρετικά χαμηλό ποσοστό θνητότητας (0,3%).³⁸ Εντούτοις, η λοίμωξη με τον HAV σε ασθενή με προϋπάρχουσα ηπατική νόσο είναι εξαιρετικά επικίνδυνη και σχετίζεται με αυξημένο ποσοστό θνητότητας, που κυμαίνεται από 4,5% σε ασθενείς με χρόνια ηπατοπάθεια μη ιογενούς αιτιολογίας ως 11,7-35% σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα Β και χρόνια ηπατίτιδα C αντίστοιχα.^{4,39} Για τους παραπάνω λόγους η ενεργητική ανοσοποίηση έναντι του HAV είναι επιβεβλημένη στους ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα Β.

Στην παρούσα μελέτη, το συνολικό ποσοστό προηγηθείσας λοίμωξης από ηπατίτιδα Α (80,4%) ήταν σημαντικά υψηλότερο σε σχέση με αποτελέσματα πρόσφατων μελετών από την Ελλάδα, που αφορούσαν τόσο στο γενικό πληθυσμό όσο και σε ιδιαίτερες επαγγελματικές κατηγορίες.^{10,40,41} Εξάλλου, είναι παρόμοιο με τον επιπολασμό της ηπατίτιδας Α, όπως περιγράφεται σε μελέτες της δεκαετίας του '70 και των αρχών της δεκαετίας του '80.^{42,43} Οι μόνες αναφορές από τον Ελλαδικό χώρο με υψηλότερα ποσοστά ορολογικών δεικτών παρελθούσης λοίμωξης από τον HAV αφορούν σε πρόσφυγες από τη νότια Αλβανία, καθώς και μια καλώς καθορισμένη αγροτική περιοχή της Κρήτης.^{13,44,45} Εντούτοις, ο επιπολασμός της ηπατίτιδας Α είναι χαμηλότερος από τον αντίστοιχο σε ασθενείς με χρόνια ηπατοπάθεια, που περιγράφηκε το 1985 στην Ελλάδα,⁴⁶ αλλά εξακολουθεί να είναι υψηλότερος σε σχέση με πρόσφατες αναφορές από τις Η.Π.Α.^{47,48} Είναι βέβαιο ότι τα παραπάνω στοιχεία θα πρέπει να συσχετιστούν με αντίστοιχα που θα περιλαμβάνουν και δεδομένα του γενικού πληθυσμού της Κεντρικής Ελλάδας.

Η λοίμωξη με τον HAV στους ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα Β συσχετίστηκε με την ηλικία, την κατοικία και το μορφωτικό επίπεδο. Οι ηλικίες άνω των 50 ετών, η αγροτική κατοικία και το χαμηλό μορφωτικό επίπεδο συνδέονται θετικά με οροθετικότητα συμβατή με παρελθούσα λοίμωξη από τον HAV, ενώ αντίθετα η νεαρές ηλικίες, η αστική κατοικία και το υψηλό μορφωτικό επίπεδο έχουν αρνητική συσχέτιση. Παρ' όλα αυτά, ο επιπολασμός της οροθετικότητας για αντί-HAV IgG αντισώματα είναι σχετικά υψηλός ακόμα και στις μικρές ηλικίες. Αυτό μπορεί εύκολα να εξηγηθεί από το σχετικά χαμηλό μορφωτικό επίπεδο των ασθενών του δείγματος. Επιπλέον, η Κεντρική Ελλάδα και ειδικότερα η Θεσσαλία είναι μία γεωγραφική περιφέρεια με υψηλό ποσοστό αγροτικού πληθυσμού και χαρακτηρίζεται από πρόσφατη αστικοποίηση η οποία εξελίσσεται τα τελευταία 25 χρόνια. Επομένως, τα αποτελέσματα της βελτίωσης της ύδρευσης και των συνθηκών υγιεινής θα γίνουν πιο εμφανή στα μελλοντικά έτη.

Έχει ήδη περιγραφεί ότι η κατανάλωση οινοπνεύματος σε συνδυασμό με τη χρόνια λοίμωξη από τον HBV επιταχύνει την εμφάνιση της ηπατικής βλάβης, αυξάνει το σχετικό κίνδυνο εμφάνισης κίρρωσης και ηπατοκυτταρικού καρκίνου και μειώνει την επιβίωση, σε σχέση με τους χρήστες οινοπνεύματος που δε νοσούν συγχρόνως και από χρόνια ηπατίτιδα Β.⁴⁹⁻⁵² Φαίνεται πως η αιθανόλη αυξάνει, τουλάχιστον σε πειραματόζωα, τον πολλαπλασιασμό και την αντιγραφή του ιού, ενώ μεταβάλλει την έκφραση των γονιδίων του.⁵³ Στην παρούσα μελέτη, οι ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα Β που ήταν παράλληλα και χρήστες οινοπνεύματος είχαν 2,5 φορές μεγαλύτερο κίνδυνο ανάπτυξης κίρρωσης-ηπατοκυτταρικού καρκίνου σε σχέση με όσους δεν κατανάλωναν οινόπνευμα. Εξάλλου, βρέθηκε ότι είναι ο μοναδικός ανεξάρτητος παράγοντας σε σχέση με την ηλικία καθώς και τη διάρκεια και την πηγή της λοίμωξης, που επηρεάζει την εξέλιξη της

νόσου προς ανάπτυξη κίρρωσης-ηπατοκυτταρικού καρκίνου. Εντούτοις, έχει περιγραφεί και η αντίθετη συσχέτιση (η χρήση οινοπνεύματος να δρα αποτρεπτικά στην εξέλιξη της νόσου σε ηπατοκυτταρικό καρκίνο⁴⁵), αλλά μάλλον αυτό σχετίζεται με περιορισμούς της συγκεκριμένης μελέτης στο προσδιορισμό της ημερήσιας πρόσληψης αιθανόλης, λόγω του χαμηλού μορφωτικού επιπέδου του δείγματος.

Επιπλέον, η χρήση οινοπνεύματος μεταξύ των ασθενών με χρόνια ηπατίτιδα Β, κάτι που είναι ιδιαίτερα συχνό,^{15,50} αφορά τυπικά σε άνδρες 35-70 ετών και είναι ανεξάρτητη από τον τόπο κατοικίας και το μορφωτικό επίπεδο. Το γεγονός ότι η σεξουαλική μετάδοση της λοίμωξης είναι ανεξάρτητη από τη χρήση οινοπνεύματος σχετίζεται με την οδό απόκτησης της λοίμωξης και όχι με τη διασπορά της. Αντίθετα, οι χρήστες οινοπνεύματος φαίνεται ότι παρουσιάζουν μία εξαιρετικά επικίνδυνη για τον υγιή πληθυσμό σεξουαλική συμπεριφορά με εναλλαγή πολλών συντρόφων χωρίς να λαμβάνουν προφυλακτικά μέτρα ή διατηρώντας παράλληλες σχέσεις χωρίς προφύλαξη. Η επίδραση δε, της χρόνιας κατανάλωσης οινοπνεύματος στην ψυχική σφαίρα αυτών, καθιστά τη συμμόρφωσή τους προς τους κανόνες της αγωγής υγείας ιδιαίτερα δύσκολη και προβληματική.

Στην παρούσα μελέτη αποτυπώνεται επίσης για πρώτη φορά η γεωγραφική κατανομή της λοίμωξης από τον HBV στην Κεντρική Ελλάδα. Βρέθηκαν συγκεκριμένοι Καποδιστριακοί δήμοι με αυξημένη συχνότητα λοίμωξης από τον HBV σε σχέση με τον πληθυσμό τους. Με δεδομένο ότι το μεγαλύτερο ποσοστό των μολύνσεων επισυμβαίνει μέχρι την πρώιμη παιδική ηλικία, η συσχέτιση του τόπου καταγωγής με την πηγή λοίμωξης (ο δήμος Κοιλιάδας με τη σεξουαλική μετάδοση, η κοινότητα της Σμίξης με τις παραδοσιακές πρακτικές, ο δήμος Ποταμιάς με την κάθετη μετάδοση) είναι εξαιρετικά σημαντική, για τον

καλύτερο σχεδιασμό της δράσης των κεντρικών υπηρεσιών δημόσιας υγείας.

Αντίθετα, οι περιοχές με αυξημένη συχνότητα λοίμωξης σε συνάρτηση με τη μόνιμη κατοικία των ασθενών αντιπροσωπεύουν τις περιοχές στις οποίες τώρα είναι ενεργό το πρόβλημα και επομένως έχει σημασία η πιο αναλυτική περιγραφή του. Το γεγονός ότι δε βρέθηκε συσχέτιση μεταξύ των HBV ασθενών κατοίκων των παραπάνω περιοχών και του φύλου, της ηλικίας, του μορφωτικού επιπέδου, της πηγής και της διάρκειας της λοίμωξης καθώς και της κατανάλωσης οινόπνεύματος, πιθανώς να υποδηλώνει ότι όλοι οι παράγοντες κινδύνου συμμετέχουν στην διατήρηση του προβλήματος (multifactorial etiology and stability of the problem).

Είναι πολύ σημαντικό από επιδημιολογικής άποψης ότι οι περιοχές της Βερδικούσιας, του Σαρανταπόρου, της Κοιλάδας και της Ποταμιάς εμφανίζουν αυξημένη συχνότητα λοίμωξης τόσο σε σχέση με την καταγωγή όσο και με την κατοικία. Πρόκειται για περιφέρειες του νομού Λάρισας, στις οποίες διαφαίνεται ότι το πρόβλημα της χρόνιας λοίμωξης από τον HBV είναι ενεργό. Ίσως σε αυτό να συμβάλλει και η γεωγραφική θέση αυτών των περιοχών (απομονωμένες, ορεινές), ενώ επιπλέον οι κάτοικοι ορισμένων κοινοτήτων ανήκουν, ως επί το πλείστον, σε κλειστές πληθυσμιακές ομάδες.

Εξάλλου, αυξημένη συχνότητα λοίμωξης από τη χρόνια ηπατίτιδα Β παρουσιάζει και η κοινότητα της Σμίξης. Μολονότι αυτή η περιοχή είναι σχετικά απομονωμένη από τις υπόλοιπες που παρουσιάζουν αυξημένη συχνότητα, το εύρημα δε θα μπορούσε να χαρακτηριστεί ως τυχαίο. Και αυτό γιατί, οι κάτοικοί της έχουν ισχυρούς οικονομικούς και κοινωνικούς δεσμούς με τους κατοίκους περιοχών του νομού Λάρισας (κτηνοτρόφοι που το χειμώνα

μετανάστευαν μαζί με τα κοπάδια τους σε πεδινές εκτάσεις του νομού Λάρισας).

Είναι χαρακτηριστικό ότι η γεωγραφική κατανομή της λοίμωξης σε συνάρτηση με την κατοικία (Εικόνα 4) παρουσιάζει συρρέοντα χαρακτήρα, αφορά σε γειτονικές περιοχές και συμβαδίζει με τη γεωγραφική κατανομή στο γενικό πληθυσμό (απογραφή 2001). Σε σχέση με την Εικόνα 3 αναδεικνύονται 4 νέοι Καποδιστριακοί δήμοι (Ελασσόνα, Τύρναβος, Αμπελώνας, Γιάννουλη). Πρόκειται για αναπτυσσόμενες ημιαστικές περιφέρειες, η ανάδειξη των οποίων πιθανώς να οφείλεται στην πληθυσμιακή ανακατανομή των τελευταίων 30 ετών (μετανάστευση από τις ορεινές περιοχές σε αστικά ή ημιαστικά κέντρα).

Εξάλλου, είναι σημαντικό ότι η γεωγραφική κατανομή σε μεγαλύτερο δείγμα ασθενών του Ηπατολογικού Ιατρείου (n=921) δεν παρουσιάζει ουσιαστικές μεταβολές, αντανakλώντας και το μέγεθος του προβλήματος στις περιοχές αυτές. Στην Εικόνα 2 αναδεικνύονται για πρώτη φορά 2 νέες περιφέρειες (δήμοι Ολύμπου και Λακέρειας). Περαιτέρω μελέτες στις εν λόγω περιφέρειες αλλά και στο γενικό πληθυσμό είναι απαραίτητες για την καλύτερη εκτίμηση του προβλήματος της χρόνιας λοίμωξης από τον HBV στην Κεντρική Ελλάδα.

Στη χώρα μας, ο υποχρεωτικός εμβολιασμός των βρεφών έναντι του ιού της ηπατίτιδας Β άρχισε να εφαρμόζεται από το 1998. Ως εκ τούτου, μέχρι να διαφανούν τα ευεργετικά αποτελέσματα αυτού του μέτρου στο γενικό πληθυσμό αλλά και στην Κεντρική Ελλάδα, είναι απαραίτητος ο εμβολιασμός των ευαίσθητων ατόμων στις περιοχές με αυξημένη συχνότητα λοίμωξης. Η παγκόσμια εμπειρία σε χώρες με αυξημένο επιπολασμό λοίμωξης από τον HBV, έχει δείξει ότι ο σχολαστικός έλεγχος του εμβολιασμού των βρεφών, η εφαρμογή της

ενεργητικής ανοσοποίησης σε μη εμβολιασμένα παιδιά, καθώς και η επέκταση του εμβολιασμού στους ενήλικες ομάδων υψηλού κινδύνου έχει την καλύτερη αποτελεσματικότητα στην μείωση της επίπτωσης της λοίμωξης από τον HBV.^{33,55-59} Δεν πρέπει επίσης να λησμονείται το γεγονός ότι ο εμβολιασμός έναντι του HBV δεν προστατεύει μόνο από τη μετάδοση της λοίμωξης αλλά και από τις μακροχρόνιες επιπλοκές της (κίρρωση - πυλαία υπέρταση - ηπατοκυτταρικός καρκίνος).

Συμπερασματικά:

- Η παρούσα μελέτη ανέδειξε, σε μεγάλη σειρά διαδοχικών ασθενών, τα επιδημιολογικά χαρακτηριστικά της χρόνιας λοίμωξης από τον HBV στην Κεντρική Ελλάδα. Η κατανομή ηλικίας στους άνδρες με λοίμωξη από τον HBV είναι κανονική, ενώ στις γυναίκες παρουσιάζει δύο κορυφές στα 31-40 και τα 51-60 έτη, αντίστοιχα.
- Οι άνδρες μολύνονται πιο συχνά από τις γυναίκες (αναλογία 1,5 : 1 στο δείγμα). Η σεξουαλική μετάδοση της χρόνιας ηπατίτιδας Β σχετίζεται δύο φορές περισσότερο με το αρρεν φύλο.
- Η κάθετη και η ενδοοικογενειακή μετάδοση της λοίμωξης είναι οι δύο κύριες οδοί διασποράς του HBV στην περιοχή της Θεσσαλίας (66% των ασθενών στην παρούσα μελέτη). Οι ασθενείς με σχεδόν βέβαιη πηγή λοίμωξης την κάθετη μετάδοση παρέμειναν αδιάγνωστοι επί 38 περίπου έτη κατά μέσο όρο, αποτελώντας μία «σιωπηλή δεξαμενή» της λοίμωξης, το μέγεθος της οποίας είναι δύσκολο να εκτιμηθεί. Εντούτοις, η επίπτωση του φαινομένου αυτού στην παράταση του προβλήματος στην Κεντρική Ελλάδα μάλλον θα είναι σημαντική, αν δε ληφθούν τα κατάλληλα μέτρα από πλευράς δημόσιας υγείας.

- Το τρύπημα των αυτιών για τους άνδρες, το τατουάζ και ο βελονισμός δεν αποτελούν συνήθεις οδούς μόλυνσης από τον HBV.
- Το συνολικό ποσοστό προηγηθείσας λοίμωξης από τον HAV (80,4%) ήταν σημαντικά υψηλότερο σε σχέση με αποτελέσματα πρόσφατων μελετών από την Ελλάδα, που αφορούσαν τόσο στο γενικό πληθυσμό όσο και σε ιδιαίτερες επαγγελματικές κατηγορίες. Οι ηλικίες άνω των 50 ετών, η αγροτική κατοικία και το χαμηλό μορφωτικό επίπεδο συνδέονται θετικά με την παρελθούσα λοίμωξη από τον HAV. Παρ' όλα αυτά, ο επιπολασμός της ηπατίτιδας Α σε ασθενείς από την Περιφέρεια Θεσσαλίας που πάσχουν από χρόνια λοίμωξη από τον HBV είναι σχετικά υψηλός ακόμα και στις μικρές ηλικίες. Λόγω της σχετικά πρόσφατης αστικοποίησης του πληθυσμού της Κεντρικής Ελλάδας τα αποτελέσματα της βελτίωσης της ύδρευσης και των συνθηκών υγιεινής αναμένεται να γίνουν πιο εμφανή τα επόμενα έτη.
- Οι ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα Β που ήταν παράλληλα και χρήστες οινόπνευματος είχαν 2,5 φορές μεγαλύτερο κίνδυνο εμφάνισης κίρρωσης-ηπατοκυτταρικού καρκίνου σε σχέση με όσους δεν κατανάλωναν οινόπνευμα. Εξάλλου, μετά από πολυπαραγοντική ανάλυση, βρέθηκε ότι η χρήση οινόπνευματος αποτελεί το μοναδικό παράγοντα σε σχέση με την ηλικία καθώς και τη διάρκεια και την πηγή της λοίμωξης, που επηρεάζει την εξέλιξη της νόσου προς την ανάπτυξη κίρρωσης-ηπατοκυτταρικού καρκίνου.
- Λαμβάνοντας υπόψη τους τόπους καταγωγής και μόνιμης κατοικίας των ασθενών, φαίνεται να υπάρχει σαφής συσσώρευση των κρουσμάτων HBV λοίμωξης σε συγκεκριμένες περιοχές της

Κεντρικής Ελλάδας. Η κοινότητα της Βερδικούσιας και οι δήμοι Κοιλάδας, Σαρανταπόρου και Ποταμιάς παρουσιάζουν αυξημένη συχνότητα λοίμωξης σε σχέση με τον πληθυσμό τους είτε σε συνάρτηση με την καταγωγή είτε σε συνάρτηση με τη μόνιμη κατοικία των ασθενών, και πιθανόν να αποτελούν επιπρόσθετους θυλάκους του νοσήματος. Περαιτέρω μελέτες στις εν λόγω περιφέρειες, αλλά και στο γενικό πληθυσμό, είναι απαραίτητες για την καλύτερη εκτίμηση του προβλήματος της χρόνιας λοίμωξης από τον HBV στην Κεντρική Ελλάδα.

- Ο υποχρεωτικός εμβολιασμός των βρεφών έναντι του ιού της ηπατίτιδας Β άρχισε να εφαρμόζεται από το 1998. Ως εκ τούτου, μέχρι να διαφανούν τα ευεργετικά αποτελέσματα αυτού του μέτρου στο γενικό πληθυσμό της Κεντρικής Ελλάδας, είναι μάλλον απαραίτητος ο εμβολιασμός των ευαίσθητων ατόμων στις περιοχές με αυξημένη συχνότητα λοίμωξης.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Margolis HS. Hepatitis B virus infection. Bull World Health Organ 1998; 76: 152-153.
2. Kane M. Global program for control of hepatitis B infection. Vaccine 1995; 13 (1): 47-49.
3. Margolis HS, Coleman PJ, Brown RE, Mast EE, Sheingold SH, Arevalo JA. Prevention of hepatitis B virus transmission by immunization: an economic analysis of current recommendations. JAMA 1995; 264: 1201-1208.
4. Νταλέκος ΓΝ. Παθήσεις του ήπατος, των χοληφόρων οδών και του παγκρέατος. Ιατρικό Τμήμα Λάρισας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Λάρισα 1999, σελ 15-47.
5. Scheig R. Acute and chronic viral hepatitis. Lippincotts Prim Care Pract 1998; 2(4): 390-397.
6. McQuillian GM, Townsend YR, Fields HA, Leahy M, Polk BF. Seroepidemiology of hepatitis B virus infection in the United States 1976 to 1980. Am J Med 1987; 87(3A): 5-10.
7. Stevens CE, Beasley RP, Tsui J, Lee WC. Vertical transmission of hepatitis B antigen in Taiwan. N Engl J Med 1975; 292: 771-774.
8. Kane M. Control of hepatitis B virus infection through universal infant immunization with hepatitis B vaccine. In: Viral hepatitis Management, Standards for the Future. Schering Plough International, p. 14.
9. Kao JH, Chen DS. Global control of hepatitis B virus infection. Lancet Infect Dis 2002; 2: 395-403.
10. Lionis C, Frangoulis E, Koulentakis M, Biziagos E, Kouroumalis E. Prevalence of hepatitis A, B, and C markers in school children

of a rural area of Crete, Greece. *Eur J Epidemiol* 1997; 13(4): 417-20.

- 11.Koulentaki M, Spanoudakis S, Kantidaki E, Drandakis P, Tzagarakis N, Biziagos E, Moschandrea J, Kouroumalis EA. Prevalence of hepatitis B and C markers in volunteer blood donors in Crete. A 5-year study. *J Viral Hepat* 1999; 6(3): 243-8.
- 12.Panagopoulos P, Economou A, Kasimi A, Spyropoulou P, Kanellopoulos N, Dadiotis L, Salamalekis E. Prevalence of hepatitis B and C in the maternity department of a Greek district hospital. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2004; 16(2): 106-10.
- 13.Dalekos GN, Zervou E, Karabini F, Tsianos EV. Prevalence of viral markers among refugees from southern Albania: increased incidence of infection with hepatitis A, B and D viruses. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1995; 7(6): 553-8.
- 14.Zervou EK, Dalekos GN, Boumba DS, Tsianos EV. Value of anti-HBc screening of blood donors for prevention of HBV infection: results of a 3-year prospective study in Northwestern Greece. *Transfusion* 2001; 41: 652-658.
- 15.Dalekos GN, Zervou E, Merkouropoulos MH, Tsianos EV. Prevalence of hepatitis B and C viruses infection in chronic alcoholics with or without liver disease in Ioannina, Greece: low incidence of HCV infection. *Eur J Epidemiol* 1996; 12(1): 21-5.
- 16.Dalekos GN, Manoussakis MN, Zervou E, Tsianos EV, Moutsopoulos HM. Immunologic and viral markers in the circulation of anti-HIV negative heroin addicts. *Eur J Clin Invest* 1993; 23: 219-25.
- 17.Dalekos GN, Christodoulou D, Kistis KG, Zervou EK, Hatzis J, Tsianos EV. A prospective evaluation of dermatological side-

- effects during alpha-interferon therapy for chronic viral hepatitis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1998; 10: 933-9.
18. Zachou K, Liaskos C, Christodoulou DK, Kardasi M, Papadamou G, Gatselis N, Georgiadou SP, Tsianos EV, Dalekos GN. Anti-cardiolipin antibodies in patients with chronic viral hepatitis are independent of beta2-glycoprotein I cofactor or features of antiphospholipid syndrome. *Eur J Clin Invest* 2003; 33: 161-8.
19. Liaskos C, Rigopoulou E, Zachou K, Georgiadou S, Gatselis N, Papamihali R, Dalekos GN. Prevalence and clinical significance of anticardiolipin antibodies in patients with type 1 autoimmune hepatitis. *J Autoimmun* 2005; 24: 251-60.
20. EASL international consensus conference on hepatitis B, 13-14 September 2002, Geneva, Switzerland, Consensus statement. *J Hepatol* 2003; 38: 533-40.
21. Talwalkar JA, Gores GJ. Diagnosis and staging of hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2004; 127(5): 126-32.
22. Satra M, Gatselis N, Iliopoulos D, Zacharoulis D, Dalekos GN, Tsezou A. Real-time quantification of human telomerase reverse transcriptase mRNA in liver tissues from patients with hepatocellular cancer and chronic viral hepatitis. *J Viral Hepat* 2007; 14: 41-7.
23. Bruix J, Sherman M, Llovet JM, Beaugrand M, Lencioni R, Burroughs AK, Christensen E, Pagliaro L, Colombo M, Rodes J; EASL Panel of Experts on HCC. Clinical management of hepatocellular carcinoma. Conclusions of the Barcelona-2000 EASL conference. European Association for the Study of the Liver. *J Hepatol* 2001; 35: 421-30.
24. Donovan B. Sexually transmissible diseases other than HIV. *Lancet* 2004; 363: 545-556.

- 25.Koulentaki M, Ergazaki M, Moschandrea J, Spanoudakis S, Tzagarakis N, Drandakis PE, Spandidos DA, Kouroumalis EA. Prevalence of hepatitis B and C markers in high-risk hospitalized patients in Crete: a five year observational study. *BMC Public Health* 2001; 1: 17.
- 26.Mehmet D, Meliksah E, Serif Y, Gunay S, Tuncer O, Zeynep S. Prevalence of Hepatitis B infection in the Southeastern Region of Turkey: Comparison of Risk Factors for HBV Infection in Rural and Urban Areas. *Jpn J Infect. Dis* 2005; 58: 15-19.
- 27.Pasa A, Ozsoy MF, Altunay H, Kocak N, Ekren Y, Cavusoglu S. Seroprevalence of HBV and HCV in Istanbul-Turkey. *Turkish Gulhane Med J* 1999; 41: 325-330.
- 28.Aslan G, Ulukanligil M, Seyrek A. Seroprevalence of HBsAg, anti-HBs and anti-HCV in Sanliurfa-Turkey. *Turkish J Viral Hepat* 2001; 7: 408-409.
- 29.Silva Cde O, Azevedo Mda S, Soares CM, Martins RM, Ramos CH, Daher RR, Cardoso DD. Seroprevalence of hepatitis B virus infection in individuals with clinical evidence of hepatitis in Goiania, Goias. Detection of viral DNA and determination of subtypes. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 2002; 44(6): 331-4.
- 30.Lee DH, Kim JH, Nam JJ, Kim HR, Shin HR. Epidemiological findings of hepatitis B infection based on 1998 National Health and Nutrition Survey in Korea. *J Korean Med Sci* 2002; 17(4): 457-62.
- 31.Dominguez A, Bruguera M, Vidal J, Plans P, Salleras L. Changes in the seroepidemiology of hepatitis B infection in Catalonia 1989-1996. *Vaccine* 2000; 18(22): 2345-50.
- 32.Clark C, Boyles S. Higher prevalence associated with educational level, age and race. *Blood Wkly* 1996; 4/22: 2.

- 33.Alter MJ. EASL International Consensus Conference on Hepatitis B: epidemiology of hepatitis B in Europe and worldwide. *J Hepatol* 2003; 39(1): 64-9.
- 34.Kurien T, Thyagarajan SP, Jeyaseelan L, Peedicayil A, Rajendran P, Sivaram S, Hansdak SG, Renu G, Krishnamurthy P, Sudhakar K, Varghese JC and STD Study Group. Community prevalence of hepatitis B infection and modes of transmission in Tamil Nadu, India. *Indian J Med Res* 2005; 121(5): 670-5.
- 35.Zervou EK, Gatselis NK, Xanthi E, Ziciadis K, Georgiadou SP, Dalekos GN. Intrafamilial spread of hepatitis B virus infection in Greece. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2005; 17(9): 911-5.
- 36.Erol S, Ozkurt Z, Ertek M, Tasyaran MA. Intrafamilial transmission of hepatitis B virus in the eastern Anatolian region of Turkey. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2003; 15(4): 345-9.
- 37.Schiff's Diseases of the Liver, Eighth Edition, edited by Eugene R. Schiff, Michael F. Sorrell, and Willis C. Maddrey, Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia 1999, p 757-791.
- 38.Centers for Disease Control and Prevention. Hepatitis Surveillance report 1994; 55: 9-27.
- 39.Keeffe EB. Is hepatitis A more severe in patients with chronic hepatitis B and other chronic liver diseases? *Am J Gastroenterol* 1995; 90: 201-205.
- 40.Arvanitidou M, Mamassi P, Vayona A. Epidemiological evidence for vaccinating wastewater treatment plant workers against hepatitis A and hepatitis B virus. *Eur J Epidemiol* 2004; 19(3): 259-62.
- 41.Mazokopakis E, Vlachonikolis J, Philalithis A, Lionis C. Seroprevalence of hepatitis A, B and C markers in Greek warship personnel. *Eur J Epidemiol* 2000; 16(11): 1069-72.

- 42.Papaevangelou GJ, Gourgouli-Fotiou KP, Vissoulis HG. Epidemiologic characteristics of Hepatitis A virus infections in Greece. *Am J Epidemiol* 1980; 112(4): 482-6.
- 43.Frosner GG, Papaevangelou G, Butler R, Iwarson S, Lindholm A, Courouce-Pauty A, Haas H, Deinhardt F. Antibody against hepatitis A in seven European countries. Comparison of prevalence data in different age groups. *Am J Epidemiol* 1979; 110(1): 63-9.
- 44.Malamitsi-Puchner A, Papacharitonos S, Sotos D, Tzala L, Psychogiou M, Hatzakis A, Evangelopoulou A, Michalas S. Prevalence study of different hepatitis markers among pregnant Albanian refugees in Greece. *Eur J Epidemiol* 1996; 12(3): 297-301.
- 45.Lionis C, Koulentaki M, Biziagos E, Kouroumalis E. Current prevalence of hepatitis A, B and C in a well-defined area in rural Crete, Greece. *J Viral Hepat* 1997; 4(1): 55-61.
- 46.Theodoropoulos G, Hadzis G. Incidence and significance of hepatitis B and A virus serologic markers in Greek cirrhotic patients. *Gastroenterol Jpn* 1985; 20(5): 436-40.
- 47.Saab S, Lee C, Shpaner A, Ibrahim AB. Seroepidemiology of Hepatitis A in patients with chronic liver disease. *J Viral Hepat* 2005; 12: 101-105.
- 48.Siddiqui F, Mutchnick M, Kinzie J et al. Prevalence of hepatitis A virus and hepatitis B virus immunity in patients with polymerase chain reaction-confirmed hepatitis C: implications for vaccination strategy. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 857-863.
- 49.Hassan MM, Hwang LY, Hatten CJ, et al. Risk factors for hepatocellular carcinoma: synergism of alcohol with viral

- hepatitis and diabetes mellitus. *Hepatology* 2002 Nov; 36(5): 1206-1213.
50. Laskus T, Radkowski M, Lupa E, Horban A, et al. Prevalence of markers of hepatitis viruses in out-patient alcoholics. *J Hepatol* 1992; 15: 174-178.
51. Zignego AL, Foschi M, Laffi G, et al. « Inapparent » hepatitis B virus infection and hepatitis C virus replication in alcoholic subjects with and without liver disease. *Hepatology* 1994; 19: 577-582.
52. Shiomi S, Kuroki T, Minamitani S, et al. Effect of drinking on the outcome of cirrhosis in patients with hepatitis B or C. *J Gastroenterol Hepatol* 1992; 7: 274-276.
53. Larkin J, Clayton MM, Liu J, Feitelson MA. Chronic ethanol consumption stimulates hepatitis B virus gene expression and replication in transgenic mice. *Hepatology* 2001 Oct; 34(4 Pt 1): 792-797.
54. Evans AA, Chen Gang, Ross EA, Shen FM, Lin WY, London WT. Eight-year follow-up of the 90,000-person Haimen City cohort: I. Hepatocellular carcinoma mortality, risk factors, and gender differences. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2002; 11(4): 369-376.
55. Da Villa G. Rationale for the infant and adolescent vaccination programmes in Italy. *Vaccine* 2000; 18: 31-4.
56. Chang MH, Chen CJ, Lai MS, Hsu HM, Wu TC, Kong MS, Liang DC, Shau WY, Chen DS. Universal hepatitis B vaccination in Taiwan and the incidence of hepatocellular carcinoma in children. Taiwan Childhood Hepatoma Study Group. *N Engl J Med* 1997; 336: 1855-9.

- 57.Ni YH, Chang MH, Huang LM, Chen HL, Hsu HY, Chiu TY, Tsai KS, Chen DS. Hepatitis B virus infection in children and adolescents in a hyperendemic area: 15 years after mass hepatitis B vaccination. *Ann Intern Med* 2001; 135(9): 796-800.
- 58.Salleras L, Bruguera M, Vidal J, Taberner JL, Plans P, Bayas JM, Pumarola T, Jimenez de Anta MT, Rodes J. Prevalence of hepatitis B markers in the population of Catalonia (Spain). Rationale for universal vaccination of adolescents. *Eur J Epidemiol* 1992 Sep; 8: 640-4.
- 59.Centers for Disease Control and Prevention, Update: recommendations to prevent hepatitis B virus transmission, United States. *MMWR* 1995; 44: 574-5.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΚΑΙ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Ο HBV δεν είναι κυτταροπαθογόνος ιός και ανήκει στους *hepadna* ιούς. Παγκοσμίως συμβαίνουν 2.000.000 θάνατοι ανά έτος οφειλόμενοι στον HBV, το μεγαλύτερο ποσοστό των οποίων συνδέεται με τις μακροχρόνιες επιπλοκές της χρόνιας ηπατίτιδας B (κίρρωση, πυλαία υπέρταση, ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα). Ο HBV αποτελεί τη δεύτερη μετά το κάπνισμα συχνότερη αιτία καρκινογένεσης (80% των ηπατοκυτταρικών καρκίνων σχετίζεται με τον HBV). Η Ελλάδα παρουσιάζει ενδιάμεση ενδημικότητα λοίμωξης από τον HBV, δηλαδή συχνότητα HBsAg 2-7% και συχνότητα δεικτών προηγούμενης λοίμωξης (αντί-HBs και αντί-HBc) 20-50%.

Η μετάδοση του ιού γίνεται κυρίως παρεντερικά ή διαδερμικά. Άλλοι τρόποι μετάδοσης αποτελούν η σεξουαλική επαφή και η κάθετη μετάδοση από μητέρα φορέα στο νεογνό (κατά τη διάρκεια του τοκετού ή πολύ πιο πιθανά κατά την περιγεννητική περίοδο). Στις ενδιάμεσες ενδημικότητας χώρες, όπως η Ελλάδα, η μετάδοση αφορά σε όλες τις ηλικίες, αλλά η πρώιμη παιδική ηλικία φαίνεται να είναι η ομάδα με τον υψηλότερο κίνδυνο.

Η ανάλυση του επιπολασμού της ηπατίτιδας B στην Ελλάδα είναι δύσκολη, γιατί:

- Υπάρχουν μεγάλες διακυμάνσεις ακόμα και σε γειτονικές περιοχές
- Υπάρχουν διαφορές ανάλογα με την ηλικιακή σύνθεση των εξεταζόμενων πληθυσμών

- Έλεγχος μεγάλης κλίμακας σε γενικό πληθυσμό (όχι αιμοδότες) δεν έχει γίνει.

Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν:

➤ Η καταγραφή για πρώτη φορά των δημογραφικών χαρακτηριστικών της χρόνιας λοίμωξης από τον HBV στην Κεντρική Ελλάδα, έτσι ώστε να διαφανεί το πρότυπο της λοίμωξης από τον HBV σε αυτό το τμήμα του Ελλαδικού χώρου (ηλικία, φύλο, παράγοντες κινδύνου, κύριος τρόπος μετάδοσης, διάρκεια λοίμωξης).

➤ Η ανάδειξη τυχόν θυλάκων του νοσήματος μέσω της επίτευξης της γεωγραφικής κατανομής της λοίμωξης. Η λεπτομερής αποτύπωση της γεωγραφικής κατανομής της χρόνιας λοίμωξης από τον HBV είναι εξαιρετικά σημαντική από επιδημιολογικής άποψης, γιατί τα αποτελέσματα μπορούν να χρησιμοποιηθούν από τις κεντρικές υπηρεσίες υγείας προς την κατεύθυνση της πρόληψης-παρέμβασης και της σωστής αγωγής υγείας.

Βρέθηκε ότι η κάθετη και η ενδοοικογενειακή μετάδοση της λοίμωξης είναι οι δύο κυριότερες οδοί διασποράς του HBV στη χώρα μας τις προηγούμενες δεκαετίες (201/303 ασθενείς στην παρούσα μελέτη). Η σεξουαλική μετάδοση της λοίμωξης συσχετιζόταν με το άρρεν φύλο (OR: 2, $p=0,04$), ενώ στατιστικά σημαντική διαφορά βρέθηκε μεταξύ του ανδρικού φύλου και των πολλαπλών σεξουαλικών συντρόφων στο παρελθόν (OR: 28, $p=0,000005$).

Ο μέσος όρος ηλικίας των ασθενών με πιθανολογούμενη πηγή λοίμωξης την κάθετη μετάδοση ήταν $35,11 \pm 15,44$ έτη, αλλά η μέση διάρκεια της γνωστής λοίμωξης ήταν μόλις $5,68 \pm 5,35$ έτη. Δηλαδή, παρέμειναν αδιάγνωστοι επί 38 περίπου έτη κατά μέσο όρο.

Κατά τη διάρκεια αυτών των ετών οι ασθενείς αυτοί, όντας ενεργά μέλη της κοινότητας, ενδεχομένως μεταδίδουν τη λοίμωξη μέσω των ερωτικών δεσμών που συνάπτουν ή προσφεύγοντας στις

υγειονομικές υπηρεσίες (χειρουργικές ή οδοντιατρικές επεμβάσεις, εισαγωγές σε νοσοκομεία ή κλινικές). Είναι προφανές ότι οι ασθενείς αυτοί αποτελούν μία «σιωπηλή δεξαμενή» της λοίμωξης.

Βρέθηκε ότι δεν υπάρχει στατιστικώς σημαντική συσχέτιση μεταξύ της πηγής λοίμωξης, της κατανάλωσης οινόπνευματος, της ηλικίας και της διάρκειας λοίμωξης με τους ασθενείς που βρίσκονταν στην κλινική φάση της ηπατίτιδας ή της «χρόνιας φορείας» από τον HBV. Αντίθετα, η κατανάλωση οινόπνευματος είναι ο μοναδικός ανεξάρτητος παράγοντας σε σχέση με την ηλικία καθώς και τη διάρκεια και την πηγή της λοίμωξης που επηρεάζει την εξέλιξη της νόσου σε κίρρωση ή ανάπτυξη ηπατοκυτταρικού καρκίνου (OR: 2,5, CI: 1,24-5,18%, $p=0,01$).

Στην παρούσα μελέτη, το συνολικό ποσοστό προηγηθείσας λοίμωξης από ηπατίτιδα Α (80,4%) ήταν σημαντικά υψηλό. Η λοίμωξη με τον HAV στους ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα Β συσχετίστηκε θετικά με ηλικίες ασθενών άνω των 50 ετών, την αγροτική κατοικία και το χαμηλό μορφωτικό επίπεδο. Παρ' όλα αυτά, ο επιπολασμός της οροθετικότητας για αντί-HAV IgG αντισώματα είναι σχετικά υψηλός ακόμα και στις μικρές ηλικίες, αντανακλώνοντας το σχετικά χαμηλό μορφωτικό επίπεδο των ασθενών του δείγματος αλλά και τη διαρκή ανάγκη βελτίωσης της ύδρευσης και των συνθηκών υγιεινής στα μελλοντικά έτη.

Στην παρούσα μελέτη αποτυπώνεται επίσης για πρώτη φορά η γεωγραφική κατανομή της λοίμωξης από τον HBV στην Κεντρική Ελλάδα. Οι περιοχές της Βερδικούσιας, του Σαρανταπόρου, της Κοιλιάδας και της Ποταμιάς εμφανίζουν αυξημένη συχνότητα λοίμωξης τόσο σε σχέση με την καταγωγή όσο και με την κατοικία. Ο δήμος Κοιλιάδας συσχετίστηκε με τη σεξουαλική μετάδοση ($p=0,02$), η κοινότητα της Σμίξης με τις παραδοσιακές πρακτικές ($p=0,04$, Fisher's

exact test), ο δήμος Ποταμιάς με την κάθετη μετάδοση ($p=0,003$, Fisher's exact test) της λοίμωξης από τον HBV.

Είναι σημαντικό ότι η γεωγραφική κατανομή της λοίμωξης από τον HBV στην Κεντρική Ελλάδα δεν παρουσιάζει σημαντικές μεταβολές αναλύοντας πληροφορίες μεγαλύτερου δείγματος ασθενών του Ηπατολογικού Ιατρείου ($n=921$). Αυτό πιθανώς να αναδεικνύει το μέγεθος του προβλήματος στις περιοχές υψηλής συχνότητας. Περαιτέρω μελέτες στις εν λόγω περιφέρειες αλλά και στο γενικό πληθυσμό είναι απαραίτητες για την καλύτερη εκτίμηση του προβλήματος της χρόνιας λοίμωξης από τον HBV στην Κεντρική Ελλάδα.

SUMMARY AND CONCLUSIONS

Hepatitis B virus (HBV) infection is a major public health problem and a cause of infectious disease mortality worldwide. It has been estimated that there are 350 million chronic HBV carriers all over the world. Approximately 2 million people die annually from HBV-related liver disease, including cirrhosis and hepatocellular carcinoma (HCC).

The endemicity of HBV infection varies greatly in different part of the world and is influenced primarily by the predominant age at which infection occurs. In Greece, it has been reported that the prevalence of chronic HBV infection varies considerably by region and high-risk group, ranging from 0.33% in rural children and 0.41-0.85% in volunteer blood donor population in Crete and Epirus to 2.9% among pregnant Greek women and 22% in refugees from southern Albania.

Classically, three modes of transmission have been recognized: perinatal, sexual, and parenteral/percutaneous transmission including injection drug use, transfusion of blood or blood products, dialysis, needle sticks or other injuries while working in health care settings, acupuncture and tattooing. Person to person spread of HBV can occur in settings involving non-sexual interpersonal contact over a long period of time (intrafamilial transmission).

In Greece, there is few data on the epidemiological characteristics of HBV infection. The aims of this study were:

- To investigate for the epidemiological patterns of the HBV infection in Thessaly,
- To identify the possible differences in the HBV prevalence (clusters) between areas inside this geographic field.

Vertical and intrafamilial modes of transmission are the major routes of HBV infection in this study. Of note, about 20% of our patients have a positive family history of jaundice or other liver disease. Thessaly is mainly a rural region of Greece (census 2001), and rural families are more crowded and this may be increasing the intrafamilial mode of transmission.

Greece is still a country with intermediate seroprevalence of HBV infection. Most of infections occur during early childhood and since over 90% of childhood infections are asymptomatic, these individuals have not clinically apparent disease. In this report, patients with perinatally acquired infection had remained without diagnosis for about 38 years. This is very important from the public health point of view, as these patients during that period have active sexual behavior (in this study 16.5% referred multiple sexual partners), tend to use health services and are in general active members of the community. It is obvious that they represent a «silent reservoir» of the infection that due to the ignorance of the problem, it is uncertain how they truly account for the maintenance of HBV infection in this area.

We found that alcohol abuse is frequent among patients with chronic HBV infection and moreover, it is an independent risk factor for cirrhosis or HCC development apart from HBV infection (OR: 2.5, CI: 1.24-5.18%, $p=0.01$).

The overall HAV seroprevalence described in the present study (80.4%) is higher than that found in recent studies from Greece in the general population or in special occupational groups. Educational level of elementary school (OR: 11, $p=0.000001$), rural residence (OR: 3, $p=0.006$) and age groups 41-50 (OR: 3.8, $p=0.03$), 51-60 (RR: 1.3, $p=0.0004$) and 61-70 years (RR: 1.3, $p=0.003$) were independent factors among patients with chronic HBV infection which predict prior HAV

exposure. Moreover, all subjects older than 50 years were anti-HAV positive, but significantly high percentages were found in younger patients as well. The above information could be easily explained by the fact that the educational level of the studied patients is generally low. Additionally, Central Greece is a region with high proportion of rural population and is characterised by recent urbanization that was developed the last 25 years. Thus, the results of improved sanitation and hygienic standards will be obvious in the future years.

In addition, we identified differences in the frequency of HBV infection between municipalities of Central Greece. These results can contribute to the mapping of the infection in distinct geographical areas. It is of great importance from the public health point of view that the presence of the infection in the municipalities of Verdikousia, Potamia, Sarantaporo and Koilada is high taking into account either the connection with the origin or the residence of the affected individuals. In Greece, such clusters of high HBV prevalence have already been reported. In the municipality of Koilada, the presence of HBV infection was associated with sexual transmission ($p=0.02$), in the municipality of Potamia with vertical transmission ($p=0.003$, Fisher's exact test) and in the municipality of Smiksi with folk remedies ($p=0.04$, Fisher's exact test).

Additional extended studies of the general population in Thessaly are necessary in order to create a well-designed control program, until the cohorts of vaccinated children reach adolescence and adulthood.