

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

Δ/ντης: Καθηγητής Ν. Σταθάκης

**ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΗΣ  
ΛΑΝΘΑΝΟΥΣΑΣ ΙΑΙΜΙΑΣ ΑΠΟ ΤΟΝ ΙΟ ΤΗΣ  
ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ Β ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΧΡΟΝΙΑ  
ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ C**

**Σάρα Π. Γεωργιάδου**  
Ιατρός, Ειδικευόμενη Παθολογίας

Διδακτορική διατριβή που υποβλήθηκε στο Ιατρικό  
Τμήμα του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Λάρισα 2007

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ

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

Αριθ. Εισ.: 7595/1

Ημερ. Εισ.: 09-10-2009

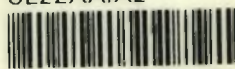
Δωρεά: Π.Θ.

Ταξιθετικός Κωδικός: Δ

616.362 3

ΓΕΩ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ  
ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ



004000083727

**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

Σακκάς Λάζαρος, Αναπληρωτής Καθηγητής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Νταλέκος Γεώργιος, Αναπληρωτής Καθηγητής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

(Επιβλέπων)

### **Επταμελής Εξεταστική Επιτροπή**

Σταθάκης Νικόλαος, Καθηγητής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Γουργουλιάνης Κωνσταντίνος, Καθηγητής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Κουκούλης Γεώργιος, Καθηγητής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Νταλέκος Γεώργιος, Αναπληρωτής Καθηγητής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Σακκάς Λάζαρος, Αναπληρωτής Καθηγητής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Ρηγοπούλου Ειρήνη, Λέκτορας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Μακαρίτσης Κωνσταντίνος, Λέκτορας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

## ΠΕΡΙΟΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ.....	6
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	8
ΚΕΦΑΛΑΙΟ Α΄.....	9
ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ C.....	9
1. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ.....	9
1.1. ΤΡΟΠΟΙ ΜΕΤΑΔΟΣΗΣ ΤΗΣ ΝΟΣΟΥ.....	11
2. Ο ΙΟΣ ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ C (HCV).....	18
2.1. Η ΔΟΜΗ.....	18
2.2. Η ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΕΤΕΡΟΓΕΝΕΙΑ ΤΟΥ HCV.....	22
3. ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ C.....	25
3.1 ΟΞΕΙΑ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ C.....	25
3.2 ΧΡΟΝΙΑ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ C.....	26
3.3 ΦΥΣΙΚΗ ΙΣΤΟΡΙΑ ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ C.....	31
4. ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ C.....	34
5. ΕΞΩΗΠΑΤΙΚΕΣ ΕΚΔΗΛΩΣΕΙΣ ΧΡΟΝΙΑΣ ΛΟΙΜΩΞΗΣ ΑΠΟ ΤΟΝ HCV... ..	37
5.1. ΕΚΔΗΛΩΣΕΙΣ ΜΕ ΥΨΗΛΗ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ ΤΟΝ HCV.....	37
5.1.1 Μεικτή κρυοσφαιριναμία.....	37
5.1.2. Σπειραματονεφρίτιδα.....	39
5.1. 3. Όψιμη δερματική πορφύρα.....	40
5.1.4. Σύνδρομο Sicca / Σύνδρομο Sjögren.....	41
5.1.5. Παραγωγή αυτοαντισωμάτων.....	42
5.2. ΕΚΔΗΛΩΣΕΙΣ ΜΕ ΠΙΘΑΝΗ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ ΤΟΝ HCV.....	43
5.2.1 Non-Hodgkin Λέμφωμα.....	43
ΚΕΦΑΛΑΙΟ Β΄.....	45
ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ Β.....	45
1. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ.....	45
2. ΤΡΟΠΟΙ ΜΕΤΑΔΟΣΗΣ ΤΗΣ ΝΟΣΟΥ.....	49
3. Ο ΙΟΣ ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ Β (HBV).....	55
3.1. Η ΔΟΜΗ.....	55
3.2. ΜΕΤΑΛΛΑΓΕΣ ΤΟΥ HBV.....	59
3.3. ΟΙ ΓΟΝΟΤΥΠΟΙ ΤΟΥ HBV.....	65
4. ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΤΗΣ ΛΟΙΜΩΞΗΣ ΑΠΟ ΤΟΝ HBV.....	68
5. ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ Β.....	76
5.1. ΟΞΕΙΑ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ Β.....	76
5.2. ΧΡΟΝΙΑ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ Β.....	77
5.3. ΛΟΙΜΩΞΗ ΑΠΟ ΤΟΝ ΙΟ ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ D (HDV).....	81
6. ΠΡΟΦΥΛΑΞΗ ΑΠΟ ΤΟΝ HBV.....	83
6.1. ΠΑΘΗΤΙΚΗ ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΣΗ.....	83
6.2. ΕΝΕΡΓΗΤΙΚΗ ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΣΗ.....	83
ΚΕΦΑΛΑΙΟ Γ΄.....	86
ΛΑΝΘΑΝΟΥΣΑ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ Β.....	86
1. ΟΡΙΣΜΟΣ.....	86
2. ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ ΛΑΝΘΑΝΟΥΣΑΣ ΛΟΙΜΩΞΗΣ ΑΠΟ ΤΟΝ HBV.....	88
3. ΚΛΙΝΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΛΑΝΘΑΝΟΥΣΑΣ HBV ΛΟΙΜΩΞΗΣ.....	94
3.1. ΛΑΝΘΑΝΟΥΣΑ HBV ΛΟΙΜΩΞΗ ΚΑΙ ΜΕΤΑΔΟΣΗ ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ Β.....	94
3.1.1. Μεταγγίσεις παραγώγων αίματος.....	94
3.1.2. Μεταμοσχεύσεις οργάνων.....	97

3.2. ΛΑΝΘΑΝΟΥΣΑ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ Β ΚΑΙ ΚΕΡΑΥΝΟΒΟΛΟΣ ΗΠΑΤΙΚΗ ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑ (ΚΗΑ) .....	100
3.3. ΛΑΝΘΑΝΟΥΣΑ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ Β ΚΑΙ ΧΡΟΝΙΑ ΗΠΑΤΙΚΗ ΝΟΣΟΣ... ..	101
3.4. ΛΑΝΘΑΝΟΥΣΑ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ Β ΚΑΙ ΕΠΑΝΑΔΡΑΣΤΗΡΙΟΠΟΙΗΣΗ ΧΡΟΝΙΑΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ Β .....	103
3.5. ΛΑΝΘΑΝΟΥΣΑ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ Β ΚΑΙ ΗΠΑΤΟΚΥΤΤΑΡΙΚΟΣ ΚΑΡΚΙΝΟΣ.....	105
3.6. ΛΑΝΘΑΝΟΥΣΑ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ Β ΚΑΙ ΧΡΟΝΙΑ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ C .....	107
3.6.1. Συχνότητα .....	107
3.6.2. Επίπεδα HBV-DNA / HCV-RNA .....	109
3.6.3. Ορολογικοί δείκτες λοίμωξης από τον HBV .....	111
3.6.4. Κλινική σημασία της λανθάνουσας ηπατίτιδας Β .....	112
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ .....	114
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ .....	172
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	173
2. ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ .....	175
2.1 Ασθενείς (Πίνακας 1) .....	175
2.1.1. Ασθενείς με χρόνια λοίμωξη από τον HCV .....	175
2.1.2. Ομάδα ελέγχου .....	180
2.1.3. Υγιείς αιμοδότες .....	181
2.2. Ανίχνευση HBV-DNA (Σχήμα 1) .....	182
2.3. Στατιστική ανάλυση .....	188
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ .....	189
3.1 Συχνότητα ανίχνευσης του HBV-DNA (Πίνακας 2).....	189
3.2. Συσχέτιση της παρουσίας λανθάνουσας ηπατίτιδας Β με δημογραφικά και επιδημιολογικά δεδομένα των ασθενών .....	190
3.3. Συσχέτιση της παρουσίας λανθάνουσας ηπατίτιδας Β με κλινικά και εργαστηριακά δεδομένα των ασθενών .....	192
3.4. Συσχέτιση της παρουσίας λανθάνουσας ηπατίτιδας Β με τους ορολογικούς δείκτες της λοίμωξης από τον HBV (Πίνακας 7).....	193
3.5. Συσχέτιση της παρουσίας λανθάνουσας ηπατίτιδας Β με ιολογικές παραμέτρους της λοίμωξης από τον HCV.....	196
3.6. Συσχέτιση της παρουσίας λανθάνουσας ηπατίτιδας Β με τα ιστολογικά δεδομένα των ασθενών .....	197
3.7. Συσχέτιση της παρουσίας λανθάνουσας ηπατίτιδας Β με την ανταπόκριση στη θεραπεία των ασθενών με χρόνια λοίμωξη από τον HCV .....	199
4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ .....	202
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ .....	213
SUMMARY AND CONCLUSIONS .....	225

## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Οι ιοί της ηπατίτιδας Β και C αποτελούν ένα από τα σημαντικότερα προβλήματα δημόσιας υγείας παγκοσμίως. Παρουσιάζουν ευρεία γεωγραφική κατανομή και προκαλούν ευρύ φάσμα κλινικών εκδηλώσεων, από οξεία-χρόνια ηπατίτιδα έως την ανάπτυξη κίρρωσης και ηπατοκυτταρικού καρκίνου. Η ενεργός συν-λοίμωξη από τον HBV και τον HCV έχει συνδεθεί, σε πολλές μελέτες, με βαρύτερη ηπατική νόσο, αυξημένη πιθανότητα ανάπτυξης ηπατοκυτταρικού καρκινώματος και αντίσταση στη θεραπεία με α-ιντερφερόνη. Πρόσφατες έρευνες οδήγησαν στην αποκάλυψη μιας νέας νοσολογικής οντότητας που ονομάζεται «λανθάνουσα ή σιωπηλή ή κρυπτιγικής» ηπατίτιδα Β (occult HBV infection). Η λανθάνουσα ηπατίτιδα Β χαρακτηρίζεται, σύμφωνα με την Ευρωπαϊκή Εταιρεία Μελέτης του Ήπατος (EASL), από την παρουσία HBV-DNA στον ορό ή στο ήπαρ ασθενών με αρνητικό HBsAg. Παρόλα αυτά η συχνότητα και η κλινική σημασία της λανθάνουσας ηπατίτιδας Β παραμένουν ασαφείς.

Στην παρούσα μελέτη ελέγχθηκαν διαδοχικά δείγματα ασθενών με χρόνια λοίμωξη από τον HCV με στόχο τον προσδιορισμό της συχνότητας της λανθάνουσας ηπατίτιδας Β και την εκτίμηση της κλινικής σημασίας στην εξέλιξη της χρόνιας ηπατίτιδας C. Πιο αναλυτικά, στο γενικό μέρος αναλύονται α) τα επιδημιολογικά δεδομένα της λοίμωξης από τους ιούς της ηπατίτιδας Β και C, β) η γενετική οργάνωση των δύο ιών, γ) η παθογένεια της λοίμωξης, δ) οι κλινικές εκδηλώσεις της λοίμωξης από τον HBV και τον HCV, ε) ο επιπολασμός της λανθάνουσας ηπατίτιδας Β, στ) η παθογένεια της λανθάνουσας ηπατίτιδας Β και ζ) η κλινική της σημασία. Στο ειδικό μέρος παρουσιάζεται ο επιπολασμός της λανθάνουσας ηπατίτιδας Β σε ασθενείς με

χρόνια λοίμωξη από τον HCV και μελετάται αν η παρουσία της λανθάνουσας ιαιμίας επηρεάζει την εξέλιξη της HCV-σχετιζόμενης ηπατικής νόσου.

Θα ήθελα να αναγνωρίσω τη βοήθεια όλων αυτών που είχαν σημαντική συνεισφορά στην εκπόνηση της διατριβής. Ευχαριστώ τα μέλη της τριμελούς επιτροπής Καθηγητή κ. Ν. Σταθάκη και τον Καθηγητή κ. Λ. Σακκά για τις πολύτιμες παρατηρήσεις τους. Ιδιαίτερη ευγνωμοσύνη θα ήθελα να εκφράσω στον δάσκαλό μου, Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Γ. Ν. Νταλέκο για την αμέριστη συμπαράστασή από τον σχεδιασμό μέχρι την ολοκλήρωση της διδακτορικής διατριβής, τόσο σε θεωρητικό όσο και σε εργαστηριακό επίπεδο. Ευχαριστώ την Λέκτορα κ. Ε. Ρηγοπούλου για την κριτική ανάγνωση του συγγράμματος και τις διορθώσεις που υποσημείωσε. Σημαντική βοήθεια προσέφεραν οι συνάδελφοι μου ιατροί, κ. Κ. Ζάχου, κ. Χ. Λιάσκος, κ. Ν. Γατσέλης, η βιολόγος κ. Π. Μηνά και η παρασκευάστρια κ. Ε. Εξάρχου στην εκμάθηση και στην εκτέλεση των πειραμάτων στο εργαστήριο Παθολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας και οι ιατροί του Ηπατολογικού Ιατρείου κ. Ε. Μακρή και κ. Γ. Παπαδάμου στην παρακολούθηση και τη συλλογή των δειγμάτων των ασθενών.

Τελειώνοντας, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένεια μου και ιδιαίτερα τους γονείς μου για την αγάπη και την συμπαράστασή τους καθ'όλη τη διάρκεια της προσπάθειας ολοκλήρωσης αυτού του έργου.



# ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

# ΚΕΦΑΛΑΙΟ Α΄

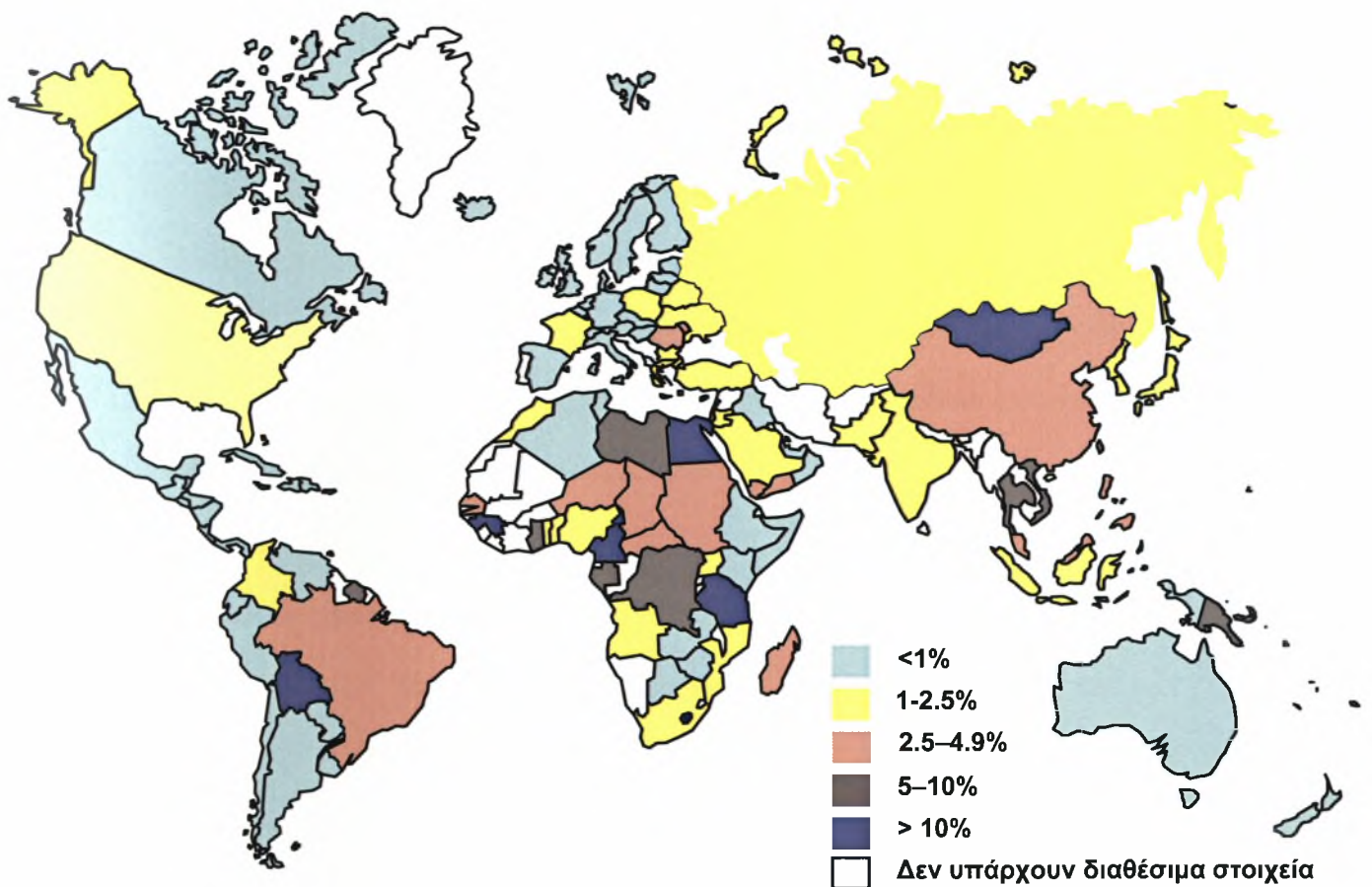
## ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ C

### 1. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ

Ο ιός της ηπατίτιδας C αποτελεί ένα από τα σημαντικότερα προβλήματα δημόσιας υγείας παγκοσμίως. Σύμφωνα με στοιχεία του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας ποσοστό μεγαλύτερο του 3% του πληθυσμού της υφηλίου έχει μολυνθεί από τον ιό, ισοδυναμώντας με περίπου 170 εκατομμύρια φορείς της νόσου παγκοσμίως (1,2). Ο επιπολασμός της λοίμωξης παρουσιάζει ευρεία γεωγραφική κατανομή. Στις Η.Π.Α αντισώματα έναντι του ιού ανιχνεύονται στο 0.1-1.8% του γενικού και στο 0.17-1.4% του αιμοδοτικού πληθυσμού αντίστοιχα (3), ενώ στην Ευρώπη το συνολικό ποσοστό εκτιμάται στο 1-2% (2% στη λεκάνη της Μεσογείου, 0.5% στη Βόρεια, και 0.7-5% στην Ανατολική Ευρώπη αντίστοιχα) (4-6). Στην Αφρική τα υψηλότερα ποσοστά των χρονίως πασχόντων παρατηρούνται στις κεντρικές χώρες της ηπείρου και στην Αίγυπτο, φτάνοντας το 13% του πληθυσμού (7,8). Στην Ελλάδα ο επιπολασμός του ιού της ηπατίτιδας C κυμαίνεται από 0.2-2.8% στον αιμοδοτικό πληθυσμό (9-12), ενώ έχουν βρεθεί και ενδημικές περιοχές όπως ορισμένα χωριά της Κρήτης, όπου ο επιπολασμός ανέρχεται στο 10% (13). Στον χάρτη 1 συνοψίζονται τα επιδημιολογικά δεδομένα του επιπολασμού της ηπατίτιδας C που κατετέθησαν στον WHO μέχρι τον Ιούνιο του 1999.

Το πρόβλημα της λοίμωξης από τον ιό της ηπατίτιδας C είναι ιδιαίτερα σημαντικό, αφού 80% των ατόμων που εκτίθενται στον ιό γίνονται χρόνια φορείς της νόσου και ποσοστό μεγαλύτερο του 30% από αυτούς

αναπτύσσουν χρόνια ηπατική νόσο με όψιμες επιπλοκές την ανάπτυξη κίρρωσης και ηπατοκυτταρικού καρκίνου μετά την πάροδο 20-30 ετών από την μόλυνση (14,15). Είναι γεγονός ότι η λοίμωξη από τον ιό της ηπατίτιδας C αποτελεί πλέον την κυρίαρχη αιτία μεταμόσχευσης ήπατος παγκοσμίως και είναι βέβαιο ότι τις επόμενες δύο δεκαετίες το πρόβλημα αναμένεται να μεγεθυνθεί (16-18). Σε μια μελέτη μάλιστα από τη Γαλλία, ο Deuffic και συν πρόβλεψαν ότι μέχρι το 2020 θα παρατηρηθεί αύξηση των ετήσιων θανάτων λόγω ηπατοκυτταρικού καρκίνου οφειλόμενου στον HCV κατά 150% μεταξύ των γυναικών και κατά 200% μεταξύ των ανδρών (17).



**Χάρτης 1.** Παγκόσμιος επιδημιολογικός χάρτης της χρόνιας λοίμωξης από τον ιό της ηπατίτιδας C.

## 1.1. ΤΡΟΠΟΙ ΜΕΤΑΔΟΣΗΣ ΤΗΣ ΝΟΣΟΥ

Οι κυριότεροι παράγοντες που ευθύνονται για τη μετάδοση της νόσου είναι:

- Η μετάγγιση αίματος και παραγώγων του (κυρίως πριν το 1991)
- Η ενδοφλέβια χρήση τοξικών ουσιών
- Η ενδονοσοκομειακή μετάδοση (χρόνια αιμοκάθαρση, χειρουργικές επεμβάσεις, ενδοσκοπήσεις)
- Ατυχήματα με βελόνες σε ιατρικό, νοσηλευτικό και παραϊατρικό προσωπικό

Σπανιότεροι οδοί μετάδοσης θεωρούνται οι εξής:

- Περιγεννητική μετάδοση
- Σεξουαλική / Ενδοοικογενειακή επαφή

Δε γίνεται, όμως, πάντα κατορθωτή η εύρεση ενός προδιαθεσικού παράγοντα για τη νόσο και έτσι οι σποραδικές περιπτώσεις με ηπατίτιδα C αποτελούν ένα διόλου ευκαταφρόνητο ποσοστό μεταξύ των ασθενών με χρόνια ηπατίτιδα C.

Παρακάτω αναπτύσσονται διεξοδικότερα οι τρόποι μετάδοσης του ιού της ηπατίτιδας C:

*- Η μετάγγιση αίματος και παραγώγων του*

Η μετάδοση του ιού της ηπατίτιδας C μέσω του αίματος και των παραγώγων του, ιδίως σε αιμορροφιλικούς ασθενείς, σε ασθενείς με κακοήθη νοσήματα ή θαλασσαιμίες αποτελούσε τη συχνότερη αιτία μετάδοσης της νόσου πριν από το 1991 (οπότε ξεκίνησε η ευρεία χρήση των ανοσοσενζυμικών μεθόδων ανίχνευσης των αντισωμάτων έναντι του HCV τόσο για διαγνωστικούς λόγους όσο και για την επιλογή των αιμοδοτών) (3). Πράγματι, το 80% των θαλασσαιμικών, το 90-100% των αιμορροφιλικών και

το 75% των ασθενών με ιστορικό μετάγγισης λόγω λευχαιμίας πριν το 1990 είναι αντι-HCV θετικοί (19). Η συχνότητα της μετα-μετάγγισης ηπατίτιδας είναι άμεσα συνδεδεμένη με τον αριθμό και την ποσότητα των παραγώγων αίματος που μεταγγίσθηκαν (4). Σήμερα, αν και οι τεχνικές εξουδετέρωσης του ιού έχουν μειώσει σημαντικά την πιθανότητα μετάδοσης του ιού της ηπατίτιδας C μέσω μεταγγίσεων, δεν έχει επιτευχθεί ακόμα η πλήρης εξάλειψη του κινδύνου (19-21). Στις Η.Π.Α ο κίνδυνος μετάδοσης της λοίμωξης από τον HCV μέσω μεταγγίσεων είναι μικρότερος του 1/103.000 μονάδες χορηγούμενου αίματος (22). Ο υπολειπόμενος αυτός κίνδυνος αποδίδεται στις περιπτώσεις εκείνες όπου ο αιμοδότης βρίσκεται στη φάση παραθύρου της μόλυνσης με απουσία ανιχνεύσιμων αντισωμάτων, περίοδος 12 περίπου εβδομάδων, η οποία έχει περιοριστεί στις 2-3 μόνο εβδομάδες με τη χρησιμοποίηση νεότερων μεθόδων, όπως η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR) (23,24).

#### *- Η ενδοφλέβια χρήση τοξικών ουσιών*

Η ενδοφλέβια χρήση τοξικών ουσιών αποτελεί την κυριότερη αιτία μετάδοσης του HCV στις αναπτυσσόμενες χώρες. Ο επιπολασμός της λοίμωξης σε αυτή την ομάδα ποικίλει από 31-98% στα διάφορα μέρη της υφελίου (4,25) και η πιθανότητα νόσησης σχετίζεται άμεσα με τη διάρκεια της χρήσης των τοξικών ουσιών (25-27). Άλλοι παράγοντες κινδύνου που έχουν βρεθεί στην ομάδα αυτή αποτελούν το ανδρικό φύλο, η ηλικία, οι πολλαπλοί ερωτικοί σύντροφοι, και το ιστορικό ποινικής φυλάκισης (26,28,29). Οι χρήστες από του στόματος ναρκωτικών ουσιών φαίνεται να έχουν πολύ μικρότερο κίνδυνο μόλυνσης από τον ιό σε σχέση με τους χρήστες ενδοφλεβίων ουσιών (30).

- Ενδονοσοκομειακή μετάδοση

Αυξημένος επιπολασμός της λοίμωξης από τον ιό της ηπατίτιδας C έχει παρατηρηθεί σε συγκεκριμένες ομάδες ασθενών οι οποίες περιλαμβάνουν α) ασθενείς με κακοήθη νοσήματα (20%) β) ασθενείς που έχουν υποβληθεί σε μεταμόσχευση μυελού των οστών (29%) και γ) χρονίως αιμοκαθαιρόμενους ασθενείς (15-30%), συχνότητα η οποία εξαρτάται άμεσα από τη διάρκεια της αιμοκάθαρσης (31-36). Πρέπει να σημειωθεί ότι ο συχνότητα της λοίμωξης από τον HCV διαφέρει τόσο στις διάφορες χώρες του κόσμου όσο και στα διάφορες μονάδες τεχνητού νεφρού στην ίδια χώρα (υψηλότερα ποσοστά έχουν σημειωθεί στην Βραζιλία -82%- και χαμηλότερα στην Ευρώπη -4%-) (37). Στην Ελλάδα το ποσοστό κυμαίνεται περίπου στο 12-36% (36,38,39). Το ποσοστό της λοίμωξης από τον HCV μεταξύ των ασθενών αυτών είναι πιθανόν ακόμα μεγαλύτερο, καθώς λόγω της ανοσοκαταστολής που παρουσιάζουν, υπάρχει πιθανότητα να μην παράγουν αντισώματα ή να παράγουν αντισώματα σε χαμηλούς τίτλους, που δεν είναι ανιχνεύσιμα με τις συνήθεις ανοσοενζυμικές μεθόδους. Σε μια πρόσφατη μελέτη αναδείχθηκε ότι ένα μεγάλο ποσοστό ασθενών (33.3%) με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια τελικού σταδίου και χρόνια ηπατίτιδα C δεν παρουσίαζαν αντι-HCV αντισώματα με τις συνήθεις ανοσοενζυμικές μεθόδους και η διάγνωση της χρόνιας λοίμωξης από τον HCV έγινε με τον προσδιορισμό του HCV-RNA χρησιμοποιώντας τη μέθοδο TMA (Transcription Mediated Amplification assay) (36). Αναμφίβολα, υπάρχει άμεση συσχέτιση της διάρκειας της αιμοκάθαρσης και του αριθμού των μεταγγιζόμενων μονάδων αίματος με την πιθανότητα λοίμωξης από τον ιό της ηπατίτιδας C (37,40). Άλλοι πιθανοί μηχανισμοί αποτελούν η κοινή χρήση μηχανημάτων αιμοκάθαρσης μεταξύ HCV θετικών και αρνητικών ασθενών

(41), αν και αυτός ο τρόπος μετάδοσης δεν έχει τεκμηριωθεί ικανοποιητικά, καθώς και η νοσοκομειακή μετάδοση από το προσωπικό της μονάδας τεχνητού νεφρού (οριζόντια μετάδοση που φαίνεται να αποτελεί την κύρια οδό μόλυνσης στην ομάδα αυτή) (42,43). Διάφορες μελέτες έχουν αποδείξει ότι η αυστηρή εφαρμογή των κανόνων υγιεινής από το προσωπικό των μονάδων τεχνητού νεφρού οδήγησε σε σημαντική μείωση του επιπολασμού της λοίμωξης στους χρονίους αιμοκαθαιρόμενους (37,43,44). Νοσοκομειακή μετάδοση έχει, επίσης, αναφερθεί κατά τη διάρκεια χειρουργικής επέμβασης, διασωλήνωσης, μέσω ενδοφλέβιων καθετήρων ή κατά τη διάρκεια ενδοσκόπησης κατώτερου πεπτικού, όμως ο αριθμός των ασθενών που μολύνθηκαν με αυτόν τον τρόπο φαίνεται να είναι ευτυχώς πολύ περιορισμένος (45-48).

#### *- Επαγγελματίες υγείας*

Αν και οι επαγγελματίες υγείας δεν είναι σε μεγαλύτερα ποσοστά θετικοί για την ηπατίτιδα C σε σχέση με τον επιπολασμό της νόσου στο γενικό πληθυσμό (49), ωστόσο τα ατυχήματα με τρυπήματα από βελόνη στο χώρο εργασίας συνεχίζουν, δυστυχώς, να αποτελούν ένα σημαντικό προδιαθεσικό παράγοντα για τη νόσηση από τον ιό της ηπατίτιδας C στον πληθυσμό αυτό. Για τα τρυπήματα από βελόνα, αν και έχουν αναφερθεί ποσοστά μετάδοσης της λοίμωξης από τον HCV που κυμαίνονται από 0-10% (50,51), συνήθως ισχύει ο κανόνας του 3: ο HBV μεταδίδεται στο 30% των εκτεθέντων, ο HCV στο 3% και ο HIV στο 0.3%, ποσοστά που παρουσιάζουν διακυμάνσεις ανάλογα βέβαια με το μέγεθος της βελόνας, το ιικό φορτίο και το βάθος του τραυματισμού. Οι σημαντικότερες ομάδες υψηλού κινδύνου περιλαμβάνουν

τους χειρουργούς, τους γυναικολόγους, οδοντίατρους και το προσωπικό μονάδων τεχνητού νεφρού, επειγόντων περιστατικών και μονάδων εντατικής θεραπείας. Η χρήση διπλών γαντιών σε ασθενείς υψηλού κινδύνου, βελόνων με μη κοφτερή όψη, προστατευτικών γυαλιών και το πέρασμα των ιατρικών εργαλείων μέσω δίσκου αποτελούν σημαντικά προληπτικά μέτρα για τη μείωση της ιατρογενούς μετάδοσης της νόσου (4).

#### *- Περιγεννητική μετάδοση*

Κάθετη μετάδοση της λοίμωξης από τον ιό της ηπατίτιδας C από τη μητέρα στο νεογνό έχει περιγραφεί σε διάφορες πρόσφατες μελέτες σε ποσοστό 0-15% περίπου (37), λαμβάνοντας υπόψη την ασυμπτωματική βιοχημική δραστηριότητα (κυρίως αύξηση της ALT) και την προσωρινή οροθετικότητα για αντισώματα έναντι του ιού (αντι-HCV) χρησιμοποιώντας ανοσοενζυμικές μεθόδους ή την παρουσία ιαιμίας (HCV-RNA) με PCR. Επιμονή της παρουσίας του αντι-HCV έχει παρατηρηθεί κυρίως σε περιπτώσεις συνλοίμωξης με τον ιό της επίκτητης ανοσοανεπάρκειας (HIV), υποδηλώνοντας ευοδωτικό ρόλο του HIV στη κάθετη μετάδοση του HCV (52-55). Επιπλέον, φαίνεται να υπάρχει θετική συσχέτιση των επιπέδων του HCV-RNA της μητέρας (αν και δεν είναι γνωστό ποιο είναι το όριο του HCV-RNA πάνω από το οποίο αυξάνεται η πιθανότητα μετάδοσης στο νεογνό) (56-59) όπως, επίσης, και της εμφάνισης οξείας ηπατίτιδας C κατά τη διάρκεια της κύησης με την επακόλουθη ανάπτυξη χρόνιας λοίμωξης από τον HCV στο παιδί (55,58). Εντούτοις, αυτό που παραμένει, ακόμα, ασαφές είναι η οδός και η χρονική στιγμή της μετάδοσης στο νεογνό. Το είδος του τοκετού δε φαίνεται να επηρεάζει σημαντικά το ποσοστό μετάδοσης, αν και μια μελέτη από την



Ταϊβάν και μια αναδρομική μελέτη από το Ηνωμένο Βασίλειο έχουν δείξει ότι η εκλεκτική καισαρική τομή σχετίζεται με μικρότερο κίνδυνο μετάδοσης (60,61). Η μετάδοση του ιού της ηπατίτιδας C μέσω θηλασμού δεν έχει αποδειχθεί και συνεπώς δεν πρέπει να απαγορεύεται σε HCV-θετικές μητέρες (62,63).

Τέλος, πρέπει να τονιστεί ότι με βάση το γεγονός της μικρής πιθανότητας μετάδοσης του HCV στο νεογνό (αν η μητέρα είναι αντι-HIV αρνητική), της αδυναμίας προφύλαξής του (όπως για παράδειγμα αυτά που επιβάλλονται κατά τον τοκετό από HBV θετική μητέρα) καθώς και της μη ύπαρξης θεραπείας κατά του HCV στη νεογνική και βρεφική ηλικία, ο γενικός έλεγχος (screening) με αντι-HCV ΔΕΝ πρέπει να γίνεται σε όλες τις έγκυες (αποτελούν γενικό πληθυσμό).

#### *- Σεξουαλική/ Ενδοοικογενειακή μετάδοση*

Ο ιός της ηπατίτιδας C μπορεί πολύ σπάνια να μεταδοθεί μέσω σεξουαλικής επαφής (3). Πράγματι μεταξύ ετεροφυλόφιλων ζευγαριών με μακροχρόνιες σχέσεις ο επιπολασμός της λοίμωξης στους συντρόφους ασθενών με HCV λοίμωξη κυμαίνεται μεταξύ 0.5-3%. Δεν είναι ακόμα γνωστό αν αυτό οφείλεται στα χαμηλά επίπεδα του ιού στα γεννητικά υγρά και ιστούς ή σε έλλειψη των κατάλληλων κυττάρων-στόχων στο γεννητικό σωλήνα. Τα άτομα, όμως, με επικίνδυνη σεξουαλική συμπεριφορά (πολλαπλοί ερωτικοί σύντροφοι, ομοφυλόφιλοι, ερωτικοί σύντροφοι χρηστών ενδοφλεβίων ουσιών) και συν-λοιμώξεις με HIV ή HSV-2 παρουσιάζουν τη νόσο σε πολύ μεγαλύτερη συχνότητα (64-66).

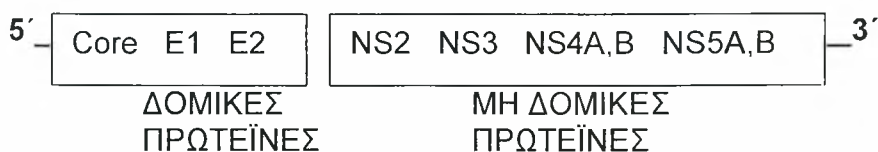
Σχετικά με την ενδοοικογενειακή μετάδοση φαίνεται να υπάρχουν ενδείξεις μετάδοσης του ιού της ηπατίτιδας C, αφού η οροθετικότητα για αντι-

HCV αντισώματα είναι 5–10 φορές συχνότερη σε άτομα που διαμένουν με ασθενή με χρόνια λοίμωξη από τον HCV σε σχέση με το γενικό πληθυσμό (4). Τα παιδιά φαίνεται να διατρέχουν μικρότερο κίνδυνο από τους συζύγους. Η μετάδοση σε αυτές τις περιπτώσεις πιθανόν να πραγματοποιείται μέσω οδοντόβουρτσων ή αιχμηρών αντικειμένων (ξυραφάκια, νυχοκόπτες κ.α). Επίσης, διάφορες μελέτες έχουν αναδείξει ότι η συχνότητα της λοίμωξης κατά την ενδοοικογενειακή επαφή κυμαίνεται από 0-11% περίπου (χαμηλότερος από τον αντίστοιχο κίνδυνο μετάδοσης του ιού της ηπατίτιδας Β) (67-70).

## 2. Ο ΙΟΣ ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ C (HCV)

### 2.1. Η ΔΟΜΗ

Η ανακάλυψη του ιού της ηπατίτιδας C έγινε, μετά από μακροχρόνια ερευνητική προσπάθεια, στα τέλη της δεκαετίας του 1980 (1989) ως αιτιολογικός παράγοντας της μετα-μετάγγισης ηπατίτιδας (71). Πρόκειται για έναν μικρό (45nm) RNA ιό που ανήκει στην οικογένεια των Flaviviridae, η οποία περιλαμβάνει τους κλασσικούς flavo-ιούς (ιός του κίτρινου πυρετού, pesti-ιοί) (72). Έχει γονιδίωμα θετικής κατεύθυνσης και αποτελείται από μονόκλωνο RNA μήκους 9.600 νουκλεοτιδικών βάσεων (73). Περιέχει το πλαίσιο ανάγνωσης που κωδικογραφεί την πολυπρωτεΐνη (μήκους 3000 αμινοξέων περίπου) από την οποία διασπώνται με την βοήθεια πρωτεασών, τόσο του ιού όσο και του ξενιστή, τουλάχιστον 10 δομικές και μη δομικές πρωτεΐνες (74) (Πίνακας 1). Εκατέρωθεν του πλαισίου βρίσκονται οι μη κωδικογραφούμενες περιοχές του 5' και 3' άκρου του γονιδιώματος (untranslated region, UTR) οι οποίες έχουν λειτουργικό ρόλο στην έκφραση της πολυπρωτεΐνης και του πολλαπλασιασμού του RNA κατά την αναπαραγωγή του ιού (Σχήμα 1).



**Σχήμα 1.** Οργάνωση του γονιδιώματος του HCV.

**Πίνακας 1.** Δομικές και μη δομικές πρωτεΐνες του HCV.

Πρωτεΐνη	Μοριακή μάζα (kDa)	Λειτουργία
C	21	Πρωτεΐνη πυρηνοκαψιδίου
E1	31-35	Πρωτεΐνη ιικού φακέλου
E2	68-72	Πρωτεΐνη ιικού φακέλου
P7	7	Άγνωστη
NS2	23	Συστατικό της NS2-3 πρωτεάσης
NS3	70	Συστατικό της NS2-3 πρωτεάσης, πρωτεάσης της σερίνης και της ελικάσης
NS4A	8	Συμπαράγοντας της NS3 πρωτεάσης της σερίνης
NS4B	27	Άγνωστη
NS5A	58	Άγνωστη (πιθανή συσχέτιση με την αντίσταση στην ιντερφερόνη)
NS5B	68	RNA-εξαρτώμενη πολυμεράση

Οι **δομικές** (structural) πρωτεΐνες περιλαμβάνουν την *πρωτεΐνη του πυρηνοκαψιδίου (C)* και τις *δυο γλυκοπρωτεΐνες του περιβλήματος (E1 και E2)*. Αποσπώνται από το αμινικό άκρο της πολυπρωτεΐνης με την δράση πεπτιδασών του ενδοπλασματικού δικτύου του ξενιστή γνωστές ως «σηματάσες». Η πρωτεΐνη του πυρηνοκαψιδίου περιέχει στο άκρο της μια υδρόφοβη περιοχή που δρα ως σήμα μεταφοράς στο ενδοπλασματικό δίκτυο και διαμεμβρανικής μεταφοράς του ιικού γονιδιώματος. Καθώς η πρωτεΐνη αυτή απομονώθηκε από τον πυρήνα των κυττάρων του ξενιστή, και η μεταφορά του ιικού RNA στον πυρήνα των κυττάρων αποτελεί πιθανό μηχανισμό μεταμόρφωσης τους σε καρκινικά κύτταρα, θεωρήθηκε ότι αποτελεί σημαντικό παράγοντα ανάπτυξης ηπατοκυτταρικού καρκινώματος σε ασθενεί με χρόνια ηπατίτιδα C (75). Οι πρωτεΐνες E1 και E2 παρουσιάζουν μεγάλη γενετική ετερογένεια μεταξύ των διαφόρων στελεχών του HCV. Το αμινοτελικό άκρο της E2 πρωτεΐνης είναι εξαιρετικά μεταβλητό και χαρακτηρίζεται ως «υπερμεταβλητή περιοχή 1» (hypervariable region, HVR1). Θεωρείται ότι αποτελεί καθοριστικό στόχο των εξουδετερωτικών αντισωμάτων

έναντι του HCV (76,77) και αλλάζει ταχέως σε ασθενείς με χρόνια λοίμωξη. Ο ρυθμός δημιουργίας μεταλλαγών αυξάνει σε ασθενείς, που υποβάλλονται σε ανοσοδιέγερση, ενώ οι μεταλλαγές του γονιδιώματος φαίνεται ότι σχετίζονται με εκλεκτική διαφυγή από προηγούμενη ανοσιακή απάντηση. Επομένως, η περιοχή HVR1 του HCV φαίνεται ότι παίζει σημαντικό ρόλο στη χρονιότητα της λοίμωξης (78).

Οι δομικές πρωτεΐνες χωρίζονται από τις μη δομικές μέσω ενός μικρού πεπτιδίου (P7). Οι **μη δομικές** (non-structural) πρωτεΐνες *NS2-5B* αποσπώνται από το καρβοξυλικό άκρο του γονιδιώματος και κωδικογραφούν ένζυμα που είναι απαραίτητα για τον πολλαπλασιασμό του ιού. Αναλυτικά, η NS2 πρωτεΐνη αποτελεί συστατικό της NS2-NS3 μεταλλοπρωτεάσης που επιφέρει διαχωρισμό από το υπόλοιπο μη δομικό υλικό. Η NS3 πρωτεΐνη αφενός αποτελεί συστατικό της NS2-NS3 μεταλλοπρωτεάσης, αφετέρου περιέχει μια ξεχωριστή πρωτεάση σερίνης η οποία δρα ως συμπαραάγοντας της πρωτεολυτικής δράσης της NS4A μεταξύ των περιοχών NS3/NS4A, NS4A/NS4B, NS4B/NS5A και NS5A/NS5B. Το καρβοξυλικό άκρο της NS3 πρωτεΐνης περιέχει μια RNA ελικάση, βοηθώντας στο ξεδίπλωμα του RNA, και μια νουκλεοτιδική τριφωσφατάση, με ικανότητα δέσμευσης του RNA, που είναι απαραίτητα για τον ιικό πολλαπλασιασμό. Η NS4A δρα ως συμπαραάγοντας της NS3 πρωτεάσης της σερίνης, μεταξύ των οποίων δημιουργείται σταθερό σύμπλοκο. Οι λειτουργίες της NS4B και της NS5A παραμένουν προς το παρόν άγνωστες. Πιθανόν, η NS4B προκαλεί ειδικές μεταβολές στη μεμβράνη οι οποίες αποτελούν πλαίσιο στήριξης για τον πολλαπλασιασμό του HCV (79). Η NS5A έχει αποτελέσει αντικείμενο ενδιαφέροντος λόγω του δυνητικού της ρόλου στην απάντηση του ξενιστή

κατά τη θεραπεία με ιντερφερόνη (80,81). Αναλυτικότερα, πρόσφατες μελέτες έχουν συσχετίσει συγκεκριμένες μεταλλαγές στην περιοχή NS5A με μεγαλύτερα ποσοστά βιοχημικής (όχι όμως και ιολογικής) ανταπόκρισης στη θεραπεία με ιντερφερόνη, χωρίς όμως να μπορούν να προβλεφθούν τα ποσοστά υποτροπής (81). Τέλος, η πρωτεΐνη NS5B αποτελεί την RNA πολυμεράση του ιού, η οποία λόγω αδυναμίας ασφαλούς ανάγνωσης, ευθύνεται για την μεγάλη γενετική πολυμορφία του HCV.

Οι **μη κωδικογραφούσες περιοχές 5' και 3'** (UTR) των άκρων του γονιδιώματος έχουν λειτουργικό χαρακτήρα. Συγκεκριμένα, η *5' UTR* περιλαμβάνει περισσότερα από 340 νουκλεοτίδια, τα οποία προηγούνται του κωδικονίου έναρξης της μετάφρασης της πρωτεΐνης. Η ομολογία βάσεων της περιοχής αυτής είναι πολύ καλά διατηρημένη, ακόμα και μεταξύ των διάφορων γονότυπων του ιού. Αυτό σχετίζεται με την παρουσία ρυθμιστικών αλληλουχιών αναγκαίων για την επιτυχή μετάφραση του πλαισίου ανάγνωσης. Επιπλέον το άκρο αυτό παρουσιάζει εκτεταμένη δευτερεύουσα δομή που προκύπτει από το ζευγάρωμα βάσεων του με αντίστοιχες που έχουν συμπληρωματική αλληλουχία (82). Αποτέλεσμα αυτού του ζευγαρώματος είναι η δημιουργία τεσσάρων συνολικά δομικών στοιχείων τύπου κορμού με θηλιά, τα τρία των οποίων (II-IV) συνιστούν την εσωτερική περιοχή εισδοχής ριβοσωμάτων, γνωστής ως IRES (internal ribosomal entry site) (82-84). Η περιοχή αυτή ελέγχει την μετάφραση ενώ άλλες αλληλουχίες νουκλεοτιδίων της *5' UTR* χρησιμεύουν ως σήματα πολλαπλασιασμού είτε μέσω άμεσης αλληλεπίδρασης με το άκρο *3'* του γονιδιώματος είτε μέσω έμμεσων αλληλεπιδράσεων RNA-πρωτεϊνών. Επιπλέον, **“σχεδόν είδη”** του ιού (quasi species) με μεταλλαγές στο *5'* μη κωδικογραφούν άκρο φαίνεται να

εντοπίζονται και σε άλλα κύτταρα εκτός ηπατοκυττάρων, όπου η λειτουργικότητα του IRES διαφυλάσσεται. Αυτό ίσως εξηγεί τον ποικίλο κυτταρικό τροπισμό του HCV και ορισμένες από τις εξωηπατικές εκδηλώσεις του ιού. Η περιοχή 3' UTR του γονιδιώματος περιέχει μια σειρά από σταθερές RNA δομές κορμού-αγκύλης και πολυπυριμιδινική «ουρά» ποικίλου μήκους. Η περιοχή 3' παίζει βασικό ρόλο κατά την αναπαραγωγή του ιού, και πιο συγκεκριμένα στην αντιγραφή του γονιδιώματος σε άλυσο αρνητικής κατεύθυνσης, που χρησιμοποιείται σαν μήτρα για τη σύνθεση των γονιδιωμάτων θετικής κατεύθυνσης και την μορφογένεση του ιού.

## 2.2. Η ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΕΤΕΡΟΓΕΝΕΙΑ ΤΟΥ HCV

Η κινητική του ιικού πολλαπλασιασμού του HCV σε συνδυασμό με την αδυναμία ασφαλούς ανάγνωσης της RNA-πολυμεράσης ευθύνονται, πιθανόν, για τις ταχείες μεταλλαγές του γενώματος του ιού. Για το λόγο αυτό ο ιός της ηπατίτιδας C κυκλοφορεί στον ορό όχι σαν ένα μεμονωμένο στέλεχος, αλλά με τη μορφή των «**σχεδών ειδών**» (quasi species). Ο όρος αυτός αναφέρεται σε ετερογενή ομάδα στελεχών το ιού, τα οποία διαφέρουν στη αλληλουχία των νουκλεοτιδίων σε ποσοστό 1-5% και συνυπάρχουν στον ίδιο ξενιστή (85,86). Τα «σχεδόν είδη» πιθανόν να συμβάλουν στην ανάπτυξη χρόνιας λοίμωξης και στην ανοσολογική διαφυγή του ιού.

Μελέτες και αναλύσεις των νουκλεοτιδικών αλληλουχιών κατέληξαν στην αναγνώριση έξι κυρίως **γονότυπων** (genotype) του ιού που περιγράφονται με τους αραβικούς αριθμούς 1-6 και περισσότερων από 100 **υποτύπων** (subtype) (1a, 1b, 2a, 2b....) (Πίνακας 2) (86). Διαφορετικά **στελέχη** (isolate) του ίδιου υπότυπου του ιού διαφέρουν σε ποσοστό 5-15%

επί της συνολικής αλληλουχίας των νουκλεοτιδίων, ενώ οι υπότυποι και οι γονότυποι διαφέρουν σε ποσοστό 10-30% και 30-50%, αντίστοιχα. Ο γονότυπος είναι ένα ενδογενές χαρακτηριστικό των μεταδιδόμενων στελεχών του HCV και δεν τροποποιείται κατά τη διάρκεια της φυσικής ιστορίας της συγκεκριμένης λοίμωξης. Έχει αποδειχθεί ότι η ανάλυση μικρών αλλά τεκμηριωμένης διακριτικής ικανότητας ως προς τον σκοπό αυτό τμημάτων του γονιδιώματος του HCV (ειδικά των περιοχών E1 και τμήματος 340 bp του NS5B γονιδίου) αποτελεί αξιόπιστη μεθοδολογία κατά Simmonds για την ταξινόμηση των στελεχών σε διάφορους διακριτούς γονότυπους (87). Οι γονότυποι του HCV παρουσιάζουν γεωγραφική κατανομή. Συγκεκριμένα, ο γονότυπος 1a είναι συχνός στις Η.Π.Α και στη Βόρεια Ευρώπη. Ο γονότυπος 1b είναι ο πιο κοινός και έχει παγκόσμια κατανομή. Οι 2a και 2b έχουν, επίσης, παγκόσμια κατανομή και είναι ιδιαίτερα συχνοί στην Ιαπωνία και στη

## Πίνακας 2. Ετερογένεια του ιού HCV

	Σύμβολο	Ποσοστό μεταβολής της νουκλεοτιδικής αλληλουχίας (%)
«Σχεδόν είδη»		1-5
Στέλεχος		5-15
Υπότυπος	a,b,c,....	15-30
Γονότυπος	1-6	30-50

Βόρεια Ιταλία. Ο γονότυπος 3 ήταν παλαιότερα συχνότερος στους Ινδιάνους της Αμερικής, αλλά έχει διαδοθεί, πλέον, στις Η.Π.Α και στην Ευρώπη σαν αποτέλεσμα της ευρείας χρήσης ενδοφλέβιων τοξικών ουσιών. Ο γονότυπος 4 είναι ο συχνότερος στην Αφρική (ιδιαίτερα στην Αίγυπτο) και στη μέση Ανατολή, ενώ οι 5 και 6 είναι πολύ σπάνιοι και ανευρίσκονται σε απομονωμένες περιοχές της Νότιας Αφρικής και της Νοτιοανατολικής Ασίας, αντίστοιχα (88).

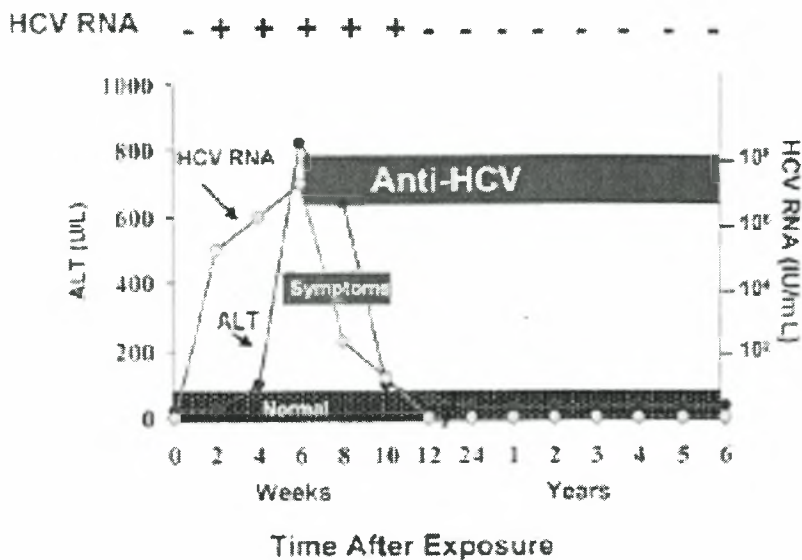


Οι γονότυποι διαφέρουν ελάχιστα στην κλινική έκφραση της νόσου και συνεπώς, λοίμωξη με οποιοδήποτε γονότυπο μπορεί να οδηγήσει σε κίρρωση, ηπατική ανεπάρκεια και ηπατοκυτταρικό καρκίνο (86,89). Παρόλα αυτά αξίζει να σημειωθεί ότι ο γονότυπος 3 έχει συσχετιστεί με μεγαλύτερη τάση για ηπατοκυτταρική στεάτωση (90), ενώ ο γονότυπος 1 παρουσιάζει σημαντικά χαμηλότερο ποσοστό ανταπόκρισης στη θεραπεία με α-ιντερφερόνη σε σχέση με τους γονοτύπους 2 και 3 (91). Για το λόγο αυτό, αφενός μεν η τρέχουσα προτεινόμενη διάρκεια αντι-ιικής αγωγής είναι 24 εβδομάδες για τους γονοτύπους 2,3 και 48 εβδομάδες για το γονότυπο 1 (91-96) αφετέρου η παρατεταμένη ιολογική ανταπόκριση (μη ανίχνευση HCV-RNA στον ορό του ασθενούς 24 εβδομάδες μετά το τέλος της αγωγής) φαίνεται ότι επιτυγχάνεται στους γονοτύπους 2 και 3 με χαμηλότερες δόσεις ριμπαβιρίνης (90).

### 3. ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ C

#### 3.1 ΟΞΕΙΑ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ C

Ο χρόνος επώασης της νόσου κυμαίνεται από 3-12 εβδομάδες (μέσος όρος 7 εβδομάδες). Οι ασθενείς με οξεία ηπατίτιδα C είναι συνήθως ασυμπτωματικοί ή έχουν ήπια κλινική νόσο (97). Συγκεκριμένα, το 60-70% αυτών δεν παρουσιάζουν συμπτώματα, 20-30% εμφανίζουν ίκτερο, και 10-20% έχουν μη ειδικά συμπτώματα όπως αδιαθεσία, ανορεξία, κοιλιακό άλγος. Το HCV-RNA ανιχνεύεται στον ορό όλων σχεδόν των ασθενών σε χρονικό διάστημα περίπου 2 εβδομάδων μετά τη μόλυνση και φτάνει στα ανώτερα επίπεδα ( $10^5$ - $10^7$  IU/ml) ακριβώς πριν την εμφάνιση των συμπτωμάτων (98,99) (Σχήμα 2). Τα επίπεδα των αμινοτρανσφερασών στον ορό, ενδεικτικά ηπατοκυτταρικής φλεγμονής και νέκρωσης, αρχίζουν να αυξάνονται 2-8 εβδομάδες μετά την έκθεση στον ιό και συνήθως φτάνουν σε δεκαπλάσια επίπεδα της ανώτερης φυσιολογικής τους τιμής. Περίπου στο 70% των ασθενών ανιχνεύονται αντισώματα έναντι του ιού (αντι-HCV) με την εμφάνιση των συμπτωμάτων, και στο 97% μετά την πάροδο 6 μηνών (98). Παρόλα αυτά ο τίτλος των αντισωμάτων αυτών μπορεί να είναι πολύ χαμηλός ή μη ανιχνεύσιμος σε ασθενείς με επηρεασμό κυρίως της χυμικής ανοσίας όπως οι χρονίως αιμοκαθαιρόμενοι (36). Σε μακροχρόνιες μελέτες έχει αποδειχθεί ότι ένα ποσοστό ασθενών χάνουν την οροθετικότητα τους για τα αντισώματα έναντι του ιού με το πέρασμα του χρόνου (100). Η οξεία ηπατίτιδα C μπορεί να προκαλέσει σοβαρή και παρατεταμένη κλινική εικόνα, αλλά πολύ σπάνια προκαλεί κεραυνοβόλο ηπατίτιδα (<1%) (101).

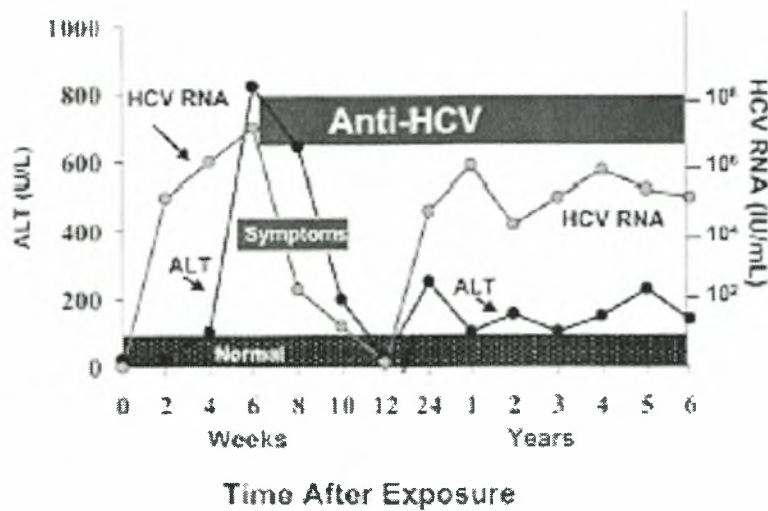


**Σχήμα 2.** Αντιπροσωπευτική πορεία αυτοπεριοριζόμενης οξείας ηπατίτιδας C

### 3.2 ΧΡΟΝΙΑ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ C

Ο ιός της ηπατίτιδας C αποτελεί τη συχνότερη αιτία χρόνιας ιογενούς ηπατίτιδας στις αναπτυγμένες χώρες. Η χρόνια ηπατίτιδα C χαρακτηρίζεται από την παρουσία HCV-RNA στον ορό για χρονικό διάστημα μεγαλύτερο των 6 μηνών. Το ποσοστό μετάπτωσης σε χρονιότητα κυμαίνεται από 75-85%, αλλά εξαρτάται από την ηλικία, το φύλο, τη φυλή και την ανοσολογική κατάσταση του ασθενούς. Οι ασθενείς που αναπτύσσουν χρόνια λοίμωξη από τον HCV συνήθως παρουσιάζουν ανικτερική-ασυμπτωματική οξεία HCV λοίμωξη. Παρόλα αυτά δεν υπάρχουν ασφαλή πρώιμα κριτήρια στην οξεία λοίμωξη για την πρόβλεψη μετάπτωσης σε χρονιότητα. Κατά τη μετάπτωση της οξείας σε χρόνια λοίμωξη τα επίπεδα του HCV-RNA και των αμινοτρανσφερασών μπορεί να παρουσιάζουν διακυμάνσεις, με αποτέλεσμα να υπάρχουν περίοδοι κατά τις οποίες το HCV-RNA να μην είναι ανιχνεύσιμο και οι τιμές των αμινοτρανσφερασών φυσιολογικές (99,102,103) (Σχήμα 3).

HCV RNA - + + + + + - + + + + + + +



Σχήμα 3. Μετάπτωση της οξείας ηπατίτιδας C σε χρόνια

Το γεγονός αυτό επιβάλλει τη διενέργεια επανελέγχου για τον αποκλεισμό χρόνιας λοίμωξης από τον HCV για χρονικό διάστημα 6-12 μήνες μετά την οξεία φάση. Τα συμπτώματα, συνήθως, ελλείπουν, ή είναι ελάχιστα, διαλείποντα και μη ειδικά. Η αδυναμία-καταβολή είναι το συχνότερα αναφερόμενο σύμπτωμα και μόνο ασθενείς με προχωρημένη ηπατική νόσο αναφέρουν ανορεξία, απώλεια βάρους, κνησμό και κοιλιακό άλγος. Επιπλέον, αυξημένα επίπεδα αλανινοαμινοτρανφεράσης (ALT) ανευρίσκονται μόνο στα 2/3 των ασθενών. Το υπόλοιπο 30% αυτών παρουσιάζει επανειλημμένα φυσιολογικές τιμές της ALT, παρά την παρουσία ιαιμίας. Συνεπώς, διακρίνουμε 3 κλινικοεργαστηριακά πρότυπα χρόνιας λοίμωξης από τον ιό της ηπατίτιδας C:

- Ασθενείς με, διαρκώς, φυσιολογικές τιμές ALT (10-30%). Είναι συνήθως ασυμπτωματικοί με ιστολογικά ευρήματα ελάχιστης-ήπιας χρόνιας ηπατίτιδας στη βιοψία ήπατος (αν και 10% των ασθενών μπορεί να παρουσιάζει έντονη

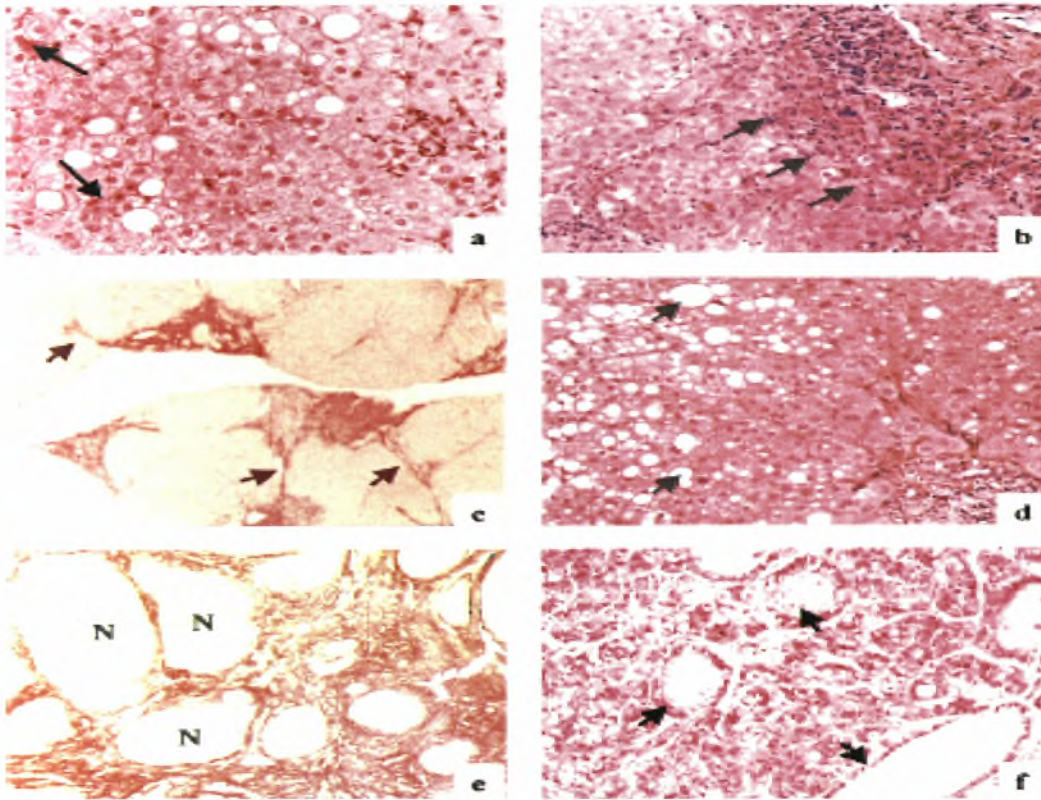
ίνωση και/ή κίρρωση). Η πρόγνωση των ασθενών αυτών είναι συνήθως ευνοϊκή.

- Ασθενείς με αυξημένες τιμές ALT, οι οποίες παρουσιάζουν διακυμάνσεις (50%). Είναι συνήθως ασυμπτωματικοί ή αναφέρουν αδυναμία. Η βιοψία ήπατος αναδεικνύει ήπια-μέτρια νεκροφλεγμονώδη δραστηριότητα με ελάχιστη-ήπια ίνωση. Η εξέλιξη της νόσου είναι συνήθως βραδεία και η πιθανότητα ανάπτυξης κίρρωσης μικρή. Αποτελεί τη συχνότερη μορφή της νόσου σε ασθενείς νεαρής ηλικίας.

- Ασθενείς με σταθερά αυξημένες τιμές ALT (25%). Σταθερά αυξημένες τιμές της ALT δεν αποτελούν καλό προγνωστικό δείκτη, ενώ αυξημένες τιμές της γ-γλουταμυλικής τρανσφεράσης (γ-GT), της φερριτίνης, των ανοσοσφαιρινών και η θρομβοπενία δηλώνουν προχωρημένη νόσο. Η βιοψία ήπατος αποκαλύπτει σημαντική νεκροφλεγμονώδη δραστηριότητα και ίνωση ή ακόμα και κίρρωση. Η μορφή αυτή είναι συχνότερη στους ηλικιωμένους ασθενείς (88,104).

Περίπου το 80% των ασθενών με οξεία ηπατίτιδα C αναπτύσσουν χρόνια λοίμωξη (100). Αντισώματα έναντι του ιού της ηπατίτιδας C (αντι-HCV) αναπτύσσονται τόσο στην οξεία, όσο και στη χρόνια νόσο. Παρόλα αυτά η απόκριση των T-κυττάρων (CD4 και CD8) είναι εντονότερη και συχνότερη σε ασθενείς και πειραματικά μοντέλα με οξεία αυτοπεριοριζόμενη HCV λοίμωξη σε σύγκριση με τους ασθενείς που αναπτύσσουν χρόνια νόσο (91,99,102,105,106). Δυστυχώς, η πολυπλοκότητα της T-κυτταρικής απάντησης, η περιορισμένη απόκριση του συστήματος HLA και η ετερογένεια του HCV καθιστούν αρκετά δύσκολες τις μελέτες ανοσολογικής απόκρισης έναντι του HCV στην οξεία λοίμωξη. Πρέπει να σημειωθεί ότι ασθενείς χωρίς

ανοσολογική ανεπάρκεια μπορεί να αναπτύξουν χρόνια νόσο και αντίθετα ασθενείς με σημαντική ανοσοανεπάρκεια να αναπτύξουν οξεία αυτοπεριοριζόμενη HCV λοίμωξη (107,108).



**Σχήμα 4.** Ιστολογικές βλάβες στη λοίμωξη από το ιό HCV. (α) Οξεία ηπατίτιδα: ηπατική εστιακή νέκρωση στο λόβιο, διήθηση από λεμφοκύτταρα. (β) Χρόνια ηπατίτιδα με παρουσία λεμφοζιδίου στο πυλαίο διάστημα, piecemeal νέκρωση. (γ) Ηπατική ίνωση: πυλαία και περιπυλαία. (δ) Λιπώδης διήθηση και λοβιακή βλάβη. (ε) Κίρρωση: αναγεννητικοί όζοι και ινώδη διαφραγμάτια. (φ) Καλά διαφοροποιημένος ηπατοκυτταρικός καρκίνος (ΗΚΚ)

Οι παράγοντες οι οποίοι σχετίζονται με μικρότερα ποσοστά χρονιότητας περιλαμβάνουν τη νεαρή ηλικία, το γυναικείο φύλο, τη λευκή φυλή, τη σοβαρή οξεία λοίμωξη και ίσως την ανοσολογική κατάσταση του ασθενούς. Αναλυτικά:

- Το ποσοστό χρονιότητας είναι μικρότερο στη νεαρή ηλικία, αντίθετα από ότι συμβαίνει στην ηπατίτιδα Β. Μακροχρόνιες μελέτες σε παιδιά με μετα-

μετάγγιση ηπατίτιδα έδειξαν ότι μόνο το 55-60% παρουσίαζαν HCV-RNA στον ορό κατά την ενήλικη ζωή (109,110). Επιπλέον, στη μελέτη NHANES (National Health and Nutrition Examination Survey) στις Η.Π.Α το ποσοστό χρονιότητας ήταν 30% στους ασθενείς < 20 ετών και 76% στους ασθενείς > 20 ετών, αντίστοιχα (3).

- Το ποσοστό χρονιότητας είναι μικρότερο στο γυναικείο φύλο. Σε μια μελέτη 704 γυναικών με αντι-HCV αντισώματα από την Ιρλανδία, οι οποίες είχαν λάβει ανοσοσφαιρίνη στα πλαίσια απευαισθητοποίησης λόγω εγκυμοσύνης το ποσοστό μετάπτωσης σε χρονιότητα ήταν 55% (111). Το ίδιο ποσοστό βρέθηκε και σε μια μελέτη 917 γυναικών από τη Γερμανία, οι οποίες είχαν, ομοίως, λάβει μολυσμένη ανοσοσφαιρίνη (112). Παρόλα αυτά στις μελέτες NHANES και Dionysos (Ιταλία) τα ποσοστά μετάπτωσης σε χρονιότητα δεν παρουσίαζαν διαφορές μεταξύ των δυο φύλων (3,113).

- Υψηλότερο ποσοστό χρονιότητας έχει βρεθεί στη μαύρη φυλή σε σχέση με τη λευκή (114). Στη μελέτη NHANES το ποσοστό χρονιότητας ήταν 86% στη μαύρη και 68% στη λευκή φυλή αντίστοιχα ( $p=0.02$ ). Αξίζει να αναφερθεί ότι τα ποσοστά ανταπόκρισης στην αντι-ιική αγωγή με α-ιντερφερόνη είναι, επίσης, μικρότερα στη μαύρη φυλή (συγκρίνοντας ομάδες ασθενών λευκής και μαύρης φυλής με αντιστοιχία όσον αφορά το γονότυπο και τα επιπέδα του HCV-RNA) (114).

- Χρόνια ηπατίτιδα C αναπτύσσεται λιγότερο συχνά στους ασθενείς με συμπτωματική (ικτερική) οξεία ηπατίτιδα C. Στη μελέτη 917 γυναικών από τη Γερμανία, που προαναφέρθηκε, τα ποσοστά χρονιότητας μεταξύ των ασθενών που είχαν αναπτύξει ή όχι ίκτερο ήταν αντίστοιχα 43% και 60% (112) ( $p<0.001$ ). Μια πιθανή ερμηνεία του γεγονότος αυτού είναι ότι η ικτερική

μορφή της νόσου υποδηλώνει εντονότερη ανοσολογική απάντηση του ξενιστή και επομένως μεγαλύτερη πιθανότητα κάθαρσης από τον HCV (91,105,106).

- Τέλος, η ανεπάρκεια του ανοσοποιητικού συστήματος φαίνεται να αποτελεί επίσης προδιαθεσικό παράγοντα μετάπτωσης σε χρονιότητα. Έτσι, τα ποσοστά ανάπτυξης χρόνιας λοίμωξης από τον HCV είναι υψηλότερα στους ασθενείς με HIV συν-λοίμωξη (108) ενώ ξεπερνούν το 90% σε ασθενείς με αγαμμασφαιριναιμία (107).

### 3.3 ΦΥΣΙΚΗ ΙΣΤΟΡΙΑ ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ C

Ένας αριθμός παραγόντων καθιστά δύσκολο τον ακριβή καθορισμό της φυσικής ιστορίας της λοίμωξης από τον HCV. Ορισμένοι ασθενείς ανακάμπτουν αυτομάτως από την λοίμωξη, ενώ εκείνοι με ήπια νόσο συχνά δε ζητούν ιατρική φροντίδα. Επιπλέον, επειδή η λοίμωξη από τον HCV είναι μια μακροχρόνια νόσος, πολλοί ασθενείς θα καταλήξουν από άλλες αιτίες προτού ανιχνευθεί ο ιός. Η κίρρωση αναπτύσσεται συνήθως 30 έτη μετά την έκθεση στον ιό. Οι Rougard και συν (14) διέκριναν 2 ομάδες ασθενών ως προς το ρυθμό ανάπτυξης κίρρωσης: στην πρώτη ανήκουν οι ασθενείς στους οποίους η ίνωση προχωρά γρήγορα (*rapid fibrosers*) και μεταπίπτουν σε κίρρωση σε 20 έτη περίπου ενώ στη δεύτερη ομάδα ανήκουν αυτοί που είτε δε θα αναπτύξουν ποτέ κίρρωση, είτε χρειάζονται πάνω από 50 έτη για να μεταπέσουν σε κίρρωση (*slow fibrosers*). Ο ρυθμός ανάπτυξης κίρρωσης είναι δύσκολο να προβλεφθεί για τον κάθε ασθενή, αφού η ανάπτυξη ίνωσης δεν ακολουθεί γραμμική σχέση. Παράγοντες οι οποίοι επηρεάζουν την πρόοδο της ινωτικής εξεργασίας στη χρόνια λοίμωξη από τον HCV φαίνονται στον Πίνακα 3 (104). Ο επιβλαβής ρόλος της κατανάλωσης αλκοόλ στην



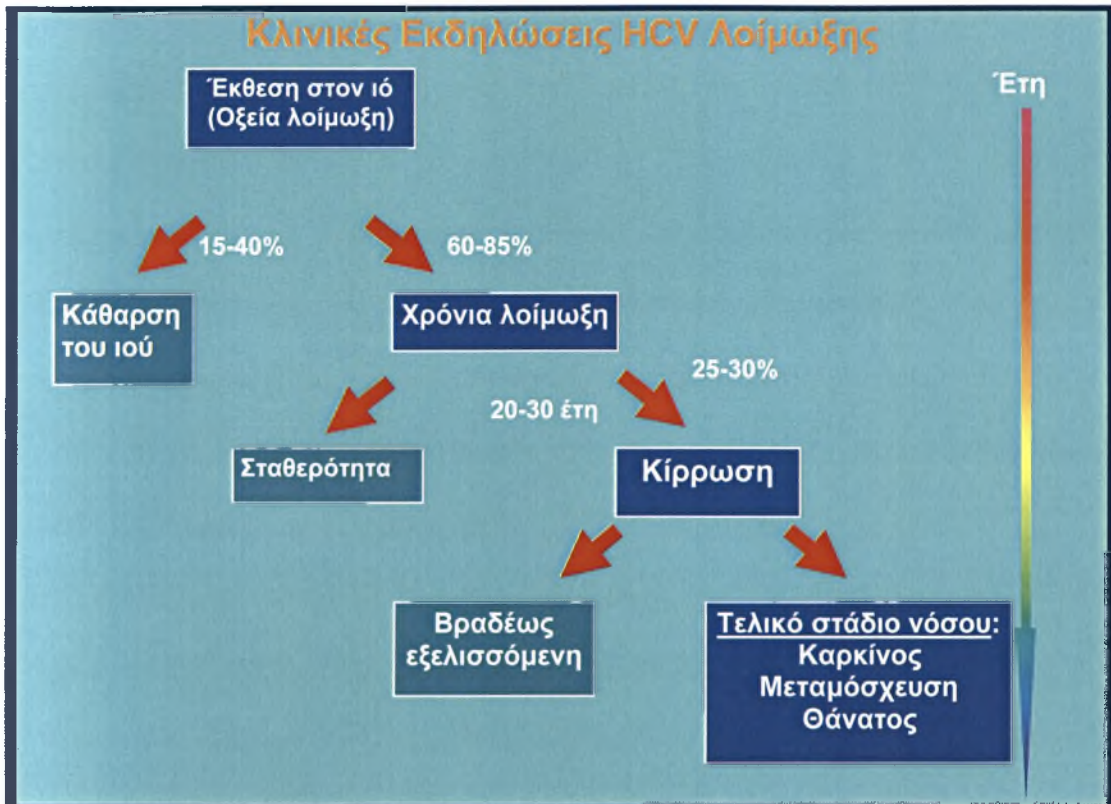
ταχύτερη ανάπτυξη ίνωσης, κίρρωσης και ηπατοκυτταρικού καρκινώματος έχει αποδειχθεί σε πολλές μελέτες. Έτσι, η ανάπτυξη κίρρωσης μπορεί να ποικίλλει από 13 έτη, σε άνδρες ασθενείς >40 ετών με καθημερινή κατανάλωση 50γρ αιθανόλης, έως 42 έτη σε γυναίκες ασθενείς <40 ετών οι οποίες δεν αναφέρουν χρήση οινόπνεύματος (115).

**Πίνακας 3.** Παράγοντες που ευνοούν την ταχύτερη εξέλιξη της χρόνιας HCV λοίμωξης.

Παράγοντες που σχετίζονται με τον <b>ιό</b>	Ιικό φορτίο Γονότυπος 1 Παρουσία πολλών «σχεδόν ειδών» (quasi species)
Παράγοντες που σχετίζονται με τον <b>ξενιστή</b>	Ηλικία λοίμωξης >40 έτη Μεγάλη διάρκεια λοίμωξης Το φύλο (άρρεν) HLA απλότυποι (DRB1*0405/0401/0201, DRA1*0201)
Άλλοι παράγοντες	Κατάχρηση οινόπνεύματος Συν-λοίμωξη με τον HBV Ανοσοανεπάρκεια ( πχ HIV λοίμωξη)

Η κίρρωση μπορεί να είναι σιωπηλή για αρκετά χρόνια, αφού τα κλινικά συμπτώματα της πυλαίας υπέρτασης ή της ηπατικής ανεπάρκειας εμφανίζονται σε προχωρημένο στάδιο. Σε πολλές περιπτώσεις η διάγνωση γίνεται τυχαία στη βιοψία ήπατος, ή στο στάδιο ανάπτυξης ηπατοκυτταρικού καρκινώματος και μη αντιρροπούμενης κίρρωσης. Η σχετιζόμενη με την HCV-κίρρωση θνησιμότητα εξαιτίας ανάπτυξης πυλαίας υπέρτασης, ηπατικής ανεπάρκειας και ηπατοκυτταρικού καρκινώματος εκτιμάται στο 2-5% ανά έτος. Η πλειονότητα των περιπτώσεων ηπατοκυτταρικού καρκινώματος λαμβάνει χώρα επί παρουσίας κίρρωσεως, σε ποσοστό 1-4% ετησίως. Η τελικού σταδίου ηπατική νόσος από χρόνια ηπατίτιδα C αποτελεί προς το παρόν την πλέον κοινή ένδειξη για μεταμόσχευση ήπατος στον κόσμο και εκτιμήσεις

παγκοσμίως έδειξαν ότι οι ανάγκες για μεταμοσχεύσεις ήπατος θα αυξηθούν σημαντικά έως το 2008 (17,18). Στην αντιρροπούμενη κίρρωση τα ποσοστά θνησιμότητας εκτιμώνται στο 9% στα 5 έτη και 21% στα 10 έτη. Με τη ρήξη της αντιρρόπησης η πενταετής επιβίωση μειώνεται στο 20-50% (97,104) (Σχήμα 5)



Σχήμα 5. Κλινική εξέλιξη της ηπατίτιδας C.

#### 4. ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ C

Οι δοκιμασίες που χρησιμοποιούνται σήμερα για τη διάγνωση της HCV λοίμωξης διακρίνονται σε:

α) Αυτές με τις οποίες ανιχνεύονται αντισώματα έναντι αντιγόνων της περιοχής του πυρήνα και των μη δομικών περιοχών του γονιδιώματος του HCV (αντι-HCV αντισώματα). Οι δοκιμασίες αυτές περιλαμβάνουν την ανοσοενζυμική μέθοδο (EIA) και την τεχνική της ανοσοαποτύπωσης με ανασυνδυασμένα αντιγόνα του ιού (RIBA). Οι τεχνικές EIA θεωρούνται αναπαραγωγίμες, με χαμηλό κόστος, υψηλή ευαισθησία (>99%), ιδιαίτερα της 3<sup>ης</sup> γενιάς, και ειδικότητα σε μη ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς. Στις μέρες μας, η δοκιμασία RIBA εκτελείται κυρίως σε περιπτώσεις με θετική EIA όταν τα θετικά για αντι-HCV αντισώματα άτομα ανήκουν σε ομάδες χαμηλού κινδύνου (π.χ εθελοντές αιμοδότες).

β) *Ποιοτικές και ποσοτικές* τεχνικές ανίχνευσης και προσδιορισμού του HCV-RNA στον ορό ασθενών με λοίμωξη από τον HCV.

- Ποιοτική ανίχνευση του HCV-RNA γίνεται όταν βρίσκονται στον ορό θετικά αντι-HCV αντισώματα, ώστε να επιβεβαιωθεί και να τεκμηριωθεί η λοίμωξη από τον HCV. Στην οξεία ηπατίτιδα C το HCV-RNA μπορεί να είναι θετικό ακόμα και πριν η παραγωγή αντισωμάτων φτάσει σε επίπεδα ανιχνεύσιμα με τις υπάρχουσες τεχνικές. Στη χρόνια ηπατίτιδα C ο ποιοτικός προσδιορισμός του HCV-RNA χρησιμοποιείται για την εκτίμηση της ανταπόκρισης στη θεραπεία. Στην αιμοδοσία ο έλεγχος του HCV-RNA έχει αρχίσει να χρησιμοποιείται για την προφύλαξη από πιθανή μετάδοση του ιού (περίοδος του παραθύρου με αρνητικά αντι-HCV). Δύο είναι οι βασικές τεχνικές ποιοτικού προσδιορισμού του HCV-RNA που εφαρμόζονται: η αλυσιδωτή

αντίδραση πολυμεράσης (Polymerase Chain Reaction, PCR) και η ενίσχυση μέσω μεταγραφής (Transcription Mediated Amplification, TMA). Και στις δυο τεχνικές γίνεται πολλαπλασιασμός του RNA στόχου και ταυτόχρονη ανίχνευση αναστολέων με την ενσωμάτωση εσωτερικού μάρτυρα RNA. Το τελικό προϊόν της αντίδρασης είναι στη PCR DNA ενώ στο TMA, RNA. Μετά από πολύ καλό ποιοτικό έλεγχο και άριστη επαναληψιμότητα η PCR που χρησιμοποιείται στην κλινική πράξη είναι το εμπορικά διαθέσιμο σύστημα HCV AmpliCor (Roche) με ευαισθησία 250-300 αντίγραφα/ml (50 IU/ml). Η τεχνική αυτή περιλαμβάνει στάδιο εκχύλισης ολικού RNA από πλάσμα ή ορό, και ακολουθούν η PCR και η ανίχνευση του προϊόντος στον αυτόματο αναλυτή (COBAS) με ELISA. Η μέθοδος TMA (BAYER) έχει ίσως μεγαλύτερη ευαισθησία από την PCR που φτάνει στα 30-50 αντίγραφα/ml (5-10 IU/ml). Η απομόνωση του HCV-RNA γίνεται με υβριδισμό, αφού προηγηθεί η ενίσχυση του προϊόντος μέσω μεταγραφής. Η αντίδραση γίνεται ισοθερμικά με τη βοήθεια 2 ενζύμων, της αντίστροφης μεταγραφάσης και της RNA πολυμεράσης. Το HCV-RNA μετατρέπεται σε cDNA, το RNA αποδομείται, σχηματίζεται διπλή έλικα DNA και ακολουθεί η μεταγραφή του σε 10-100 μόρια RNA (amplicons). Η ανίχνευση του προϊόντος γίνεται τελικά με τη μέθοδο της χημειοφωταύγειας και η ειδικότητα της μεθόδου φτάνει στο 99.5%.

- Ο ποσοτικός προσδιορισμός του HCV-RNA γίνεται με 3 κυρίως τεχνικές: την PCR, την τεχνική του διακλαδιζόμενου DNA (bDNA) και την ενίσχυση με βάση την αλληλουχία των νουκλεϊνικών οξέων (Nucleic Acid Sequence Based Amplification) (NASBA). Η μεθοδολογία αλλά και οι μονάδες μέτρησης είναι διαφορετικές για κάθε τεχνική. Σημαντικά ζητήματα για την ποσοτική μέτρηση

του HCV-RNA είναι η ευαισθησία, η επαναληψιμότητα, η ακρίβεια και το εύρος μέτρησης (116).

Σύμφωνα με θέσεις ομοφωνίας για την ηπατίτιδα C (EASL 1999, Paris, AASLD 2000), η διάγνωση της χρόνιας ηπατίτιδας C βασίζεται στην: α) ανίχνευση με ανοσοενζυμική μέθοδο (EIA) δεύτερης ή τρίτης γενεάς, των αντι-HCV αντισωμάτων, β) επιβεβαίωση των αποτελεσμάτων, προς την αποφυγή ψευδώς θετικών, με την ίδια μέθοδο σε δεύτερο δείγμα και γ) τελικά επιβεβαίωση των θετικών αντι-HCV με ποιοτική ανίχνευση του HCV-RNA (117,118).

Τέλος, η βιοψία ήπατος σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C εκτελείται για την επιβεβαίωση της διάγνωσης, τον προσδιορισμό της σοβαρότητας της νόσου (εκτίμηση της νεκροφλεγμονώδους δραστηριότητας και της ίνωσης), την απόφαση για έναρξη ή όχι αγωγής καθώς και την αποτελεσματικότητα της θεραπείας. Η βιοψία ήπατος είναι, επίσης, δυνατόν να βοηθήσει στον αποκλεισμό άλλων ηπατικών παθήσεων όπως η ηπατική νόσος λόγω κατάχρησης οινόπνευματος (116).

## 5. ΕΞΩΗΠΑΤΙΚΕΣ ΕΚΔΗΛΩΣΕΙΣ ΧΡΟΝΙΑΣ ΛΟΙΜΩΞΗΣ ΑΠΟ ΤΟΝ HCV

Ο HCV σχετίζεται με την παρουσία ποικίλων συνδρόμων και/ή νόσων που είναι γνωστά ως εξωηπατικές εκδηλώσεις (Πίνακας 4) (104,119-123). Οι περισσότερες από τις εκδηλώσεις αυτές, αφορούν αυτοάνοσα ή λεμφοϋπερπλαστικά σύνδρομα, τα οποία σχετίζονται με το γεγονός ότι ο HCV έχει την ικανότητα να πολλαπλασιάζεται και στα λεμφοκύτταρα (124). Εντούτοις, η μειονότητα μόνο των ασθενών παρουσιάζει κλινικώς σημαντικά ευρήματα εξωηπατικής νόσου (125,126).

Δυστυχώς, δεν έχει διευκρινιστεί επαρκώς αν αυτές οι αυτοάνοσες διαταραχές είναι διεργασίες κατευθυνόμενες από αντιγόνα του ιού και επομένως άμεσα σχετιζόμενες με τη λοίμωξη (25,127), ή κατευθυνόμενες από αυτοαντιγόνα και επομένως αποτελούν αληθείς, συνυπάρχουσες, αυτοάνοσες διαταραχές (128,129). Επιπλέον, πρέπει να τονιστεί ότι βάση της θεραπείας της χρόνιας ηπατίτιδας C αποτελεί η α-ιντερφερόνη, μια κυτταροκίνη, η οποία παρουσιάζει την τάση να επάγει αυτοάνοσα φαινόμενα ή και την πλήρη έκφραση αυτοάνοσων νοσημάτων σε γενετικά ευαίσθητους ασθενείς (130-132).

Παρακάτω αναπτύσσονται διεξοδικότερα οι σημαντικότερες εξωηπατικές εκδηλώσεις της ηπατίτιδας C:

### 5.1. ΕΚΔΗΛΩΣΕΙΣ ΜΕ ΥΨΗΛΗ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ ΤΟΝ HCV

#### 5.1.1 Μεικτή κρουσφαιριναιμία

Η μεικτή κρουσφαιριναιμία αποτελεί τη πιο συχνή εξωηπατική εκδήλωση της χρόνιας ηπατίτιδας C (119,128,133,134) με προσβολή 11-59%

**Πίνακας 4.** Εξωηπατικές εκδηλώσεις σχετιζόμενες με την λοίμωξη από τον HCV

---

**ΕΚΔΗΛΩΣΕΙΣ ΜΕ ΥΨΗΛΗ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ ΤΟΝ HCV**

Μεικτή κρουοσφαιριναιμία (40-80%)  
Σπειραματονεφρίτιδα (4-6%)  
Όψιμη δερματική πορφυρία (3-6%)  
Σ. Sicca / Σ. Sjögren (10-20%)  
Παραγωγή αυτοαντισωμάτων (20-75%)

**ΕΚΔΗΛΩΣΕΙΣ ΜΕ ΠΙΘΑΝΗ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ ΤΟΝ HCV**

Λεμφοϋπερπλαστικές διαταραχές (5-35%)  
Συστηματική αγγειίτιδα-πολυαρθριίτιδα (1-2%)  
Αυτοάνοση θρομβοπενία (10-15%)  
Αρθραλγίες-Μυαλγίες (20-30%)  
Σακχαρώδης Διαβήτης τύπου II

**ΕΚΔΗΛΩΣΕΙΣ ΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΕΣ ΜΕ ΤΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΜΕ ΙΝΤΕΡΦΕΡΟΝΗ**

Θυρεοειδίτιδα  
Ψωρίαση  
Σαρκοείδωση  
Ομαλός λειχήνας

---

των ασθενών (119,121,122,128,134-136). Χαρακτηρίζεται από τη παρουσία στον ορό κυκλοφορούντων ανοσοσφαιρινών, που καθιζάνουν σε χαμηλές θερμοκρασίες, αλλά επαναδιαλύονται με θέρμανση στους 37°C. Η αιτιοπαθογενετική σχέση της ιού της ηπατίτιδας C με την κρουοσφαιριναιμία επαληθεύεται από την ανίχνευση του HCV-RNA στο κρυσταλλικό υαίμα, μέχρι και στο 90% των ασθενών, μαζί με αντισώματα αντι-HCV (133) την εξαφάνιση ή μείωση των κρουοσφαιρινών και του ρευματοειδή παράγοντα σε βιοχημική-ιολογική ύφεση της νόσου μετά από θεραπεία καθώς και από την υποτροπή της κρουοσφαιριναιμίας στις περιπτώσεις υποτροπής της λοίμωξης μετά από αρχική επιτυχή θεραπεία.

Ο επιπολασμός της HCV λοίμωξης στην μεικτή κρουοσφαιριναιμία παρουσιάζει ευρεία γεωγραφική κατανομή: 85% στην Ιταλία, 35% στη Γαλλία, 46% στην Ελλάδα με σημαντικά χαμηλότερα ποσοστά στις Η.Π.Α και στην

λαπωνία (135-138). Οι κλινικές εκδηλώσεις εμφανίζονται στο 10% περίπου των ασθενών και είναι αποτέλεσμα τοπικής εναπόθεσης ανοσοσυμπλεγμάτων (128,136). Περιλαμβάνουν αδυναμία, καταβολή, πορφυρικό εξάνθημα, αρθραλγίες, συστηματική αγγειίτιδα με προσβολή του νεφρού και περιφερική νευροπάθεια. Η βιοψία δέρματος αποκαλύπτει συνήθως λευκοκυτταροκλαστική αγγειίτιδα (Σχήμα 6). Όπως προαναφέρθηκε κάθαρση του HCV-RNA μετά τη θεραπεία με α-ιντερφερόνη οδηγεί σε μείωση της συγκέντρωσης των κρυσφαιρινών με ύφεση των συμπτωμάτων και βελτίωση της νεφρικής λειτουργίας (139). Το πρόβλημα, εντούτοις, συνίσταται στην πολύ συχνή υποτροπή της κρυσφαιριναιμίας μετά τη διακοπή της αγωγής όταν υποτροπιάσει η ηπατίτιδα C (139).

Ο έλεγχος για την πιθανή παρουσία κρυσφαιριναιμίας σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C πρέπει να γίνεται μόνο σε εκείνους με ύποπτη κλινική συμπτωματολογία, καθώς στις περισσότερες περιπτώσεις το σύνδρομο της κρυσφαιριναιμίας είναι υποκλινικό (136), ενώ ενδεχόμενη παρέμβαση βελτιώνει μόνο εκείνους που παρουσιάζουν το κλινικό σύνδρομο. Ο έλεγχος για την παρουσία ρευματοειδούς παράγοντα πρέπει να χρησιμοποιείται πρώτα πριν από τον έλεγχο για κρυσφαιρίνες σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C καθώς οι κρυσφαιρίνες στη χρόνια ηπατίτιδα C χαρακτηρίζονται από δράση ρευματοειδούς παράγοντα (136).

### **5.1.2. Σπειραματονεφρίτιδα**

Η προσβολή του νεφρού στη χρόνια ηπατίτιδα C εκδηλώνεται, συνήθως, με τη μορφή της μεμβρανοϋπερπλαστικής σπειραματονεφρίτιδας και σπανιότερα ως μεμβρανώδης ή εστιακή σπειραματοσκλήρυνση (140-143)



(Σχήμα 6). Στις Η.Π.Α έχει αναφερθεί ότι περίπου το 10-20% των μεμβρανοϋπερπλαστικών σπειραματονεφρίτιδων οφείλονται στον HCV (140). Κλινικά εκδηλώνεται ως μικροσκοπική αιματοουρία και λευκωματουρία, ενώ οι βιοχημικοί δείκτες της νεφρικής λειτουργίας είναι ήπια επηρεασμένοι (140-143). Η νόσος είναι συνήθως προοδευτική και μπορεί να οδηγήσει σε νεφρική ανεπάρκεια τελικού σταδίου. Οι περισσότεροι ασθενείς έχουν ταυτόχρονα κρυσταλλοαριαιμία και ρευματοειδή παράγοντα σε υψηλούς τίτλους.

Δυστυχώς, δεν υπάρχουν μεγάλες μελέτες σχετικά με τη θεραπεία της σχετιζόμενης με την ηπατίτιδα C σπειραματονεφρίτιδας. Έχουν δοκιμαστεί μονοθεραπεία με α-ιντερφερόνη ή ανοσοκατασταλτική αγωγή (141,144,145). Εντούτοις, μετά το τέλος της θεραπείας όλοι οι ανταποκριθέντες παρουσίασαν ιολογική υποτροπή που συνοδεύονταν και από επιδείνωση της πρωτεϊνουρίας (141). Από την άλλη μεριά έχουν αναφερθεί μεμονωμένες περιπτώσεις πλήρους ύφεσης βαρείας νεφροπάθειας μετά από χορήγηση κλασσικού σχήματος α-ιντερφερόνη ή μετά από χορήγηση μονοθεραπείας με ανοσοκατασταλτικά (κυκλοφωσφαμίδη) (145).

### **5.1. 3. Όψιμη δερματική πορφυρία**

Η όψιμη δερματική πορφυρία χαρακτηρίζεται από ευθρυπτότητα του δέρματος, βλατίδες και φυσαλίδες, υπέρχρωση και υπερτρίχωση. Το αίτιο είναι η ελάττωση της δραστηριότητας της δεκαρβοξυλάσης του ουροπορφυρινογόνου, που μπορεί να είναι υποκλινική για χρόνια, έως ότου γίνει κλινικά εμφανής (123). Η όψιμη δερματική πορφυρία είναι συχνή σε ασθενείς με χρόνιες ηπατοπάθειες, ιδιαίτερα σε αυτές που σχετίζονται με αυξημένη εναπόθεση σιδήρου στο ήπαρ. Έτσι, σε πληθυσμούς που

παρατηρείται αυξημένος επιπολασμός της χρόνιας λοίμωξης από τον HCV διαπιστώνεται, επιπλέον, αυξημένος επιπολασμός και της όψιμης δερματικής πορφυρίας (146). Η αποσιδήρωση με φλεβοτομή πρέπει να πραγματοποιείται, σε αυτές τις περιπτώσεις, πριν την έναρξη αντι-ιικής αγωγής. Αν και δεν υπάρχουν τυχαίοποιημένες μελέτες για την αποτελεσματικότητα της α-ιντερφερόνης σε ασθενείς με λοίμωξη από τον HCV και όψιμη δερματική πορφυρία, έχουν ανακοινωθεί δυο περιπτώσεις εξαφάνισης των δερματικών αλλοιώσεων μετά από θεραπεία με α-ιντερφερόνη (147,148).

#### **5.1.4. Σύνδρομο Sicca / Σύνδρομο Sjögren**

Η αυτοάνοση σιελαδενίτιδα φαίνεται συνήθως να σχετίζεται όπως και οι προαναφερθείσες εξωηπατικές εκδηλώσεις με την παρουσία κρουσφαιριναιμίας σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C (121,128). Διάφορες μελέτες έχουν δείξει ότι το σύνδρομο Sicca είναι συχνό σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C (14-57%), αλλά κλινικές εκδηλώσεις και σοβαρές ιστολογικές διαταραχές όμοιες με εκείνες του συνδρόμου Sjögren φαίνεται ότι είναι σπάνιες (123,128,138). Παρόλα αυτά, παρατηρήσεις σε HCV θετικούς ασθενείς, με τυπική αυτοάνοση σιελαδενίτιδα, υποδεικνύουν ότι ο ιός μολύνει και πολλαπλασιάζεται στα κύτταρα των σιελογόνων αδένων γεγονός που εγείρει την πιθανότητα παθογενετικής σύνδεσης μεταξύ του HCV και της χρόνιας λεμφοκυτταρικής σιελαδενίτιδας (149-151).

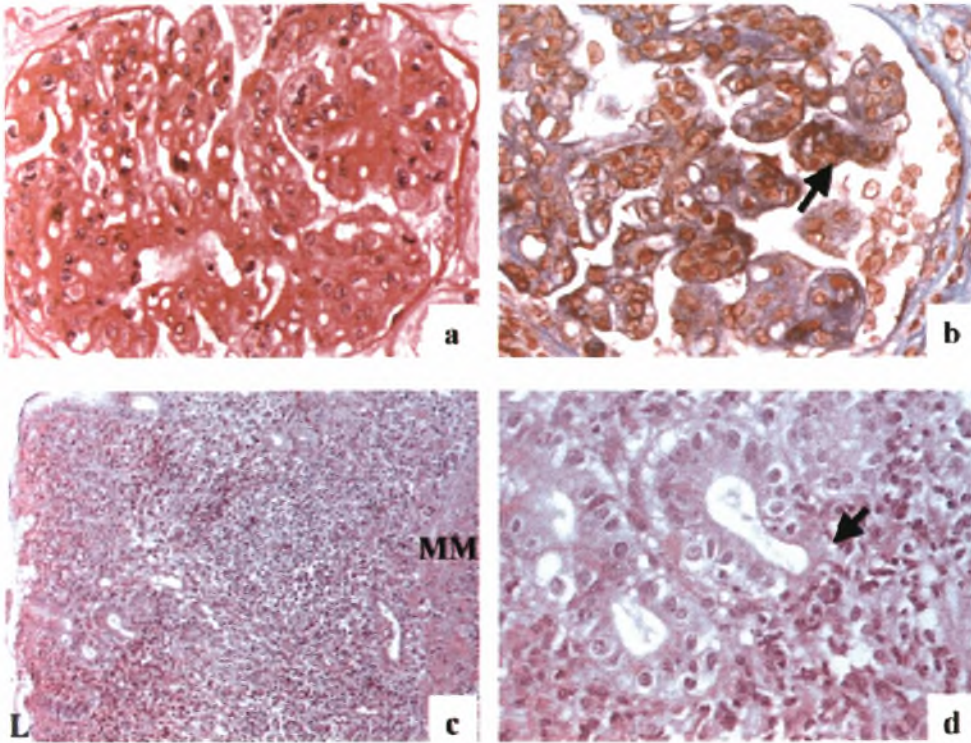
### 5.1.5. Παραγωγή αυτοαντισωμάτων

Σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C είναι συχνή η ανεύρεση αυτοαντισωμάτων (οργανοειδικών και μη οργανοειδικών) (25,123,152). Σύμφωνα με μελέτες η παρουσία ενός τουλάχιστον αυτοαντισώματος ανιχνεύεται στο 20-90% των ασθενών (25,153-160). Ο μηχανισμός παραγωγής τους παρόλα αυτά δεν είναι γνωστός. Ο λεμφοτροπισμός του ιού, η ικανότητα δηλαδή του HCV να πολλαπλασιάζεται στα αιμοποιητικά κύτταρα μπορεί να αποτελεί έναν κοινό παθογενετικό μηχανισμό για τις αυτοάνοσες αντιδράσεις με τις οποίες σχετίζεται (121). Παρόμοια με την αυτοάνοση ηπατίτιδα (AH), αυτοαντισώματα όπως τα ANA, SMA, ANCA, αντι-LKM, αντι-ASGP-R, αντι-CL έχουν ανιχνευθεί σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C, συνήθως όμως σε χαμηλότερους τίτλους και συχνότητες (119,123,154,161-169). Η διάκριση μεταξύ των δυο αυτών καταστάσεων θεωρείται σημαντική, γιατί η θεραπεία με α-ιντερφερόνη σε ασθενείς με υποκλινική AH μπορεί να προκαλέσει σοβαρή επιδείνωση της ηπατοκυτταρικής λειτουργίας (170-174), ενώ η θεραπεία με κορτικοστεροειδή μπορεί να αυξήσει το ιικό φόρτιο (175,176). Επιπλέον, όπως είναι γνωστό, η μοριακή μίμηση μπορεί να οδηγήσει σε διασταυρούμενες αυτοάνοσες αντιδράσεις και πιθανόν να αποτελεί έναν από τους βασικούς μηχανισμούς πρόκλησης AH (177). Εντούτοις, η άμεση συσχέτιση του HCV με την επαγωγή AH έχει τεκμηριωθεί σε μια μόνο περίπτωση (178).

## 5.2. ΕΚΔΗΛΩΣΕΙΣ ΜΕ ΠΙΘΑΝΗ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ ΤΟΝ ΗCV

### 5.2.1 Non-Hodgkin Λέμφωμα

Η συχνότητα της λοίμωξης από τον ΗCV σε ασθενείς με Β-λεμφοκυτταρικό non-Hodgkin λέμφωμα κυμαίνεται μεταξύ 9-42% στις Η.Π.Α, Ιαπωνία, Ιταλία και Ισπανία (179-184), αλλά μόλις 0-2% σε μελέτες από τη Μεγάλη Βρετανία, τον Καναδά ή τη Γαλλία (185-187). Η παραπάνω συσχέτιση έχει παρατηρηθεί σε ασθενείς με ή χωρίς συνυπάρχουσα κρουσφαιριναιμία (121,128). Επιπλέον, έχει βρεθεί συσχέτιση μεταξύ της λοίμωξης από τον ΗCV και άλλων καταστάσεων Β-λεμφοκυτταρικής αρχής, όπως το MALT λέμφωμα στομάχου (mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma) (Σχήμα 6), τη χρόνια λεμφοκυτταρική λευχαιμία, τη μακροσφαιριναιμία Wälldenstrom και το πολλαπλούν μυέλωμα (179-181,188). Ανεξάρτητα από τη μεγάλη γεωγραφική διακύμανση του επιπολασμού της χρόνιας ηπατίτιδας C σε ασθενείς με Β-λεμφοκυτταρικό non-Hodgkin λέμφωμα, όλες οι μελέτες συμφωνούν ότι ο ΗCV δε σχετίζεται μάλλον με τη νόσο Hodgkin ή κακοήθειες Τ-λεμφοκυτταρικής αρχής (121,128). Η φυσική ιστορία του Β-λεμφοκυτταρικού non-Hodgkin λεμφώματος που σχετίζεται με τον ΗCV δεν είναι γνωστή. Επιπρόσθετα, μέχρι στιγμής δεν υπάρχουν εκτεταμένες μελέτες σχετικά με τη χορήγηση αντι-ιικής θεραπείας σε τέτοιους ασθενείς. Πρόσφατα οι Mazzaο και συν (189) έδειξαν ότι η χορήγηση α-ιντερφερόνης σε ασθενείς με μεικτή κρουσφαιριναιμία και χαμηλής διαφοροποίησης Β non-Hodgkin λέμφωμα είχε ως αποτέλεσμα την πλήρη ύφεση της λεμφοδιηθητικής αυτής διεργασίας στους ασθενείς που παρουσίασαν πλήρη ύφεση της λοίμωξης από τον ΗCV. Εντούτοις, για τους περισσότερους ασθενείς φαίνεται ότι απαιτείται συστηματική χημειοθεραπεία για έλεγχο της νεοπλασίας.



**Σχήμα 6.** Εξωηπατικές εκδηλώσεις του ιού HCV. (α) Μεμβρανοϋπερπλαστική σπειραματονεφρίτιδα. (β) Κρυσφαιριναιμία. (c) / (d) Malt λέμφωμα στομάχου.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ Β΄

### ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ Β

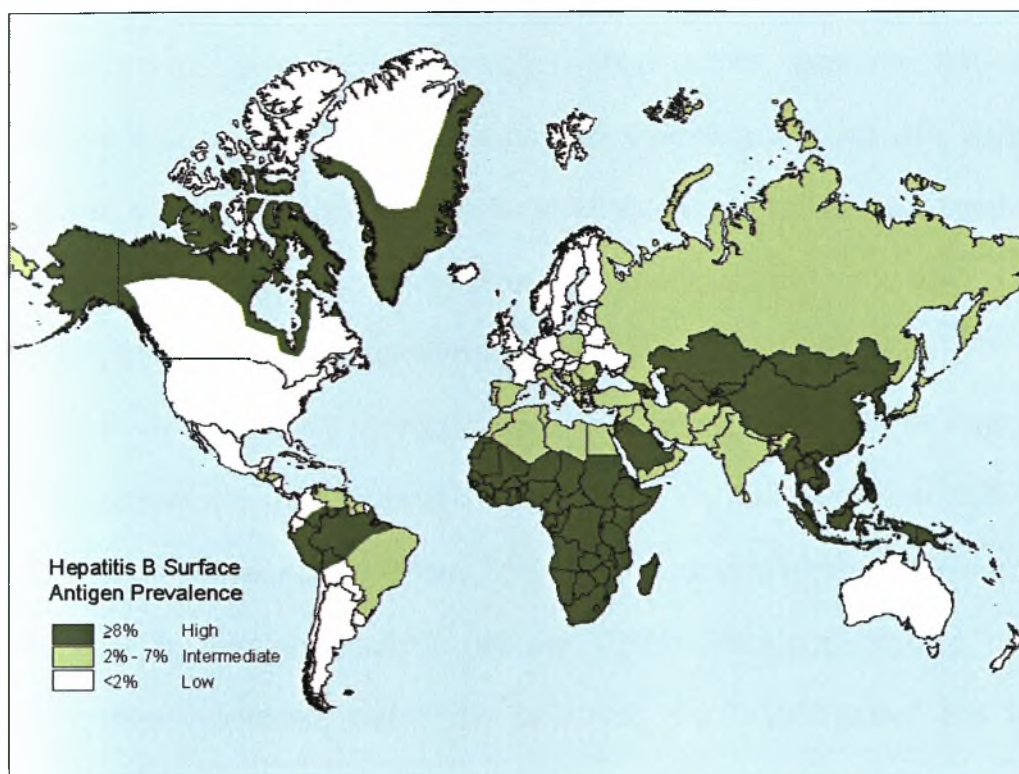
#### 1. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ

Η λοίμωξη από τον ιό της ηπατίτιδας Β (HBV) αποτελεί ένα από τα πιο συχνά λοιμώδη νοσήματα παγκοσμίως. Υπολογίζεται ότι 2 δισεκατομμύρια άνθρωποι, δηλαδή το 1/3 του πληθυσμού της υφελίου φέρουν ορολογικούς δείκτες παλαιάς ή συνεχιζόμενης λοίμωξης από τον HBV, ενώ κάθε έτος σημειώνονται 50 εκατομμύρια νέα κρούσματα (190). Ο ιός HBV αποτελεί την κύρια αιτία οξείας-χρόνιας ηπατίτιδας, κίρρωσης και ηπατοκυτταρικού καρκινώματος (191). Παγκοσμίως, οι 350 εκατομμύρια χρόνιαι φορείς έχουν 15-25% κίνδυνο θανάτου λόγω των μακροχρόνιων επιπλοκών της ηπατικής νόσου (192). Η λοίμωξη από τον HBV ευθύνεται για 500.000-1.200.000 θανάτους ανά έτος γεγονός που την κατατάσσει ως την 10<sup>η</sup> πιο σημαντική αιτία θανάτου παγκοσμίως (193,194).

Ο επιπολασμός του HBV παρουσιάζει ευρεία γεωγραφική κατανομή. Ποσοστό 75% των χρόνιαν φορέων της νόσου προέρχεται από την Ασία και τον Δυτικό Ειρηνικό (195). Η ενδημικότητα του ιού ανά τον κόσμο διακρίνεται σε υψηλή (επιπολασμός >8%), ενδιάμεση (επιπολασμός 2-7%) και χαμηλή (επιπολασμός <2%) (Χάρτης 2) (196). Περιοχές με *υψηλή* ενδημικότητα θεωρούνται η Ασία, η Αφρική, περιοχές του Ειρηνικού, της Μέσης Ανατολής και η Καραϊβική. Περιοχές με *ενδιάμεση* ενδημικότητα θεωρούνται η Νοτιοανατολική Ευρώπη, η Μέση Ανατολή, η Ιαπωνία και περιοχές της Κεντρικής και Νότιας Αμερικής. Τέλος, περιοχές με *χαμηλή* ενδημικότητα είναι η Δυτική Ευρώπη, η Αυστραλία, και η Βόρειος Αμερική. Συνολικά, το 45% του

παγκόσμιου πληθυσμού κατοικεί σε περιοχές υψηλής ενδημικότητας (193). Στην Ευρώπη η ετήσια επίπτωση οξείας ηπατίτιδας από τον HBV υπολογίζεται σε 6 νέες περιπτώσεις/100.000 κατοίκους στις νότιες και 1 νέα περίπτωση/100.000 κατοίκους στις βόρειες χώρες, αντίστοιχα (197).

**Χάρτης 2.** Επιδημιολογικός χάρτης της χρόνιας λοίμωξης από τον HBV.



Η **Ελλάδα** παρουσιάζει ακόμη και σήμερα ενδιάμεση ενδημικότητα λοίμωξης από τον HBV, δηλαδή: α) συχνότητα HBsAg 2-7% β) συχνότητα δεικτών προηγούμενης λοίμωξης, δηλαδή αντισώματα κατά του HBsAg (αντι-HBs) και κατά του HBcAg (αντι-HBc) σε ποσοστό 20-50%. Η βελτίωση τα τελευταία χρόνια των συνθηκών υγιεινής, σε συνδυασμό με την αλλαγή επικίνδυνων συμπεριφορών, τον καλύτερο έλεγχο του αίματος και των παραγώγων του και τον περιορισμό της ιατρογενούς διασποράς με τη

χρησιμοποίηση ιατρικών εργαλείων μιας χρήσης, οδήγησαν σε μείωση της επίπτωσης της λοίμωξης από τον HBV (198-203). Σ' αυτό έχει συμβάλει σε σημαντικό βαθμό ο μαζικός εμβολιασμός κατά του HBV από το 1998 και ο υποχρεωτικός έλεγχος των εγκύων. Ενώ λοιπόν, τα ποσοστά οροθετικότητας στους αιμοδότες φαίνεται ότι βρίσκονται μικρότερα του 1%, δεν είναι γνωστά τα αντίστοιχα ποσοστά σε γενικό πληθυσμό από ευρείες περιοχές της χώρας. (204). Αν και στις περισσότερες μελέτες σε γενικό πληθυσμό δεν είναι σαφής ο σχεδιασμός των μελετών από πλευράς επιδημιολογίας, εντούτοις φαίνεται σε γενικές γραμμές ότι υπάρχει μείωση του επιπολασμού και στο γενικό πληθυσμό της χώρας μας. Παρ'όλα αυτά η ύπαρξη θυλάκων υψηλού επιπολασμού της λοίμωξης από τον HBV είναι σαφής, γεγονός που πρέπει να μελετηθεί εκτενώς και συστηματικά από άποψη Δημόσιας Υγείας.

Από την άλλη μεριά, η παρουσία οικονομικών μεταναστών σε κάποια χώρα σκιαγραφείται από τη μεγάλη διακύμανση επιπολασμού του HBsAg μεταξύ ειδικών εθνικών υποομάδων. Στην Ελλάδα, οι μελέτες σε πληθυσμούς οικονομικών μεταναστών, κυρίως από την Αλβανία, δεν είναι πολλές, ούτε μεγάλες, είναι ενδεικτικές όμως του μεγέθους του προβλήματος και της ανάγκης λήψης ειδικών μέτρων με στόχο τον έλεγχο της λοίμωξης και τον περιορισμό της μεταδοτικότητας της νόσου (205-208). Ενδεικτικά, μελέτη σε περιοχές της Ανατολικής και της Δυτικής Αττικής, όπου η οροθετικότητα του HBsAg στους μόνιμους κατοίκους βρέθηκε πολύ χαμηλή (0.84%), το ποσοστό στους αλλοδαπούς ήταν 15.4% (207). Στην Ήπειρο, τα ποσοστά στους αλλοδαπούς (στη μεγάλη πλειοψηφία από την Αλβανία) βρέθηκαν 22,5% για το HBsAg και 70% για το αντι-HBc, με ομοιόμορφη ηλικιακή κατανομή (206). Στην ίδια γεωγραφική περιοχή βρέθηκε ότι οι αλκοολικοί με ή χωρίς αλκοολική



ηπατοπάθεια αποτελούν ομάδα υψηλού κινδύνου (209). Στην Κρήτη αναφέρεται ποσοστό HBsAg οροθετικότητας σε αλλοδαπούς περίπου 25%, ενώ στη Θράκη ποσοστό 9.4% σε πρόσφυγες από την Ρωσία και 12.3% σε μουσουλμάνους (204).

Συμπερασματικά, από τις μελέτες που έχουν γίνει και σύμφωνα με τα λίγα στοιχεία της Εθνικής Στατιστικής Υπηρεσίας και του Κέντρου Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων φαίνεται ότι υπάρχει σαφής μείωση των νέων περιπτώσεων οξείας ηπατίτιδας Β, μείωση της HBsAg οροθετικότητας (τουλάχιστον στους εθελοντές αιμοδότες και στις μικρές ηλικίες, όπου σήμερα το ποσοστό είναι γύρω στο 1%) (210), αλλά δεν είναι γνωστός ο επιπολασμός σε ευρεία κλίμακα του γενικού πληθυσμού της χώρας για τις ηλικίες άνω των 20 ετών.

## 2. ΤΡΟΠΟΙ ΜΕΤΑΔΟΣΗΣ ΤΗΣ ΝΟΣΟΥ

Ο ΗΒV ανευρίσκεται σε πολλά ανθρώπινα βιολογικά υγρά, όπως στο αίμα, τη σίελο, το σπέρμα, τις κολπικές εκκρίσεις, και λιγότερο στα δάκρυα, το μητρικό γάλα και τα ούρα (211). Οι κυριότεροι τρόποι μετάδοσης της νόσου είναι:

- Η μετάγγιση αίματος και παραγώγων του
- Διαδερμικά (ενδοφλέβια χρήση τοξικών ουσιών, χρήση κοινών υλικών που έρχονται σε επαφή με αίμα π.χ. οδοντόβουρτσες, ξυραφάκια κ.λ.π.)
- Η σεξουαλική επαφή
- Η κάθετη μετάδοση (από τη μητέρα-φορέα στο νεογνό)
- Η ενδονοσοκομειακή μετάδοση

Η κυρίαρχη οδός μετάδοσης του ιού εξαρτάται από την ενδημικότητα της νόσου στην αντίστοιχη περιοχή. Έτσι, σε περιοχές υψηλής ενδημικότητας διαπιστώνεται κυρίως κάθετη μετάδοση της λοίμωξης από τον ΗΒV, ενώ σε περιοχές χαμηλής ενδημικότητας η μετάδοση είναι, πρωτίστως, οριζόντια (διαδερμικά ή μέσω σεξουαλικής επαφής) (191,195). Η σεξουαλική επαφή και η ενδοφλέβια χρήση τοξικών ουσιών είναι η πιο συχνή οδός μετάδοσης στην Ευρώπη και τη Βόρειο Αμερική (195). Παρόλα αυτά, πρέπει να σημειωθεί ότι στο 1/3 των ασθενών με οξεία ή χρόνια λοίμωξη από τον ΗΒV δε βρίσκεται κάποιος παράγοντας κινδύνου σχετιζόμενος με τη μετάδοση του ιού.

Παρακάτω αναλύονται διεξοδικότερα οι τρόποι μετάδοσης της ηπατίτιδας Β:

### *-μετάγγιση αίματος και παραγώγων του*

Η μετάδοση της ηπατίτιδας Β, μέσω μετάγγισης ήταν παλαιότερα συνηθής, αλλά πλέον η βελτίωση των διαγνωστικών μεθόδων και ο ορολογικός έλεγχος έχει οδηγήσει σε σημαντική μείωση του κινδύνου μετα-μετάγγισης ηπατίτιδας Β (212). Στις Η.Π.Α., για τον έλεγχο των δοτών, χρησιμοποιούνται τόσο το HBsAg όσο και το αντι-HBc. Συγκεκριμένα, μετά την εφαρμογή του ελέγχου για την ηπατίτιδα C, το αντι-HBc διατηρήθηκε για τον εντοπισμό δοτών που βρίσκονται στην περίοδο του παραθύρου ή έχουν χαμηλής ιαιμίας χρόνια λοίμωξη από τον HBV. Το φαινόμενο της μετα-μετάγγισης ηπατίτιδας Β 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 (213,214). 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 αντι-HBc. Στις Η.Π.Α., η τρέχουσα πιθανότητα μόλυνσης από τον HBV μετά από μετάγγιση από δότη αρνητικό για το HBsAg και το αντι-HBc είναι 1/63.000 φιάλες (215,216), ενώ για κάθε 100.000 ελέγχους αιμοδοτών ανευρίσκονται κατά μέσο όρο 78,6 περιπτώσεις ατόμων HBsAg θετικών (212).

### *- Διαδερμική μετάδοση*

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 (215,217-219). 8-16 εκατομμύρια νέα κρούσματα λοίμωξης από τον HBV κάθε χρόνο οφείλονται σε χρήση μολυσμένων βελονών σε σύγκριση με τα 2.3-4.7 εκατομμύρια και τις 80-160 χιλιάδες νέα κρούσματα από τους ιούς HCV και HIV αντίστοιχα (220). Πράγματι, η χρήση ενδοφλέβιων τοξικών ουσιών αποτελούσε σύμφωνα με επιδημιολογικές μελέτες τη συχνότερη οδό μετάδοσης σε αναπτυσσόμενες χώρες, όπως η Μεγάλη Βρετανία, στο χρονικό διάστημα 1995-2000 (221). Γενικότερα, η μετάδοση της λοίμωξης από τον HBV με τη χρήση μολυσμένων βελονών στους ασθενείς αυτούς συνεχίζει να είναι ιδιαίτερα σημαντική στις περιοχές με χαμηλή ενδημικότητα της νόσου (194).

### *- Σεξουαλική επαφή*

Όπως προαναφέρθηκε, η σεξουαλική επαφή αποτελεί μια από τις συχνότερες οδούς μετάδοσης στην Ευρώπη και τη Βόρειο Αμερική (194). Στις ομάδες υψηλού κινδύνου περιλαμβάνονται οι ετεροφυλόφιλοι με πολλαπλούς ερωτικούς συντρόφους, οι ομοφυλόφιλοι, οι ερωτικοί σύντροφοι φορέων του ιού ή χρηστών ενδοφλέβιων τοξικών ουσιών καθώς και οι ασθενείς με ιστορικό άλλων σεξουαλικών νοσημάτων (222). Η αύξηση της οροθετικότητας για το HBsAg μετά την ηλικία των 12 ετών και η συσχέτισή της με τη μικρή

ηλικία της πρώτης σεξουαλικής επαφής καθώς και τον αριθμό των ερωτικών συντρόφων επιβεβαιώνει τη σεξουαλική επαφή σαν ένα από τους κύριους τρόπους μετάδοσης και ενισχύει την τοποθέτηση της ηπατίτιδας Β στα σεξουαλικά μεταδιδόμενα νοσήματα, ενώ από την άλλη μεριά τονίζει τον αυξημένο κίνδυνο μόλυνσης που διατρέχουν ευαίσθητοι έφηβοι (μη εμβολιασμένοι κατά του HBV) (223).

#### *- Κάθετη μετάδοση*

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 δοθεί ανοσοπροφύλαξη στο νεογνό, κυμαίνεται στο 70-90% μέχρι την ηλικία των έξι μηνών, ειδικά αν οι μητέρες είναι HBeAg θετικές (224,225). Περίπου το 90% αυτών των παιδιών θα αποκτήσει χρόνια λοίμωξη από τον HBV (224). Αντίθετα, η πιθανότητα κάθετης-περιγεννητικής μετάδοσης από μητέρες HBeAg (-) κυμαίνεται στο 5-20% (224,225). Η μητέρα μπορεί να μολύνει το νεογνό-βρέφος, κατά τον τοκετό με απ' ευθείας έκθεση στο μητρικό αίμα και πολύ πιο πιθανά κατά την περιγεννητική περίοδο. Σπανιότατα η μόλυνση μπορεί να συμβεί ενδομητρικά. Η ενδομητρική μετάδοση είναι πράγματι ιδιαίτερα ασυνήθιστη κάτι που πιστοποιείται και από την καθυστερημένη εμφάνιση του HBsAg στα νεογνά (215). Επιπλέον, η ενεργητική και παθητική ανοσοποίηση του νεογέννητου επιτυγχάνει τελικά την προφύλαξή του από τον HBV σε ποσοστό άνω του 90% των περιπτώσεων (225,226). 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<sup>ο</sup> τρίμηνο της κύησης και η ύπαρξη του HBV στον πλακούντα, ειδικά στα ενδοθηλιακά κύτταρα των λαχνών (227). Το είδος του τοκετού δε φαίνεται να επηρεάζει σημαντικά το ποσοστό μετάδοσης, ενώ η μετάδοση του HBV μέσω θηλασμού δεν έχει αποδειχθεί σε μεγάλες μελέτες και συνεπώς δεν πρέπει να απαγορεύεται σε HBV-θετικές μητέρες αν μάλιστα έχει προηγηθεί η ενδεικνυόμενη ανοσοπροφύλαξη του νεογνού εντός 24 ωρών από τη γέννηση (228,229). Τέλος, πρέπει να σημειωθεί, ότι ένα σημαντικό ποσοστό χρόνιων φορέων της νόσου κατά την παιδική ηλικία οφείλεται στην ενδοοικογενειακή μετάδοση του HBV (230-232).

#### *- Ενδονοσοκομειακή μετάδοση*

Η μετάδοση του HBV μπορεί να συμβεί ενδονοσοκομειακά, είτε ιατρογενώς (233), είτε από ασθενή σε ασθενή (234,235), είτε από ασθενή στο προσωπικό μέσω μολυσμένων συσκευών (236) ή μετά από τυχαίο τρύπημα με βελόνα. Ο κίνδυνος μόλυνσης από ένα τέτοιο τρύπημα εξαρτάται από την παρουσία ή όχι του HBeAg (237), και κυμαίνεται από το 20% ως το 66%, αντίστοιχα (238). 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 (239). Σημαντική είναι και η διασπορά του ιού μέσω των μηχανημάτων αιμοδιύλισης στις μονάδες τεχνητού νεφρού (240,241). 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 (242). 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) (36,243,244).

### 3. Ο ΙΟΣ ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ Β (HBV)

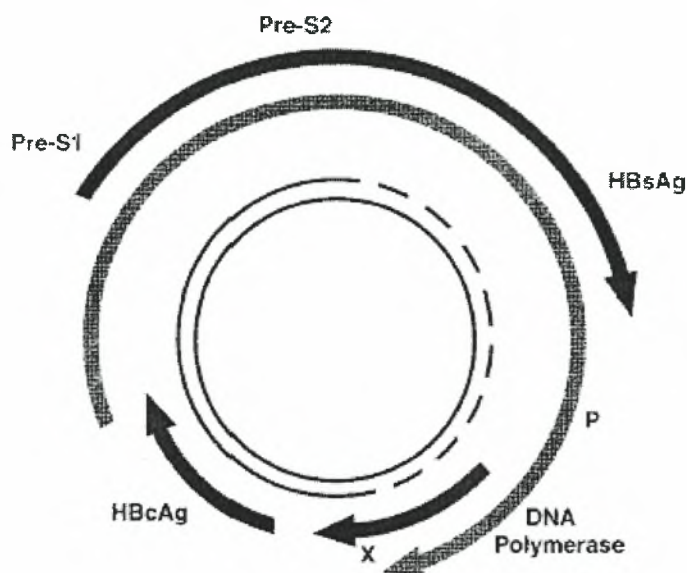
#### 3.1. Η ΔΟΜΗ

Ο ιός της ηπατίτιδας Β (HBV) ανήκει στην οικογένεια των hepadna ιών, η οποία συμπεριλαμβάνει και τους ιούς της ηπατίτιδας στα τρωκτικά woodchuck, τους σκίουρους εδάφους, τα παπάκια Πεκίνου, και πιο πρόσφατα, τους ιούς ηπατίτιδας από πιο πρωτεύοντα ζώα (245). Οι ιοί αυτοί έχουν εξωτερικό φάκελο που περιβάλλει το πυρηνοκαψίδιο, εντός του οποίου βρίσκεται το γενετικό τους υλικό, που αποτελείται από DNA. Το γονιδίωμα είναι κυκλικού σχήματος, αποτελούμενο από δύο αλυσούς, η μια των οποίων και συγκεκριμένα εκείνη της θετικής κατεύθυνσης είναι ελλειπής (Σχήμα 7) (246,247). Το ολικό μήκος του γονιδιώματος είναι 3200 νουκλεοτίδια, και όλα ανεξαιρέτως αποτελούν μέρος των τεσσάρων ανοικτών πλαισίων ανάγνωσης που περιέχει. Τα πλαίσια αυτά έχουν μερικώς ή ολικώς επικαλυπτόμενες περιοχές, ούτως ώστε, η ομολογία βάσεων στις περιοχές αυτές σε διαφορετικό πλαίσιο ανάγνωσης να κωδικογραφεί μια διαφορετική πρωτεΐνη του ιού. Με αυτό τον τρόπο γίνεται μέγιστη χρήση της νουκλεοτιδικής αλληλουχίας του γονιδιώματος και δικαιολογεί το συμπαγές της δομής του. Τα τέσσερα ανοικτά πλαίσια ανάγνωσης είναι εντοπισμένα στην αρνητικής κατεύθυνσης DNA αλυσό, η οποία φέρει εγκοπή και είναι τα εξής (open reading frames):

- α) Το S, για το επιφανειακό ή γονίδιο του περιβλήματος
- β) Το C, για το πυρηνικό γονίδιο
- γ) Το X, για το X γονίδιο
- δ) Το P, για το γονίδιο της DNA πολυμεράσης



Τα παραπάνω γονίδια κωδικογραφούν στο σύνολο 7 δομικές και μη δομικές πρωτεΐνες του ιού (Πίνακας 5).



**Σχήμα 7.** Δομή και οργάνωση του γενώματος του ιού της ηπατίτιδας Β.

α) Οι πρωτεΐνες του φακέλου ή αντιγόνο επιφανείας (HBsAg). Το ανάλογο πλαίσιο ανάγνωσης περιέχει 3 κωδικόνια έναρξης της μετάφρασης. Έτσι κωδικογραφούνται 3 πρωτεΐνες: η πρωτεΐνη επιφανείας (κύρια-s, 226 αμινοξέα), η προεπιφανειακή πρωτεΐνη 1 (μεγάλη ή προ-s1, 400 αμινοξέα) και η προεπιφανειακή πρωτεΐνη 2 (μέση ή προ-s2, 281 αμινοξέα). Η πρωτεΐνη s 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. Μεταλλαγές του HBsAg έχουν γίνει γνωστές ως αντιγονικοί καθοριστές d, y, w και r και η παρουσία τους καθόρισε τους υπότυπους D, Y, W και R του HBV.

Κοινός αντιγονικός καθοριστής στους παραπάνω υποτύπους αποτελεί η περιοχή α της πρωτεΐνης HBsAg (μεταλλαγές στην α περιοχή ενοχοποιούνται για νόσηση από τον HBV παρά τον επιτυχή εμβολιασμό καθώς και για μερική αδυναμία ανίχνευσης του HBsAg με τις συνήθεις δοκιμασίες ανίχνευσης). Οι προεπιφανειακές πρωτεΐνες φαίνεται ότι βοηθούν στην προσκόλληση του ιού στο ηπατοκύτταρο, αφού ο HBV συνδέεται με υποδοχέα της πρωτοπλασματικής μεμβράνης μέσω υποδοχέα του αμινικού άκρου (248). Συσχετίζονται επίσης χρονολογικά με την αιμία, 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.

*β) Η πρωτεΐνη του πυρηνοκαψιδίου ή πυρηνικό αντιγόνο (HBcAg).* Αυτό το πλαίσιο ανάγνωσης περιέχει δυο κωδικόνια έναρξης της μετάφρασης. Το πυρηνικό αντιγόνο κωδικογράφεται από το δεύτερο, ενώ το πρώτο κωδικογραφεί για την προ-πυρηνική / πυρηνική πρωτεΐνη, από την οποία παράγεται το ευδιάλυτο e αντιγόνο (HBeAg), μετά από πρωτεολυτική επεξεργασία του αμινικού και καρβοξυλικού άκρου στο ενδοπλασματικό δίκτυο (249,250). Η μη-δομική πρωτεΐνη e (212 αμινοξέα) όπως έχει διαπιστωθεί σε έρευνες, δεν είναι απαραίτητη για την αναπαραγωγή του ιού (251,252). Ίσως να βοηθά τον ιό να διαφεύγει από το ανοσολογικό σύστημα του ξενιστή δημιουργώντας λειτουργική καταστολή των βοηθητικών Τ-λεμφοκυττάρων (φάση της ανοσολογικής ανοχής) (253,254).

Πίνακας 6. Οι πρωτεΐνες του ιού της ηπατίτιδας Β και ο ρόλος τους.

Πρωτεΐνες	Ρόλος
Κύρια s	Περιέχει το HBsAg
Προ-s1, προ-s2	Συσχετίζονται χρονολογικά με την HBV-DNA ιαίμια, 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 αλύσου 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. Διέγερση της απόπτωσης και αναστολή της καρκινικής εξαλλαγής

Η δομική πρωτεΐνη c, μεγέθους 183 αμινοξέων, δεν εκκρίνεται, αλλά μεταφέρεται στον πυρήνα (255) του ηπατοκυττάρου, με την καθοδήγηση της πλούσιας σε αργινίνη περιοχή του καρβοξυλικού άκρου της (256). Εκφράζει τους επιτόπους HBcAg, χρησιμοποιείται στη δόμηση νέων ιικών σωματιδίων και είναι απαραίτητη για την αναπαραγωγή του ιού (257). Εκατόν ογδόντα αντίγραφα της πρωτεΐνης c μαζί με το γονιδιακό HBV-DNA σχηματίζουν το πυρηνοκαψίδιο κάθε ιικού σωματιδίου.

γ) Η πρωτεΐνη X. Ο ρόλος της πρωτεΐνης X (154 αμινοξέα) παραμένει άγνωστος. Σε in-vitro πειράματα, όμως, η πρωτεΐνη αυτή δρα ως ετερόπλευρος (in-trans) ενεργοποιητής κυτταρικών γονιδίων, μεταξύ των

οποίων ίσως και ογκογονίδια, με πιθανό ρόλο στην ανάπτυξη του ηπατοκυτταρικού καρκίνου in-vivo (258).

δ) Η DNA πολυμεράση του ιού. Κωδικογραφείται από το μεγαλύτερο πλαίσιο ανάγνωσης και περιλαμβάνει τα 2/3 σχεδόν της γονιδιακής ομολογίας βάσεων (259). Η πρωτεΐνη που κωδικογραφείται από το πλαίσιο αυτό έχει τους ακόλουθους λειτουργικούς τομείς. Στο αμινικό της άκρο είναι εντοπισμένη η τερματική πρωτεΐνη (260) και ακολουθείται από τον τομέα διαχωρισμού της, από τον επόμενο που ενεργεί ως ανάστροφη τρανσκριπτάση καθώς επίσης και ως DNA πολυμεράση. Το καρβοξυλικό της άκρο καταλαμβάνεται από την RNAαση (261).

### 3.2. ΜΕΤΑΛΛΑΓΕΣ ΤΟΥ HBV

Ο πολλαπλασιασμός του HBV μέσω της ανάστροφης μεταγραφάσης έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία μεγάλου αριθμού γενετικών παραλλαγών του ιού, λόγω της υψηλής πιθανότητας σφάλματος του ενζύμου. Η ανάστροφη μεταγραφάση, όπως και τα αντίστοιχα ένζυμα των ρετροϊών, δε διαθέτει μηχανισμό διόρθωσης (262). Πλήθος μεταλλαγών έχουν ανιχνευθεί τόσο στις κωδικογραφούμενες περιοχές του ιικού γονιδιώματος όσο και στα στοιχεία ελέγχου που ρυθμίζουν τη γονιδιακή έκφραση και τον πολλαπλασιασμό του HBV. Το γονιδίωμα, λοιπόν, του HBV βρίσκεται υπό συνεχή μεταβολή και εξέλιξη που έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία μιας μεγάλης ποικιλίας διακριτών πληθυσμών, γονότυπων, σχεδόν ειδών και μεταλλαγμένων στελεχών του ιού. Μεταλλαγμένα στελέχη του HBV μπορεί να παρουσιάζουν: αυξημένη λοιμογόνο δράση, βελτιωμένη προσκόλληση και διείσδυση στα

ηπατοκύτταρα, κυτταροπαθογόνο δράση, εντονότερη αναπαραγωγή, διαφορετική κλινική εξέλιξη, ανοσολογική διαφυγή, διαφορετική ανταπόκριση στην θεραπεία με α-ιντερφερόνη και αντίσταση στη θεραπεία με νουκλεοσιδικά ανάλογα (263).

#### *- Προπυρηνική περιοχή*

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). Η σημειακή αυτή μεταλλαγή έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία κωδικονίου λήξης και επομένως τη διακοπή της μετάφρασης και έκκρισης της πρωτεΐνης e (264). Η HBeAg-αρνητική χρόνια ηπατίτιδα Β έχει συσχετιστεί με δυσμενή πορεία και έκβαση της νόσου προς κίρρωση ήπατος, ανάπτυξη ηπατοκυτταρικού καρκινώματος, αλλά και φτωχή ανταπόκριση στη θεραπεία με α-ιντερφερόνη (265). Στην Ελλάδα το 90% των χρόνιων λοιμώξεων από τον HBV οφείλονται στον προπυρηνικά μεταλλαγμένο ιό. Η ανάπτυξη της μεταλλαγής αυτής φαίνεται να περιορίζεται από το γονότυπο του ιού. Η ύπαρξη θυμιδίνης στη θέση 1958 στους γονότυπους B, C, D και E επιτρέπει τη μεταλλαγή της γουανιδίνης σε αδενίνη, ενώ η ύπαρξη κυτιδίνης σε αυτή τη θέση λειτουργεί απαγορευτικά στους γονότυπους A

και F (266). 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 αντι-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 (αντι-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 (267).

Σύμφωνα με τα σημερινά δεδομένα φαίνεται ότι από μόνη της η προπυρηνική μεταλλαγή στη θέση 1896 δεν είναι καθοριστική για την πορεία και την έκβαση της χρόνιας HBV λοίμωξης και ότι άλλες επιπλέον μεταλλαγές απαιτούνται για την αύξηση της παθογένειας του ιού και την εκδήλωση της ηπατικής νόσου.

#### *- Η πυρηνική πρωτεΐνη*

Κατά τη φάση της ορομετατροπής από HBeAg σε αντι-HBe, παράλληλα με την επιλογή προπυρηνικά μεταλλαγμένων στελεχών παρατηρείται και μια έκρηξη σημειακών μεταλλαγών στο core γονίδιο της πυρηνικής πρωτεΐνης του ιού (268). Σε ασθενείς με χρόνια λοίμωξη έχει παρατηρηθεί σημαντική ετερογένεια στην αλληλουχία της core περιοχής σε επίπεδο σχεδών-ειδών η οποία σχετίζεται με την ύπαρξη ενεργού νόσου και κακή ανταπόκριση στη θεραπεία με α-ιντερφερόνη. Πιθανόν να κυριαρχούν, για να ξεφύγει ο ιός από την ανοσολογική κάθαρση, καθώς στη φάση αυτή η

πυρηνική περιοχή είναι ο κύριος στόχος των T-κυτταροτοξικών λεμφοκυττάρων (269,270).

- Ο προαγωγέας του πυρηνικού γονιδίου (*core promoter*)

Η συχνότερη μεταλλαγή του προαγωγέα του πυρηνικού γονιδίου είναι μια διπλή σημειακή μεταλλαγή στις θέσεις 1762 και 1764. In vitro μελέτες έχουν δείξει ότι η μεταλλαγή αυτή διαταράσσει την ισορροπία σύνθεσης των δυο μορίων RNA (προγονιδιακού και προπυρηνικού RNA) και πιθανώς ενεργεί ελαττώνοντας τα επίπεδα του *precore mRNA* και μειώνοντας την έκφραση του HBeAg αντιγόνου (271,272). Η εμφάνιση της διπλής αυτής μεταλλαγής σε προπυρηνικά μεταλλαγμένα στελέχη, που ούτως ή άλλως δεν παράγουν HBeAg, υποδηλώνει ότι οι μεταλλαγές αυτές προσφέρουν κάποιο επιπλέον πλεονέκτημα στον ιό, πιθανόν στο επίπεδο της αναπαραγωγής. Σύμφωνα με το σύνολο των μελετών, οι μεταλλαγές αυτές εμφανίζονται σε HBeAg θετικούς και αρνητικούς ασθενείς με ενεργό νόσο, σχετίζονται με χρόνια ηπατίτιδα και ηπατοκυτταρικό καρκίνο ανεξάρτητα από την προπυρηνική μεταλλαγή, καταστέλλουν τη σύνθεση του *precore mRNA* in vitro και in vivo και διαφέρουν λειτουργικά από την προπυρηνική μεταλλαγή 1896A προσφέροντας κάποιο επιπλέον πλεονέκτημα στα μεταλλαγμένα στελέχη πιθανώς με τη βελτίωση της αναπαραγωγικής ικανότητας του HBV ή την αλλαγή στη δέσμευση παραγόντων μεταγραφής, επιτρέποντας αναπαραγωγή σε συνθήκες ηπατικής βλάβης ή ακόμα και εξω-ηπατικά.

### - Το γονίδιο X

Λόγω της αλληλοεπικάλυψης του προαγωγέα της core περιοχής (core promoter) με το ρυθμιστικό γονίδιο X του HBV, μεταλλαγές στον προαγωγέα συχνά επηρεάζουν τη δομή και πιθανώς τη δράση της πρωτεΐνης X. Αν και ο ακριβής ρόλος της πρωτεΐνης αυτής στην αναπαραγωγή του HBV παραμένει αδιευκρίνιστος έχειδειχθεί ότι η πρωτεΐνη X: ενεργοποιεί ποικιλία από κυτταρικούς και ιολογικούς προαγωγείς με τη διέγερση βιοχημικών οδών μεταβίβασης σήματος (273) και ίσως να απαιτείται για τη ρύθμιση της μεταγραφής του precore και pgRNA. Η έκφραση της πρωτεΐνης X αναστέλλει την καρκινική εξαλλαγή και διεγείρει την απόπτωση. Οι μεταλλαγές της X έχουν συσχετιστεί με χρόνια ηπατίτιδα και ειδικότερα με την ανάπτυξη ηπατοκυτταρικού καρκινώματος. Πρόσφατα δείχθηκε ότι σημειακές μεταλλαγές στην X ακυρώνουν την ανασταλτική δράση της φυσιολογικής πρωτεΐνης και πιθανόν παίζουν ρόλο στην καρκινογένεση (274). Ελλείψεις τμημάτων της X έχουν παρατηρηθεί σε ευρύ φάσμα ασθενών και σχετίζονται με χαμηλά επίπεδα HBV-DNA (275-277). Είναι πιθανό ότι οι μεταλλαγές αυτές, καταστέλλοντας την αναπαραγωγή του HBV και χαμηλώνοντας τα επίπεδα ιαίμας, επιτρέπουν ανοσοδιαφυγή και συμβάλλουν στην εμμονή του ιού.

### - Το γονίδιο της πρωτεΐνης S

Μεταλλαγές στην πρωτεΐνη του περιβλήματος προ-S1/S2, έχουν περιγραφεί, αλλά η σημασία τους δεν είναι ακόμα ξεκάθαρη (278-280). Μεταλλαγές στο HBsAg ευθύνονται για το παράδοξο πρότυπο ορισμένων ασθενών με χρόνια λοίμωξη από τον HBV. Οι ασθενείς αυτοί είναι HBsAg και



αντι-HBs θετικοί. Στις περιπτώσεις αυτές τα αντι-HBs αντισώματα είναι ετεροτυπικά από προηγούμενη λοίμωξη. Οι μεταλλαγές στο γονίδιο επιφάνειας S έχουν ιδιαίτερη κλινική σημασία στη διάγνωση, προφύλαξη και θεραπεία της HBV λοίμωξης. Το ενδιαφέρον επικεντρώνεται στον α-αντιγονικό καθοριστή στην κύρια υδροφιλική περιοχή της πρωτεΐνης S. Μεταλλαγές στην περιοχή αυτή μειώνουν σημαντικά τη δράση αντι-HBs αντισωμάτων και μεταλλαγμένα στελέχη δεν αναγνωρίζονται από το ανοσολογικό σύστημα. Στελέχη ανοσοδιαφυγής ανιχνεύονται συχνά σε μεταμοσχευθέντες ασθενείς στους οποίους χορηγείται αντι-HBs ανοσοσφαιρίνη για πρόληψη υποτροπής της μόλυνσης στο ηπατικό μόσχευμα (281,282). Επίσης, το 2-3% των νεογνών από αντι-HBs θετικές μητέρες παρουσιάζουν μεταλλαγές στον α-καθοριστή και μπορεί να αναπτύσουν χρόνια λοίμωξη από μεταλλαγμένα στελέχη (283). Οι λοιμώξεις αυτές οφείλονται σε HBV με σημειακή μεταλλαγή στη θέση του νουκλεοτιδίου 587 (AGA-γουανίνη σε GGA-αδερίνη), 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 αντι-HBs και τα συνήθη μονοκλωνικά αντισώματα (283,284).

#### *- Η πολυμεράση*

Μεταλλαγές στο γονίδιο της πολυμεράσης P εμφανίζονται κατά τη διάρκεια αντι-ιικής θεραπείας με νουκλεοσιδικά ανάλογα όπως η λαμβουδίνη με αποτέλεσμα την εμφάνιση αντίστασης στην αγωγή. Το γεγονός αυτό έχει αποδοθεί σε 2 τύπους μεταλλαγών στην περιοχή C της πολυμεράσης του ιού, στην ακολουθία YMDD (τυροσίνη – μεθειονίνη – ασπαρτικό – ασπαρτικό) (285,286), όπου συμβαίνει αντικατάσταση της μεθειονίνης από βαλίνη ή

ισολευκίνη. Εμφανίζεται συνήθως σε ανοσοκατασταλμένους ασθενείς λόγω αυξημένου πολλαπλασιασμού, η δε κλινική σημασία του φαινομένου δεν είναι απόλυτα γνωστή (287,288). 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.

### 3.3. ΟΙ ΓΟΝΟΤΥΠΟΙ ΤΟΥ HBV

Ως γονότυποι ορίζονται τα στελέχη του HBV που εμφανίζουν διαφορές στην αλληλουχία τους (289)

- > 8% κατά την ανάλυση όλου του γονιδιώματος, ή
- > 4% στην S περιοχή

Ο ιός HBV διακρίνεται σε 8 γονότυπους A-G (289-291). Ετερογένεια δεν εμφανίζεται μόνο μεταξύ διαφορετικών γονοτύπων, αλλά και μεταξύ στελεχών που ανήκουν στον ίδιο γονότυπο, γι αυτό και από μελέτες αναλύσεως των επιμέρους στοιχείων του γονιδιώματος προκύπτει ότι η S περιοχή μπορεί πιο αξιόπιστα, σε σχέση με άλλες περιοχές του HBV, να καθορίσει τους γονότυπους του ιού (289). Με βάση, επίσης, την αλληλουχία της S περιοχής και ειδικότερα της περιοχής α και των αμινοξέων, ο HBV διαιρείται σε 9 υπότυπους ayw1, ayw2, ayw3, ayw4, adw2, adw4, ayr, adrq-, adrq+ (289,292). Υπάρχει χαρακτηριστική αντιστοιχία μεταξύ γονοτύπων και υποτύπων (Πίνακας 7) (291). Οι γονότυποι έχουν χαρακτηριστική γεωγραφική κατανομή (Χάρτης 3).

**Χάρτης 3.** Γεωγραφική κατανομή των γονοτύπων του HBV



Αν και οι γονότυποι του HBV είναι γνωστοί από πολλά έτη, η κλινική τους σημασία δεν έχει διευκρινιστεί επαρκώς και ο ρόλος στην κλινική έκβαση της νόσου και στην ανταπόκριση στη θεραπεία παραμένει ακόμα ασαφής. Σε ορισμένες μελέτες έχει δειχθεί ότι λοίμωξη με ορισμένους γονοτύπους συσχετίζεται πιο συχνά με οξεία ηπατίτιδα παρά με χρόνια νόσο. Στην Ιαπωνία μελετήθηκε η κατανομή γονοτύπων σε ασθενείς με χρόνια λοίμωξη από τον HBV καθώς και σε ασθενείς με οξεία ηπατίτιδα Β και/ή κεραυνοβόλο ηπατική ανεπάρκεια. Βρέθηκε ότι, ενώ σε όλες τις ομάδες ασθενών επικρατούσε ο γονότυπος C, στην οξεία λοίμωξη από τον HBV

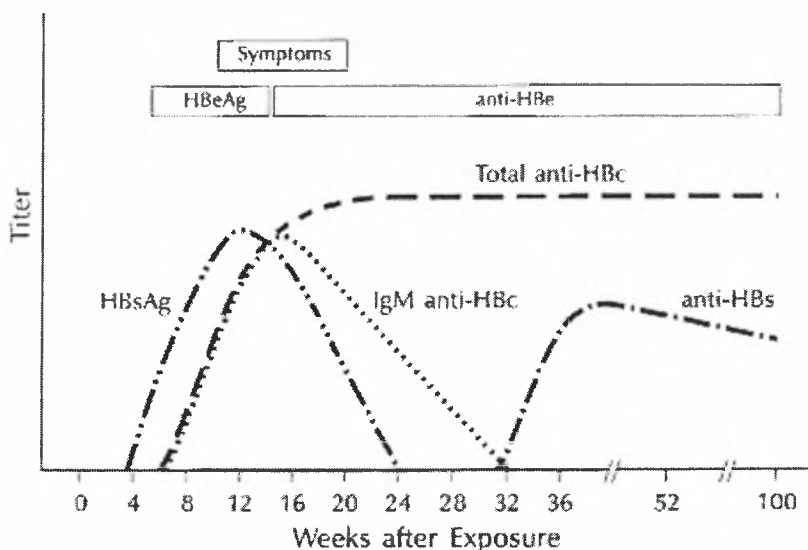
**Πίνακας 7.** Αντιστοιχία μεταξύ γονοτύπων και υποτύπων του HBV

Γονότυποι	A	B	C	D	E	F	G	H
Υπότυποι	adw2	adw2	adr	ayw2	ayw4	adw4q-	adw2	adw2
	ayw1	ayw1	adrq-	ayw3	adw2			
		ayr	ayw4					

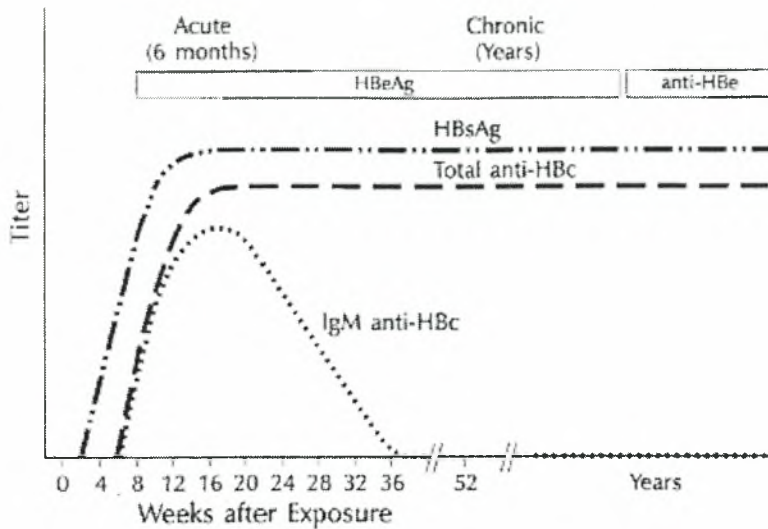
κυρίως στην κεραυνοβόλο ηπατίτιδα Β το ποσοστό του γονοτύπου Β ήταν σημαντικά αυξημένο (24% και 30% αντίστοιχα) (293). Στην χρόνια δε ηπατοπάθεια Β η συχνότητα του γονοτύπου Β ήταν μόνο 9%. Σε άλλη μελέτη από τη Σουηδία, διατυπώθηκε συσχέτιση του γονοτύπου Α με τη χρόνια λοίμωξη από τον HBV και του γονοτύπου D με την οξεία αυτοπεριοριζόμενη ηπατίτιδα Β (294). Στη Ρωσία έχει αναφερθεί ότι κύριο αίτιο κεραυνοβόλου ηπατίτιδας είναι η συν-λοίμωξη από τον HBV και τον HDV, αλλά και η λοίμωξη από τον HBV με γονότυπο D (295). Ενδιαφέρον παρουσιάζουν, επίσης, τα αντικρουόμενα ευρήματα από διάφορες μελέτες όσον αφορά στη συσχέτιση των γονοτύπων με τη νεκροφλεγμονώδη δραστηριότητα (296), την ανάπτυξη ηπατοκυτταρικού καρκινώματος (297-299) και την ανταπόκριση στη θεραπεία με λαμβουδίνη (300,301).

#### 4. ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΤΗΣ ΛΟΙΜΩΞΗΣ ΑΠΟ ΤΟΝ HBV

Η διάγνωση και παρακολούθηση ασθενών με οξεία ή χρόνια λοίμωξη από τον HBV στηρίζεται παραδοσιακά στην ανίχνευση στον ορό ειδικών αντιγόνων του ιού καθώς και αντισωμάτων που αναγνωρίζουν συγκεκριμένες πρωτεΐνες του ιού (ορολογικοί δείκτες) (302,303) (Σχήμα 8,9). Οι νεώτερες τεχνικές μέτρησης του HBV-DNA με μεθόδους όπως η PCR ή το bDNA παρέχουν επιπλέον στον κλινικό ιατρό τη δυνατότητα προσδιορισμού ακόμα και ελάχιστης ποσότητας κυκλοφορούντων σωματιδίων του ιού (193). Οι παρακάτω ορολογικοί και ιολογικοί δείκτες χρησιμοποιούνται για την εκτίμηση των διαφόρων σταδίων της νόσου:



Σχήμα 8. Οι ορολογικοί δείκτες στην οξεία λοίμωξη από τον HBV.



**Σχήμα 9.** Οι ορολογικοί δείκτες στη χρόνια λοίμωξη από τον HBV.

α) Το HBsAg: Το αντιγόνο επιφανείας αποτελεί τον πιο σημαντικό ορολογικό δείκτη που πιστοποιεί την παρουσία της λοίμωξης από τον HBV (οξείας ή χρόνιας) (302). Η πρωτεΐνη S ανευρίσκεται στον ορό σε 3 μορφές i) ως σωματίδια Dane (λοιμογόνα ιικά σωματίδια) διαμέτρου 42 nm, ii) ως τμήμα μη λοιμογόνων σφαιρικών σωματιδίων και iii) ως σωληνοειδείς σχηματισμοί (μεγέθους 20-22 nm) (304). Η συγκέντρωση του HBsAg στο ορό κυμαίνεται μεταξύ 50 και 300 µg/ml (193). Οι τεχνικές ανίχνευσής του περιλαμβάνουν ανοσοενζυμικές ή ραδιοανοσομετρικές μεθόδους που έχουν πολύ μεγάλη ευαισθησία (χαμηλότερα επίπεδα ανίχνευσης: 0.02-1 ng/ml). Η ανίχνευση του HBsAg στον ορό αποτελεί ένα εξαιρετικά ευαίσθητο δείκτη για λοίμωξη από τον HBV και εμφανίζεται 1-10 εβδομάδες μετά από την έκθεση του ατόμου στον ιό και πριν την αύξηση των αμινοτρανσφερασών. Επιτυχής ανοσολογική απάντηση του ξενιστή μετά από την αρχική έκθεση στον ιό, συνοδεύεται από σταδιακή μείωση των επιπέδων της ιαιμίας και τελικά κάθαρση του ιού που συνοδεύεται από εξαφάνιση του HBsAg στον ορό. Σε περιπτώσεις ανάπτυξης

χρόνιας λοίμωξης από τον HBV, το HBsAg ανιχνεύεται σταθερά στον ορό των ασθενών. Πρέπει να σημειωθεί, όμως, ότι η απουσία του HBsAg δεν αποκλείει την οξεία ηπατίτιδα Β, γιατί μπορεί:

- 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 κρυσφαιριναιμίας).
- 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 Β (15-20% των περιπτώσεων κεραυνοβόλου ηπατίτιδας Β 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 αντι-HBc.

β) Τα αντι-HBs: Η εμφάνιση αντι-HBs αντισωμάτων υποδηλώνει την ανάπτυξη ανοσίας έναντι του HBV είτε μετά από φυσική λοίμωξη από τον ιό είτε μετά από την χορήγηση εμβολίου έναντι του HBV (302,303). Μετά από οξεία λοίμωξη, τα αντισώματα αναπτύσσονται μετά την εξαφάνιση του HBsAg από την κυκλοφορία ενώ σε ορισμένες περιπτώσεις μεσολαβεί μια χρονική περίοδος μεταξύ της εξαφάνισης του HBsAg και της εμφάνισης των αντι-HBs

αντισωμάτων (περίοδος παραθύρου). Σε ένα σημαντικό ποσοστό ασθενών με χρόνια λοίμωξη από τον HBV (20-40%), αντι-HBs αντισώματα μπορεί να συνυπάρχουν με το HBsAg (305). Η παρουσία HBsAg/αντι-HBs ανοσοσυμπλεγμάτων ή η κυκλοφορία μη προστατευτικών αντι-HBs αντισωμάτων που στρέφονται έναντι διαφορετικών επιτόπων του HBsAg ίσως εξηγεί αυτό το φαινόμενο του οποίου η κλινική σημασία παραμένει άγνωστη. Τα αντι-HBs αντισώματα ανιχνεύονται κυρίως με ανοσοενζυμικές και ραδιοανοσολογικές μεθόδους. Τα επίπεδα των αντι-HBs αντισωμάτων στον ορό εκφράζονται σε mIU/ml και θεωρείται ότι επίπεδα > 10 mIU/ml εξασφαλίζουν πλήρη ανοσία έναντι του HBV μετά από φυσική λοίμωξη ή εμβολιασμό.

γ) Το HBeAg: Ανιχνεύεται με ανοσοενζυμικές ή ραδιοανοσομετρικές μεθόδους σχεδόν ταυτόχρονα με την ανίχνευση του HBsAg και θεωρείται δείκτης πολλαπλασιασμού του ιού (302,303). Η παρουσία του συνεπάγεται μεγάλη μολυσματικότητα και σχετίζεται με την ανίχνευση του HBV-DNA και ενεργό ηπατική νόσο. Η ορομετατροπή του HBeAg σε αντι-HBe συμβαδίζει με τη σημαντική μείωση και/ή εξαφάνιση του HBV-DNA και τον αυτοπεριορισμό της οξείας νόσου, ή ύφεση της χρόνιας νόσου, εκτός από τις περιπτώσεις χρόνιας νόσου από το προπυρηνικό μεταλλαγμένο στέλεχος.

δ) Τα αντι-HBe: Η εμφάνιση αντισωμάτων έναντι της πρωτεΐνης e στον ορό ασθενών σηματοδοτεί την έναρξη της ανοσολογικής απάντησης έναντι του HBeAg (194,265). Σε ασθενείς με οξεία ηπατίτιδα Β, τα αντι-HBe αντισώματα εμφανίζονται αρκετά νωρίς στην κυκλοφορία, σε αρκετές περιπτώσεις πριν την εξαφάνιση του HBsAg. Σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα Β, τα αντι-HBe αντισώματα εμφανίζονται σταδιακά στη φάση της ορομετατροπής και σε



αρκετές περιπτώσεις ανιχνεύονται σε συνδυασμό με το ΗΒεΑg. Η επικράτηση των αντι-ΗΒε αντισωμάτων σε ασθενείς με χρόνια λοίμωξη από τον ΗΒV συνοδεύεται στη μεγάλη πλειοψηφία των ασθενών με απουσία σημαντικής ηπατικής φλεγμονής και φυσιολογικές τιμές ALT και ΗΒV-DNA (194,265). Σε ένα ποσοστό ασθενών που κυμαίνεται μεταξύ 15-30%, αναπτύσσεται χρόνια ηπατίτιδα παρουσία των αντι-ΗΒε αντισωμάτων (ΗΒεΑg αρνητική χρόνια ηπατίτιδα Β) (265). Η σταδιακή επικράτηση αναπαραγόμενων μεταλλαγμένων στελεχών που είτε δεν παράγουν ή παράγουν μειωμένες ποσότητες ΗΒεΑg, ενοχοποιούνται για αυτή τη μορφή χρόνιας ηπατικής φλεγμονής (265).

ε) Το ΗΒcΑg: Δεν ανιχνεύεται στον ορό. Αποτελεί ένα ενδοκυττάριο αντιγόνο που ανιχνεύεται μόνο στα ηπατοκύτταρα (επιφάνεια, πρωτόπλασμα ή πυρήνα των ηπατοκυττάρων) με τη βοήθεια της ανοσοϊστοχημείας ή του ανοσοφθορισμού και αποτελεί δείκτη ενεργού ιικού πολλαπλασιασμού.

στ) Τα αντι-ΗΒc (Ολικό και IgM): Ολικά αντισώματα (αντι-ΗΒc) έναντι του πυρηνοκαψιδίου του ιού (ΗΒcΑg) εμφανίζονται σχεδόν ταυτόχρονα με το ΗΒsΑg κατά την οξεία λοίμωξη από τον ΗΒV και παραμένουν συνήθως θετικά για την υπόλοιπη ζωή του ασθενούς, ανεξάρτητα από την έκβαση της αρχικής λοίμωξης (κάθαρση του ιού ή χρόνια λοίμωξη) (302,303). Η ανίχνευση αντι-ΗΒc στον ορό αποτελεί ένα σημαντικό ορολογικό δείκτη για τη διάγνωση ενεργού ή παλαιάς λοίμωξης από τον ΗΒV. Στα αρχικά στάδια της οξείας λοίμωξης, εμφανίζονται αντι-ΗΒc αντισώματα κλάσης IgM (IgM αντι-ΗΒc) τα οποία και παραμένουν σε υψηλούς τίτλους για 3-12 μήνες σε αυτοπεριοριζόμενη λοίμωξη (302,303). Κατά την περίοδο του «παραθύρου» (core window) η παρουσία IgM αντι-ΗΒc αντισωμάτων σε υψηλούς τίτλους αποτελεί τη μόνη ορολογική ένδειξη πρόσφατης οξείας ηπατίτιδας Β ενώ η

απουσία υψηλού τίτλου IgM αντι-HBc μάλλον αποκλείει την πιθανότητα οξείας ηπατίτιδας Β. Στο φαινόμενο αυτό οφείλονται σήμερα οι περισσότερες οξείες μετα-μετάγχιση ηπατίτιδες Β, αφού αντίθετα με τις Η.Π.Α. στα τμήματα αιμοδοσίας της Ευρώπης δε γίνεται έλεγχος των αιμοδοτών για το αντι-HBc.

Σε ασθενείς με χρόνια λοίμωξη από τον HBV, τα επίπεδα IgM αντι-HBc μπορεί να παραμένουν ανιχνεύσιμα παρουσιάζοντας σημαντικές διακυμάνσεις ανάλογα με την ενεργότητα της νόσου (265). Έτσι, σε ασθενείς με σταθερά φυσιολογικές τιμές ALT («ανενεργοί φορείς»), τα επίπεδα του IgM αντι-HBc διατηρούνται χαμηλά ή είναι μη ανιχνεύσιμα ενώ αντίθετα σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα Β οι τιμές του IgM αντι-HBc αυξομειώνονται ανάλογα με την ενεργότητα της νόσου, φθάνοντας σε ορισμένες περιπτώσεις τιμές ανάλογες με αυτές της οξείας ηπατίτιδας Β (306,307).

ζ) Το HBV-DNA: Στην καθημερινή κλινική πρακτική τρεις είναι οι συνήθεις μέθοδοι που μπορεί να προσδιορισθεί (308,309): 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 bDNA (π.χ. Versant™ HBV DNA, HBV Quantiplex™, Chiron Diagnostics, Emeryville, CA) και γ) με PCR ή με PCR αληθινού χρόνου (π.χ. HBV Monitor™, Roche Molecular Diagnostics, Branchburg, NJ, πρωτόκολλα in-house PCR) (308,309).

Το HBV DNA ανιχνεύεται στην αρχική φάση της οξείας λοίμωξης, (περίπου 1 εβδομάδα μετά την ανίχνευση του 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 επερχόμενης ανάρρωσης από οξεία λοίμωξη (310,311).

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. Η μέθοδος bDNA φαίνεται να παρουσιάζει μεγαλύτερη ευαισθησία σε σχέση με τις μεθόδους υβριδισμού (312-314). Λιγότερα συγκριτικά δεδομένα είναι διαθέσιμα για την τυποποιημένη δοκιμασία HBV-DNA με PCR.

Πρόσφατα, αναπτύχθηκε τροποποίηση του πρωτοκόλλου για τον ποσοτικό προσδιορισμό του HBV-DNA με τη μέθοδο PCR. Αναλυτικότερα, 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 (315). Τέλος, πολύ πρόσφατα αναπτύχθηκε δοκιμασία που ονομάζεται PCR «πραγματικού χρόνου» (real-time PCR, RLT-PCR) όπου το αποτέλεσμα προσδιορίζεται κατά τη διάρκεια της αντίδρασης και όχι στο τέλος της αντίδρασης όπως γίνεται στις συμβατικές-απλές 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  $10\text{-log}_{10}$  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 (316).

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-ϊική αγωγή και των ασθενών που έχουν μεταμοσχευθεί ή είναι ανοσοκατασταλμένοι και αδυνατούν να παράγουν αντισώματα.

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 επίσης υψηλή ειδικότητα και ευαισθησία.

## 5. ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ Β

### 5.1. ΟΞΕΙΑ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ Β

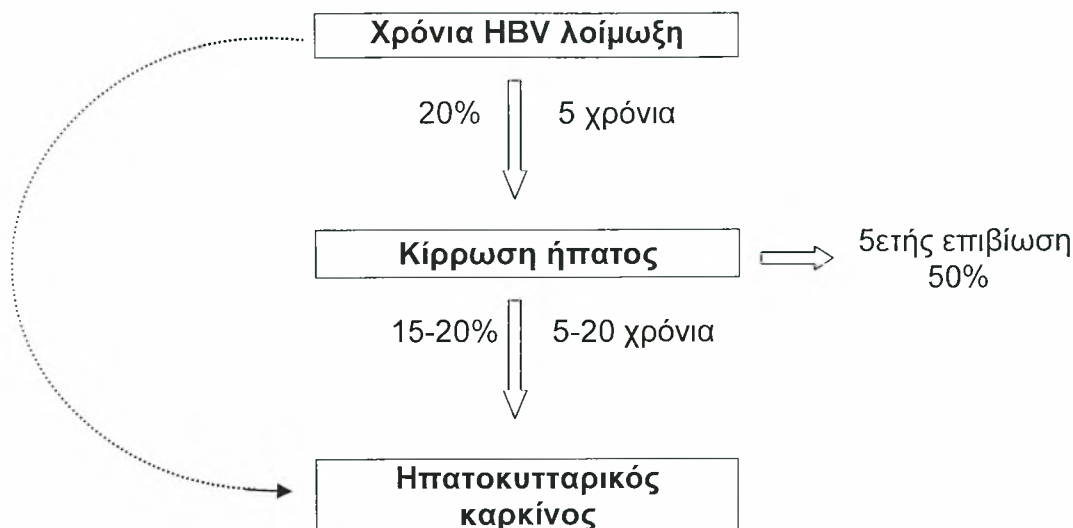
Ο χρόνος επώασης από την μόλυνση έως την εκδήλωση της οξείας λοίμωξης είναι 28-180 ημέρες. Η συνηθέστερη μορφή οξείας ηπατίτιδας Β είναι η ασυμπτωματική και η υποκλινική (70-80% των περιπτώσεων), ενώ η κεραυνοβόλος ηπατίτιδα με ποσοστό θνητότητας 63-93% συμβαίνει στο 1% των ασθενών. Η ανάπτυξη κλινικών εκδηλώσεων εξαρτάται σημαντικά από την ηλικία του ασθενούς. Έτσι, τα νεογέννητα είναι συνήθως εντελώς ασυμπτωματικά, ενώ τυπική νόσος εκδηλώνεται μόνο στο 5-15% των παιδιών ηλικίας 1-5 ετών (317). Τα κυριότερα συμπτώματα και σημεία της οξείας ηπατίτιδας Β περιλαμβάνουν πυρετό, ανορεξία, ναυτία, εμέτους, αδυναμία, ίκτερο, κοιλιακό άλγος, υπέρχρωση ούρων. Οι εξωηπατικές εκδηλώσεις όπως εξάνθημα, αρθραλγίες, αρθρίτιδα εμφανίζονται πολύ σπανιότερα. Η ανάρρωση από την οξεία λοίμωξη εξαρτάται από τη λειτουργική επάρκεια του ανοσολογικού συστήματος του ξενιστή. Η ισχυρότερη ανοσολογική απάντηση σχετίζεται με σοβαρότερη κλινική εικόνα, 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 (-) 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 (215).

## 5.2. ΧΡΟΝΙΑ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ Β

Ως χρόνια ηπατίτιδα Β χαρακτηρίζεται η χρόνια, άλλοτε άλλης βαρύτητας νεκροφλεγμονώδης ηπατική νόσος που συνοδεύεται από την παρουσία του HBsAg για χρονικό διάστημα μεγαλύτερο των 6 μηνών στον ορό των ασθενών. Στην πλειοψηφία των περιπτώσεων η χρόνια λοίμωξη από τον HBV διαδράμει υποκλινικά ή εντελώς ασυμπτωματικά και διαπιστώνεται σε τυχαίο εργαστηριακό έλεγχο, ενώ σε άλλους ασθενείς εκδηλώνεται κλινικά για πρώτη φορά όταν έχει ήδη προχωρήσει στο στάδιο της κίρρωσης και/ή της ανάπτυξης ηπατοκυτταρικού καρκινώματος, με τις επιπλοκές της χρόνιας ηπατικής ανεπάρκειας και της πυλαίας υπέρτασης. Η χρόνια ηπατίτιδα Β μπορεί να εκδηλωθεί, επίσης, με μη ειδικά γενικά συμπτώματα, όπως κόπωση, αδυναμία, αρθραλγίες και εμφάνιση εξανθημάτων (συνηθέστερα στις γυναίκες). Ένα μικρό ποσοστό ασθενών μπορεί να διαγνωσθεί με αφορμή κάποια από τις εξωηπατικές εκδηλώσεις του ιού και ιδιαίτερα της οζώδους πολυαρθρίτιδας ή της μεμβρανώδους σπειραματονεφρίτιδας.

Στην πενταετία, ένα σημαντικό ποσοστό των ασθενών θα αναπτύξει κίρρωση και τα επακόλουθα αυτής (πυλαία υπέρταση, ασκίτης, σπληνομεγαλία με ή χωρίς υπερσπληνικές εκδηλώσεις, κίρσοι οισοφάγου), ενώ το 15-20% των κίρρωτικών θα αναπτύξουν ηπατοκυτταρικό καρκίνο σε άλλοτε άλλο χρονικό διάστημα (Σχήμα 10).



**Σχήμα 10.** Κλινική εξέλιξη της χρόνιας λοίμωξης από τον HBV.

Η χρόνια λοίμωξη από τον HBV διακρίνεται, σήμερα, σε 3 κύριες φάσεις, ενώ στις Μεσογειακές χώρες διακρίνεται, επιπλέον, μια τέταρτη φάση που οφείλεται στην επικράτηση μεταλλαγμένου στελέχους του ιού (Σχήμα 11):

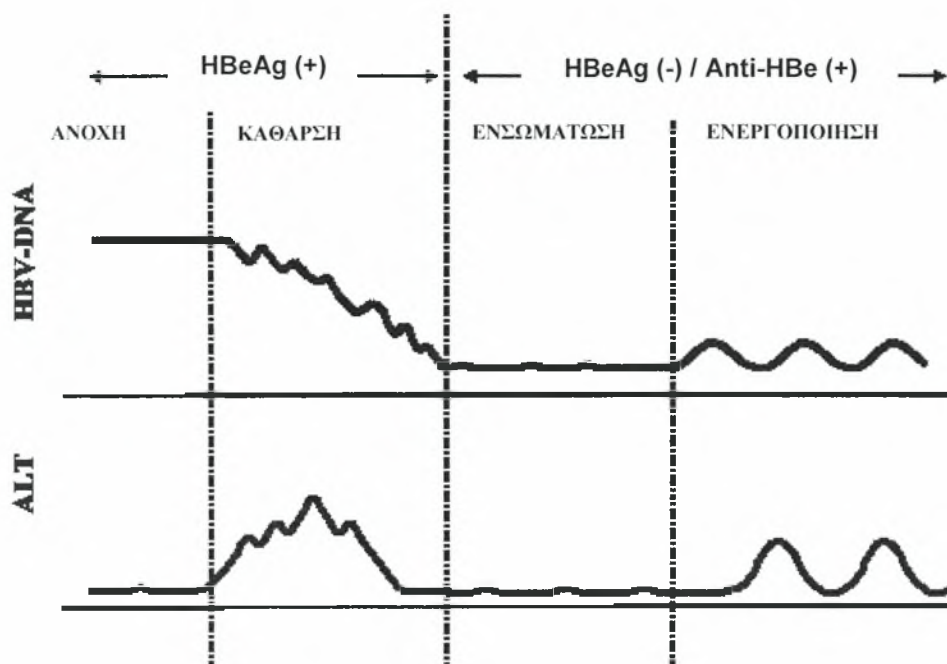
Η αρχική φάση της **ανοσολογικής ανοχής** χαρακτηρίζεται από έντονο ιικό πολλαπλασιασμό με υψηλά επίπεδα HBV-DNA, παρουσία του HBeAg στον ορό με απουσία σημαντικής ανοσολογικής απόκρισης του ξενιστή και φυσιολογικές τιμές αμινοτρανσφερασών. Το ποσοστό αυτόματης κάθαρσης του HBeAg στη φάση αυτή είναι πολύ μικρό και εκτιμάται στο 2% για τα πρώτα 3 έτη της λοίμωξης και < 15% μετά την πάροδο 20 ετών (318). Το HBcAg ανιχνεύεται ανοσοϊστοχημικά στον πυρήνα μεγάλου αριθμού ηπατοκυττάρων, ενώ ιστολογικώς διακρίνονται ήπιες φλεγμονώδεις αλλοιώσεις στο ήπαρ. Σε άτομα που μολύνονται περιγεννητικά ή στα πρώτα χρόνια της ζωής η φάση ανοχής μπορεί να διαρκέσει αρκετά έτη, ενώ στους ενήλικες διαρκεί συνήθως λίγες εβδομάδες (194,318,319).

Η φάση της **ανοσολογικής κάθαρσης ή ορομετατροπής** χαρακτηρίζεται από την έντονη ανοσιακή απάντηση του ξενιστή έναντι του αναπαραγόμενου ιού στο ήπαρ (194,320). Το αποτέλεσμα της έκδηλης αυτής ανοσιακής απάντησης είναι η πρόκληση φλεγμονώδους βλάβης στο ήπαρ, με αύξηση των επιπέδων των αμινοτρανσφερασών και του αντι-HBc IgM σε επίπεδα, παρόμοια ακόμα, με εκείνα που παρατηρούνται σε περιπτώσεις οξείας ηπατίτιδας Β. Τα επίπεδα του HBV-DNA παρουσιάζουν διακυμάνσεις με προοδευτική, όμως, πτώση. Το HBcAg ανιχνεύεται τόσο στον πυρήνα όσο και στο κυτταρόπλασμα των ηπατοκυττάρων (319,321). Η έντονη ανοσιακή απάντηση του ξενιστή συνοδεύεται από εξαφάνιση του HBeAg και εμφάνιση αντι-HBe αντισωμάτων σε ποσοστό 10-20% ανά έτος (ορομετατροπή) (320). Σε ένα ποσοστό ασθενών, η φάση της ανοσολογικής κάθαρσης μπορεί να διαρκέσει πολλά έτη, χωρίς να επιτυγχάνεται η απώλεια του HBeAg (χρόνια HBeAg-θετική ηπατίτιδα Β) και έχει ως αποτέλεσμα την ανάπτυξη χρόνιας ηπατικής φλεγμονής και πρώιμης ανάπτυξης κίρρωσης ή ηπατοκυτταρικού καρκινώματος (318).

Στη φάση της **ενσωμάτωσης** ο ιός είναι πλέον ενσωματωμένος στο γενετικό υλικό των χρωμοσωμάτων των ηπατοκυττάρων του ξενιστή. Πρόκειται για μια ήρεμη, μη παραγωγική, μακροχρόνια φάση και χαρακτηρίζεται από την παρουσία του αντι-HBe στον ορό, ενώ το HBcAg και το HBV-DNA συνήθως δεν ανιχνεύονται. Οι αμινοτρανφεράσες βρίσκονται σε χαμηλά ή φυσιολογικά επίπεδα, ενώ στο ήπαρ διαπιστώνονται ήπιες μη ειδικές αλλοιώσεις, χωρίς να αποκλείεται η παρουσία κίρρωσης που έχει ήδη αναπτυχθεί από την προηγούμενη φάση της ορομετατροπής (319). Χαρακτηριστικό ιστολογικό εύρημα στη φάση αυτή είναι η παρουσία των



χαρακτηριστικών «ground glass» ηπατοκυττάρων ή κυττάρων «Χατζηγιάννη» που χαρακτηρίζονται από πρωτόπλασμα πλούσιο σε πρωτεΐνες επιφανείας, μεμονωμένων ή κατά σωρούς σε περιοχές του ηπατικού ιστού με ελάχιστα φλεγμονώδη στοιχεία (319).



Σχήμα 11. Φυσική ιστορία (φάσεις) της χρόνιας ηπατίτιδας Β.

Η αντι-HBe θετική φάση μπορεί να διαρκέσει για πολλά έτη, χωρίς σημαντικό ιικό πολλαπλασιασμό ή ηπατική φλεγμονή (194,318,319). Μολονότι, θεωρείται, όμως, ανενεργή περίοδος, προσεκτική παρακολούθηση των ασθενών ανέδειξε ότι το 35-85% αυτών στις Μεσογειακές χώρες και στην Άπω Ανατολή έχουν αυξημένες αμινοτρανσφεράσες, θετικό HBV-DNA στον ορό με τη μέθοδο της κηλίδας και PCR, σχετικά υψηλά επίπεδα IgM αντι-HBc, ανοσοϊστοχημική έκφραση του HBcAg στον πυρήνα και στο πρωτόπλασμα των μολυσμένων ηπατοκυττάρων και σοβαρή, προδευτικά εξελισσόμενη ηπατοκυτταρική βλάβη με συχνή κατάληξη σε κίρρωση και ανάπτυξη ηπατοκυτταρικού καρκινώματος (322). Οι ασθενείς αυτοί ανήκουν στη φάση

της ενεργοποίησης ή επαναδραστηριοποίησης του ιού. Η ενεργός λοίμωξη από τον HBV σε HBeAg αρνητικούς, αντι-HBe θετικούς ασθενείς αποδόθηκε σε μοριακό επίπεδο στην ύπαρξη της σημειακής μεταλλαγής που προαναφέρθηκε στην προπυρηνική περιοχή (pre-core) του γονιδιώματος του ιού (βλέπε Κεφάλαιο 3.2).

### 5.3. ΛΟΙΜΩΞΗ ΑΠΟ ΤΟΝ ΙΟ ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ D (HDV)

Ο HDV είναι ένας ελλειμματικός RNA ιός (36 nm), 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 καθώς και σε μειωνοτικούς πληθυσμούς (π.χ οικονομικοί φυγάδες από τη Νότιο Αλβανία) (206,215).

Στην περίπτωση της συν-λοίμωξης από τους ιούς HBV και HDV, η οξεία ηπατίτιδα αν και βαριά συνήθως αυτοπεριορίζεται και δεν οδηγεί σε χρονιότητα (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 χρονιότητα στο 2-3%. Σε επιδημιολογικές μελέτες στον Ελληνικό χώρο αναφέρεται συνύπαρξη Β και D λοίμωξης στο 53% των περιπτώσεων κεραυνοβόλου ηπατίτιδας (323). Στην οξεία επι-λοίμωξη, η κλινική πορεία της οξείας ηπατίτιδας είναι συνήθως ήπια (σοβαρότερη στα ΗBeAg θετικά άτομα και ηπιότερη στα ΗBeAg αρνητικά) αλλά η μετάπτωση σε χρόνια ηπατίτιδα D είναι πολύ συχνότερη σε σχέση με την οξεία συν-λοίμωξη (περισσότερο από το 80% των περιπτώσεων). Η κεραυνοβόλος D ηπατίτιδα στην οξεία επι-λοίμωξη εμφανίζεται σπάνια αλλά η θνησιμότητα είναι υψηλότερη από ότι στην κεραυνοβόλο μορφή κατά την οξεία συν-λοίμωξη (215,324).

Η χρόνια λοίμωξη από τον HDV οδηγεί σε σοβαρής μορφής ηπατοπάθεια. Η νόσος εξελίσσεται συνήθως πολύ γρήγορα σε κίρρωση του ήπατος και στα επακόλουθά της καθώς η ανταπόκριση στη θεραπεία με α-ιντερφερόνη είναι μικρή ενώ συνήθως απαιτούνται μεγάλης διάρκειας θεραπείες που είναι πτωχά ανεκτές από τους ασθενείς (325,326). Η εξέλιξη είναι συνήθως τόσο γρήγορη, ώστε ο επιπολασμός του ηπατοκυτταρικού καρκινώματος να είναι πρακτικά μηδενικός, αφού οι ασθενείς καταλήγουν νωρίτερα αν δεν μεταμοσχευθούν λόγω τελικού σταδίου ηπατικής νόσου (ανθεκτικός ασκίτης, ηπατονεφρικό σύνδρομο, ηπατική εγκεφαλοπάθεια).

## 6. ΠΡΟΦΥΛΑΞΗ ΑΠΟ ΤΟΝ ΗΒV

### 6.1. ΠΑΘΗΤΙΚΗ ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΣΗ

Η παθητική ανοσοποίηση επιτυγχάνεται με τη χορήγηση ειδικής κατά του ΗΒV υπεράνοσης γ-σφαιρίνης (ΗΒΙG), η οποία περιέχει υψηλούς τίτλους αντι-ΗΒs (>1:100.000), και ακολουθείται από την έναρξη των δόσεων του εμβολίου (αν δεν έχει ήδη προηγηθεί). Η επίτευξη μέγιστου βαθμού προστασίας πραγματοποιείται, όταν η ανοσοπροφύλαξη αρχίσει εντός 12 ωρών από την πιθανή έκθεση ή τη γέννηση από θετική μητέρα. Ειδικότερα, η χορήγηση ΗΒΙG συνιστάται (193,215,327-329): i) Σε νεογνά θετικών μητέρων. Χορηγείται μία δόση 0,05ml ΗΒΙG ενδομυϊκά εντός 12 ωρών από τη γέννηση. Ο εμβολιασμός πρέπει να αρχίσει εντός 24 ωρών από τη γέννηση. ii) Μετά από διαδερμική ή βλεννογόνο έκθεση σε ΗΒsAg θετικά βιολογικά υγρά ή υλικά. Χορηγείται μία δόση 0,06 ml/kg ΗΒΙG ή 5 ml ΗΒΙG στους ενήλικες μέσα σε 24 ώρες από την έκθεση και άμεση έναρξη ταχέως σχήματος εμβολιασμού (0,1,2). iii) Μετά από σεξουαλική επαφή με ΗΒsAg θετικό άτομο. Χορηγείται μία δόση (0,06 ml/kg ΗΒΙG) σε 14 το πολύ ημέρες από την έκθεση ακολουθούμενη από ταχύ σχήμα εμβολιασμού (0,1,2).

Η ΗΒΙG χορηγείται, επίσης, σε ασθενείς που έχουν υποβληθεί σε μεταμόσχευση ήπατος λόγω τελικού σταδίου χρόνιας ηπατίτιδας Β για την προστασία από υποτροπή της λοίμωξης από τον ΗΒV στο μόσχευμα.

### 6.2. ΕΝΕΡΓΗΤΙΚΗ ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΣΗ

Η ενεργητική ανοσοποίηση επιτυγχάνεται με τον έγκαιρο και σωστό εμβολιασμό. Το πρώτο διαθέσιμο εμβόλιο κατά του ΗΒV παρασκευάστηκε από κεκαθαμένο πλάσμα φορέων το 1982 (215). Στις μέρες μας και κυρίως

στις αναπτυγμένες χώρες, το εμβόλιο αυτό αντικαταστάθηκε από άλλα παραγόμενα με γενετικά ανασυνδυασμένο DNA (331). Τα εμβόλια αυτά είναι ασφαλή και προσφέρουν προφύλαξη στο 95% περίπου των περιπτώσεων (192,332). Λόγω της παγκόσμιας διάστασης του προβλήματος της ηπατίτιδας Β αλλά και της πολύ καλής αποτελεσματικότητας του εμβολίου, η Παγκόσμια Οργάνωση Υγείας (Π.Ο.Υ) συνέστησε την εισαγωγή του εμβολίου κατά της ηπατίτιδας Β στο πρόγραμμα υποχρεωτικού εμβολιασμού των βρεφών και των παιδιών σε όλες τις χώρες (ανεξάρτητα από τη συχνότητα δεικτών λοίμωξης) από το 1997 (331).

Τα προτεινόμενα από την Π.Ο.Υ. σχήματα εμβολιασμού είναι δύο. Το πρώτο περιλαμβάνει 3 δόσεις στους 0, 1 και 6 μήνες από την πρώτη δόση (κλασσικό σχήμα) και το δεύτερο (εντατικό σχήμα) 4 δόσεις στους 0, 1, 2 και 12 μήνες από την πρώτη δόση. Η δόση σε παιδιά έως 10 ετών είναι το ήμισυ της αντίστοιχης δόσης του ενήλικα. Η χορήγησή 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 (215). Οι παρενέργειες του εμβολίου είναι σπανιότατες και ως επί το πλείστον ήπιες. Πιο συχνή είναι η εμφάνιση άλγους και ερυθρότητας τοπικά στο δελτοειδή στο σημείο της ένεσης καθώς και μικρής διάρκειας χαμηλή πυρετική κίνηση, κεφαλαλγία, εξάνθημα, ναυτία, έμετος, αρθραλγίες, κόπωση (215).

Ο εμβολιασμός θεωρείται επιτυχής, όταν ανιχνεύεται τίτλος αντι-HBs >10 IU/L. Το 95% περίπου των εμβολιασθέντων αναπτύσσουν τέτοιο προστατευτικό τίτλο (332). Μειωμένη ανοσολογική απάντηση έχει αναφερθεί στους καπνιστές, τους παχύσαρκους και στα άτομα με καρδιακά ή

αναπνευστικά νοσήματα (333). Όπως είναι φυσικό ασθενείς με βαριά ανοσοανεπάρκεια (αιμοκαθιρόμενοι, λήπτες οργάνων, HIV θετικοί με μειωμένα CD4+ λεμφοκύτταρα) είναι δυνατό να μην παράγουν αντι-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). Η διάρκεια της προστασίας που προσφέρει το εμβόλιο δεν είναι επακριβώς καθορισμένη, αλλά θεωρείται ότι είναι μακροχρόνια και ανεξάρτητη από τον τίτλο των αντι-HBs, γιατί η ανοσολογική μνήμη παραμένει ανέπαφη και έτσι, μετά από ενδεχόμενη έκθεση στον ιό παρατηρείται ραγδαία ανοσολογική ανταπόκριση (334-336). Αναμνηστικές δόσεις συνιστώνται σε ανοσοκατασταλμένα άτομα, όταν ο τίτλος των αντι-HBs ανευρίσκεται κάτω από 10 IU/L κατά τον ετήσιο έλεγχο στον οποίο πρέπει να υπόκεινται (337). Επιπλέον, η Π.Ο.Υ προτείνει μία ή δύο αναμνηστικές δόσεις, όταν αρνητικοποιηθεί το αντι-HBs ή 5-10 έτη μετά το αρχικό σχήμα, αν και σήμερα δε θεωρούνται από την ίδια αρχή απαραίτητες, ιδιαίτερα αν στο αρχικό σχήμα εμβολιασμού η απάντηση ήταν μεγαλύτερη των 100 IU/L.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ Γ΄

### ΛΑΝΘΑΝΟΥΣΑ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ Β

#### 1. ΟΡΙΣΜΟΣ

Η χρόνια ηπατίτιδα Β χαρακτηρίζεται, όπως είναι γνωστό, από την παρουσία στον ορό των ασθενών HBV-DNA και HBsAg (194,338). Διάφορες μελέτες, μάλιστα, από πολλά έτη έχουν συσχετίσει την κάθαρση του HBsAg με εξαφάνιση της ιαιμίας και ύφεση της νόσου. Παρόλα αυτά νεώτερες έρευνες με τη χρήση ευαίσθητων τεχνικών PCR ή RLT-PCR έχουν αποδείξει ότι χαμηλά επίπεδα HBV-DNA παραμένουν ανιχνεύσιμα στον ορό ή στο ήπαρ ορισμένων ασθενών που αρνητικοποίησαν το HBsAg, μετά από οξεία-αυτοπεριοριζόμενη ή χρόνια ηπατίτιδα Β, ή μετά από επιτυχή αντιική αγωγή (339-341). Το 1978 οι Hoofnagle και συν (342) ανέφεραν την ανάπτυξη μεταλλάξης ηπατίτιδας Β από «φαινομενικά» υγιή αιμοδότη με θετικό το αντίσωμα αντι-HBc και αρνητικά το HBsAg και το αντίσωμα αντι-HBs, γεγονός που υποδηλώνει ότι ασθενείς θετικοί για το αντίσωμα αντι-HBc μπορεί να υποκρύπτουν χρόνια ηπατίτιδα Β. Κατόπιν, αποδείχθηκε ότι HBV-DNA μπορεί να ανιχνευθεί σε ασθενείς αρνητικούς για το HBsAg, αλλά θετικούς για το αντίσωμα αντι-HBs, το οποίο αποτελεί ουσιαστικά δείκτη ανοσίας κατά της λοίμωξης από τον HBV (343,344).

Τα δεδομένα αυτά οδήγησαν στην αποκάλυψη μιας νέας νοσολογικής οντότητας που ονομάζεται «λανθάνουσα ή σιωπηλή ή κρυψιγενής» ηπατίτιδα Β (occult HBV infection). Η λανθάνουσα ηπατίτιδα Β χαρακτηρίζεται, σύμφωνα με την Ευρωπαϊκή Εταιρεία Μελέτης του Ήπατος (EASL), από την

παρουσία HBV-DNA στον ορό ή στο ήπαρ ασθενών με αρνητικό HBsAg (345).

Όπως είναι γνωστό, η PCR είναι κατά προσέγγιση  $10^4$  περισσότερο ευαίσθητη στην ανίχνευση του HBV-DNA σε σύγκριση με τον άμεσο υβριδισμό (346). Η εφαρμογή, λοιπόν, της PCR ή της RLT-PCR βοήθησε στην απόκτηση πολύτιμων πληροφοριών για την λανθάνουσα ηπατίτιδα Β. Για παράδειγμα, «εμβολιασμός» χιμπατζήδων με ορό αρνητικό για το HBsAg, αλλά HBV-DNA θετικό οδήγησε στην ανάπτυξη οξείας ηπατίτιδας Β. Περαιτέρω έλεγχος απέδειξε κοινές αλληλουχίες HBV-DNA μεταξύ δότη και δέκτη (347). Πλέον, είναι προφανές ότι η λανθάνουσα λοίμωξη από τον HBV αποτελεί μια ξεχωριστή και ταυτόχρονα ενδιαφέρουσα νοσολογική οντότητα για την οποία λίγα είναι γνωστά από πλευράς έκβασης και πορείας των «πασχόντων».

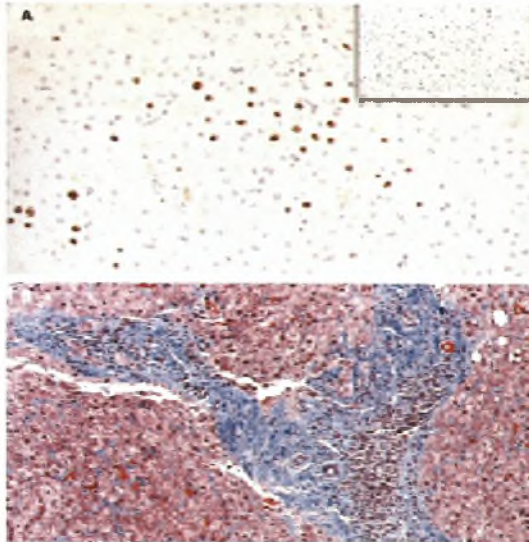


## 2. ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ ΛΑΝΘΑΝΟΥΣΑΣ ΛΟΙΜΩΞΗΣ ΑΠΟ ΤΟΝ HBV

HBV-DNA έχει ανιχνευθεί, με τη χρήση της PCR, στον ορό, στο ήπαρ και στα μονοκύτταρα του περιφερικού αίματος (PBMCs) ασθενών με αρνητικό HBsAg (346,348-352). Στη λανθάνουσα λοίμωξη από τον HBV τα επίπεδα του HBV-DNA είναι συνήθως  $<10^4$  copies/ml (353), σημαντικά χαμηλότερα δηλαδή σε σύγκριση με την χρόνια ηπατίτιδα Β με θετικό HBsAg (349,351). Μελέτες, μάλιστα, παρακολούθησης των ασθενών αυτών έχουν δείξει ότι η HBV-αιμία στον ορό των ίδιων ασθενών ενδέχεται να παρουσιάζει διακυμάνσεις (354,355). Η συχνότητα ανεύρεσης HBV-DNA στο ήπαρ είναι, συνήθως, μεγαλύτερη της αντίστοιχης στον ορό (349,351), γεγονός που μπορεί να οφείλεται στο ότι το ήπαρ λειτουργεί σαν βασικό όργανο «υποστήριξης» του ιικού πολλαπλασιασμού του HBV. Παρόλα αυτά έχει παρατηρηθεί περίπτωση ανίχνευσης του HBV-DNA αποκλειστικά στον ορό και όχι στον ηπατικό ιστό των ασθενών αυτών (356). Επιπλέον, οι περισσότερες μελέτες (354,357-359), αλλά όχι όλες (352), επιβεβαίωσαν την ανίχνευση των αντιγόνων HBsAg και HBcAg στο ήπαρ ασθενών με λανθάνουσα λοίμωξη από τον HBV (Σχήμα 12). Τα προηγούμενα ευρήματα υποδηλώνουν ενεργό μετάφραση των πρωτεϊνών του HBV, σε ένα ποσοστό των ασθενών αυτών.

Με τη χρήση της PCR ανιχνεύθηκαν στο ήπαρ και στα PBMCs σημαντικού αριθμού ασθενών με λανθάνουσα ηπατίτιδα Β, προγονιδιακό RNA και HBV-DNA με κλειστή ομοιοπολική δομή (cccDNA, covalently closed circular), δείκτες δηλαδή ενεργού πολλαπλασιασμού του HBV (349,350). Οι μηχανισμοί, όμως, διατήρησης αυτής της χαμηλής αλλά

σταθερής ιαιμίας δεν έχουν αποσαφηνιστεί. Οι κυριότεροι που έχουν περιγραφεί είναι οι εξής:



**Σχήμα 12. Α.** Ανίχνευση των HBV αντιγόνων με ανοσοϊστοχημεία στο ήπαρ. Παρουσία HBcAg στον πυρήνα των ηπατοκυττάρων, με αρνητικό HBsAg στον ορό. **Β.** Γεφυροποιός ίνωση σε ασθενή με λανθάνουσα λοίμωξη από τον HBV.

**A) Μεταλλαγές της S περιοχής:** Οποιαδήποτε μεταλλαγή στην περιοχή pre-S/S μπορεί να τροποποιήσει την αντιγονικότητα του HBsAg και να αναστείλει την παραγωγή αντισωμάτων αντι-HBs. Ορισμένες, μάλιστα, μεταλλαγές στην περιοχή αυτή και ιδιαίτερα στην περιοχή του «α» αντιγονικού καθοριστή έχουν περιγραφεί τόσο σε περιπτώσεις μόλυνσης από τον HBV, παρά τον επιτυχή εμβολιασμό, όσο και στην λανθάνουσα ηπατίτιδα Β (281, 360-364). Πρέπει να σημειωθεί, όμως, ότι η πλειοψηφία των ασθενών με λανθάνουσα ηπατίτιδα Β φέρουν το φυσικό-άγριο στέλεχος του HBV (352). Μια παρόμοια υπερμεταβλητή περιοχή αναγνωρίστηκε και στο γονίδιο της HBV-DNA πολυμεράσης, η οποία αλληλοκαλύπτεται με το γονίδιο S (353). Αδιευκρίνιστος παραμένει, ακόμα, ο ρόλος των μεταλλαγών στην περιοχή pre-S1 και pre-S2 στην

ανάπτυξη λανθάνουσας ηπατίτιδας Β (365). Πρόσφατα, μεταλλαγές στο γονίδιο της πυρηνικής πρωτεΐνης c και της πρωτεΐνης X, ιδιαίτερα αφαιρέσεις, έχουν περιγραφεί σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C και συνυπάρχουσα λανθάνουσα ηπατίτιδα Β (358,366,367).

**Β) Ενσωμάτωση του HBV:** Είναι γνωστό ότι το HBV-DNA μπορεί να ενσωματωθεί με το χρωμοσωμικό DNA των ηπατοκυττάρων κατά την οξεία και τη χρόνια ηπατίτιδα Β (368-370). Η ενσωμάτωση, όμως, μπορεί να προκαλέσει αναδιάταξη στην αλληλουχία του HBV-DNA και να οδηγήσει σε HBsAg-αρνητική χρόνια ηπατίτιδα Β (370). Υψηλά ποσοστά ενσωμάτωσης έχουν παρατηρηθεί σε ασθενείς με ηπατοκυτταρικό καρκίνο και ηπατίτιδα Β, συμπεριλαμβανομένου και της λανθάνουσας μορφής της νόσου (370,371). Παλιότεροι και νέοι ερευνητές επιβεβαίωσαν την ενσωμάτωση του HBV-DNA, σε ποσοστό > 50%, σε ασθενείς με λανθάνουσα ηπατίτιδα Β και ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα και μάλιστα συχνότερα στον καρκινικό σε σχέση με τον παρακείμενο μη-καρκινικό ιστό (370,372-374). Είναι βέβαια άγνωστος, ακόμα, ο ρόλος της τελομεράσης και των μεταλλαγών στο γονίδιο P53 στην καρκινογένεση του ήπατος στους ασθενείς αυτούς (373-376).

**Γ) «Μόλυνση» των PBMCs από τον HBV:** Η «μόλυνση» των PBMCs από τον HBV κατά την οξεία και χρόνια ηπατίτιδα Β έχει επιβεβαιωθεί σε διάφορες μελέτες (377-379). Η ανίχνευση του HBV-DNA στα PBMCs ασθενών με λανθάνουσα ηπατίτιδα Β ενισχύει, όμως, την υπόθεση ότι τα κύτταρα αυτά παίζουν το ρόλο «δεξαμενής» για τον ιό (380). Πράγματι, μελέτες απέδειξαν την παρουσία HBV-DNA στα PBMCs με *in situ* υβριδισμό και PCR, ακόμα και 4 έτη μετά από αυτόματη ή λόγω αντι-

ικής αγωγής κάθαρση του HBsAg (381). Ο παθογενετικός ρόλος των PBMCs αποδείχθηκε πρόσφατα σε ασθενείς που υποβλήθηκαν σε μεταμόσχευση ήπατος (382,383). Μετά την μεταμόσχευση η χορήγηση υψηλών δόσεων αντι-HBs ανοσοσφαιρίνης διατηρούσε αρνητικό το HBsAg στον ορό και το HBV-DNA στο ήπαρ, αλλά στα PBMCs παρέμενε ακόμα η παρουσία του HBV-DNA, με αποτέλεσμα την πιθανότητα υποτροπής της λοίμωξης από τον HBV (382).

**Δ) Δημιουργία ανοσοσυμπλεγμάτων:** Διάφορες έρευνες έχουν αποδείξει την παρουσία σωματιδίων του HBV στον ορό ασθενών με οξεία αυτοπεριοριζόμενη ηπατίτιδα Β, ακόμα και μετά την ανάπτυξη των αντισωμάτων αντι-HBs (384-387). Στην αρχική φάση της οξείας ηπατίτιδας Β ο ιός παρατηρείται τόσο στην ελεύθερη μορφή, όσο και σε ανοσοσυμπλέγματα, με προοδευτική, όμως, επικράτηση των ανοσοσυμπλεγμάτων μετά την ορομετατροπή (386). Το γεγονός αυτό αποδεικνύει την παρουσία HBV-DNA στον ορό των ασθενών αυτών, το οποίο θα μπορούσε να ερμηνεύθει ως λανθάνουσα λοίμωξη από τον HBV. Παρόλα αυτά άλλοι ερευνητές δεν επιβεβαίωσαν το ρόλο των ανοσοσυμπλεγμάτων στη διατήρηση της λανθάνουσας ιαιμίας (349).

**Ε) Ανοσολογική κατάσταση του ασθενούς:** Το αποτέλεσμα της λοίμωξης από τον HBV οφείλεται στη δυναμική αλληλεπίδραση και ισορροπία μεταξύ του ιικού πολλαπλασιασμού και της ανοσολογικής απάντησης του ξενιστή. Επαρκής Τ-κυτταρική απάντηση έναντι των πρωτεϊνών του ιού οδηγεί σε κάθαρση της λοίμωξης, ενώ μη επαρκής σε διατήρησή της (388). Θεωρητικά, η μειωμένη ανοσολογική απάντηση του ξενιστή θα μπορούσε να οδηγήσει στην ανάπτυξη λανθάνουσας ηπατίτιδας Β. Είναι γνωστό, ότι η

ανοσοκαταστολή συμβάλλει στην υποτροπή της ηπατίτιδας Β μετά από μεταμόσχευση ήπατος. Μετά την ανάρρωση από οξεία ηπατίτιδα Β, οι ασθενείς μπορεί να διατηρούν πολύ χαμηλή, αλλά ανιχνεύσιμη ιαιμία για ένα ποικίλο χρονικό διάστημα, παρά την ανάπτυξη αντισώματων και την παρουσία ειδικών κυτταροτοξικών Τ-λεμφοκυττάρων (385). Τα ευρήματα αυτά αποδεικνύουν την αδυναμία εκρίζωσης της λοίμωξης από τον HBV από το ανοσοποιητικό σύστημα, όσον αφορά στη λανθάνουσα ηπατίτιδα Β.

**ΣΤ) Αλληλεπίδραση ιών:** Μελέτες ασθενών με χρόνια ηπατίτιδα C και ενεργό ή λανθάνουσα συν-λοίμωξη με τον HBV αποκάλυψαν μια αμοιβαία αλληλεπίδραση μεταξύ του HBV και HCV (389-395). Ασθενείς με οξεία HBV και HCV συν-λοίμωξη συνήθως παρουσιάζουν καθυστέρηση εμφάνισης, μειωμένα επίπεδα και μειωμένη διάρκεια οροθετικότητας του αντιγόνου επιφανείας HBsAg (365). Έρευνες σε ανθρώπους και ζώα με χρόνια B και C συν-λοίμωξη απέδειξαν επιπλέον, μειωμένα επίπεδα HBV ιαιμίας και αυξημένη κάθαρση του HBsAg (396). Η απουσία του HBsAg σε ασθενείς με λανθάνουσα ηπατίτιδα Β και χρόνια λοίμωξη από τον HCV, πιθανόν, να οφείλεται στην αναστολή του ιικού πολλαπλασιασμού του HBV από τον HCV και ιδιαίτερα από την πρωτεΐνη του πυρήνα του HCV (HCV core protein) (394,397-399), με μείωση της ενεργού δράσης του ενισχυτή 1 και 2 του HBV (ρυθμιστικό γονίδιο της μεταγραφής) (394). Συγκεκριμένα, μια πολυπεπτιδική αλληλουχία μεταξύ των αμινοξέων 101 και 102 του N-τελικού άκρου της πρωτεΐνης αυτής βρέθηκε να σχετίζεται, ειδικότερα, με την ανασταλτική δράση του HCV επί του πολλαπλασιασμού του HBV (398,399), όπως επίσης και η φωσφορυλίωση της σερίνης στα αμινοξέα 99 και 116 της πρωτεΐνης του

πυρήνα του HCV φαίνεται να παρουσιάζει, επίσης, ουσιαστικό ανασταλτικό ρόλο (398).

Πρόσφατα, βρέθηκε αυξημένη συχνότητα μεταλλαγών, με απαλοιφή 8 νουκλεοτιδίων, στον πυρηνικό ενισχυτή της περιοχής X (core promoter) σε ασθενείς με χρόνια λοίμωξη από τον HCV και λανθάνουσα ηπατίτιδα B (358,367,400), η οποία δεν ανιχνεύθηκε σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα B (400). *In-vivo* και *in-vitro* οι μεταλλαγές αυτές, πιθανόν, να προάγουν τον πολλαπλασιασμό του HCV (358,397).

**Z) Διάφοροι μηχανισμοί:** Δεν έχει διευκρινιστεί, ακόμα, αν ο γονότυπος του HBV σχετίζεται με τη «διατήρηση» λανθάνουσας ηπατίτιδας B. Παρόλα αυτά, σε μια πρόσφατη έρευνα το 61% των ασθενών με λανθάνουσα λοίμωξη από τον HBV είχαν γονότυπο D, ενώ το 53% των HBsAg-θετικών ασθενών γονότυπο A (353). Προφανώς, περαιτέρω μελέτες απαιτούνται για την αποσαφήνιση του πιθανού ρόλου των γονοτύπων στη λανθάνουσα ηπατίτιδα B.

### 3. ΚΛΙΝΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΛΑΝΘΑΝΟΥΣΑΣ HBV ΛΟΙΜΩΞΗΣ

#### 3.1. ΛΑΝΘΑΝΟΥΣΑ HBV ΛΟΙΜΩΞΗ ΚΑΙ ΜΕΤΑΔΟΣΗ ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ Β

##### 3.1.1. Μεταγγίσεις παραγώγων αίματος

Ο κίνδυνος μετα-μετάγγισης ηπατίτιδας Β από HBsAg αρνητικούς αιμοδότες είναι γνωστός τουλάχιστον εδώ και 2 δεκαετίες (342). Στις αναπτυγμένες χώρες αν και ο κίνδυνος μετα-μετάγγισης ιογενών ηπατιτίδων έχει μειωθεί σημαντικά, ο κίνδυνος μετάδοσης της ηπατίτιδας Β (1/63.000) παραμένει σημαντικά υψηλότερος σε σύγκριση με τον αντίστοιχο κίνδυνο για τον HCV (1/103.000) (22). Στις Η.Π.Α., για τον έλεγχο των δοτών, όπως προαναφέρθηκε (Μέρος Β, κεφάλαιο 2) χρησιμοποιούνται τόσο το HBsAg όσο και το αντι-HBc. Συγκεκριμένα, μετά την εφαρμογή του ελέγχου για την ηπατίτιδα C, το αντι-HBc διατηρήθηκε για τον εντοπισμό δοτών που βρίσκονται στην περίοδο του παραθύρου ή έχουν χρόνια λοίμωξη από τον HBV με χαμηλή ιαιμία. Διάφοροι ερευνητές έχουν προσπαθήσει να εκτιμήσουν την αξία του ελέγχου του αντισώματος αντι-HBc στον ορό των αιμοδοτών (200,401-411). Όπως φαίνεται στον Πίνακα 8 η συχνότητα ανεύρεσης του αντι-HBc και της λανθάνουσας HBV-ιαιμίας στον αιμοδοτικό και στο γενικό πληθυσμό εξαρτάται άμεσα από τον επιπολασμό της λοίμωξης από τον HBV στην αντίστοιχη περιοχή (200,401-410). Στις Βόρειες Χώρες, όπου η συχνότητα μόλυνσης είναι μικρή (<5%) και ο επιπολασμός της χρόνιας λοίμωξης είναι <1%, ποσοστό χαμηλότερο του 5% των αντι-HBc θετικών αιμοδοτών έχουν HBV-ιαιμία (406,412). Αντίθετα σε περιοχές υψηλής ενδημικότητας (Ινδία, Ταϊβάν, Ιαπωνία κ.α), HBV-DNA ανιχνεύεται στο 4-24%

**Πίνακας 8.** Συχνότητα ορολογικών δεικτών και HBV-DNA σε αιμοδότες και σε γενικό πληθυσμό.

ΕΡΕΥΝΑ	ΧΩΡΑ	ΟΜΑΔΑ ΕΛΕΓΧΟΥ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΕΛΕΓΧΟΥ	ΑΝΤΙ-HBc (n)	ΑΝΤΙ-HBs (n)	ΑΝΤΙ-HBc μόνο (%)	HBVDNA (%)
Hennig, et al (401)	Γερμανία	Αιμοδότες	14,251	200	180	20 (0.14)	3 (15.0)
Jilg, et al (402)	Γερμανία	Γενικός Πληθυσμός	5305	544	432	81 (1.5)	5/65 (7.7)
Tseliou, et al (403)	Ελλάδα	Αιμοδότες	10,629	2050	1543	507 (4.8)	0
Zervou, et al (200)	Ελλάδα	Αιμοδότες	6696	282	177	105 (1.0)	0
Bart, et al (404)	Ελβετία	Γενικός Πληθυσμός	9006	571	467	104 (1.2)	0
Allain, et al (405)	Αγγλία	Αιμοδότες	103,869	586	515	69 (0.07)	0
Kleinman, et al (406)	Η.Π.Α	Αιμοδότες		1231	844	387	4/107 (3.7)
Almeida-Neto, et al (407)	Βραζιλία	Αιμοδότες				112	0
Ren, et al (408)	Κίνα	Αιμοδότες				297	1 (0.3)
Sato, et al (409)	Ιαπωνία	Αιμοδότες	540,161	14963		1103 (0.2)	12 (1.1)
Bernvil, et al (410)	Σαουδική Αραβία	Αιμοδότες	6035			125 (2.1)	4 (3.2)
Allain, et al (405)	Γκάνα	Αιμοδότες	242	184	46	110 (45.5)	

n = αριθμός ατόμων που εξετάστηκαν

του πληθυσμού που βρίσκεται θετικός μόνο για το αντίσωμα αντι-HBc (413-416). Η δυνητική μολυσματικότητα των μονάδων αίματος θετικών για το αντίσωμα αντι-HBc έχει αποδειχθεί σε διάφορες μελέτες (342,417-420), αλλά όχι σε όλες (200,411). Παρόλα αυτά οι προηγούμενες μελέτες (αυστηρά βασιζόμενες σε ορολογικούς μόνο δείκτες) έδειξαν ότι ποσοστό < 4% των ασθενών, που ελάβαν αντι-HBc θετική μετάγγιση, ανέπτυξαν μετα-μετάγγιση ηπατίτιδα Β (342, 417-419).

Πρακτικά, η παρουσία μόνο του αντισώματος αντι-HBc στον ορό έχει 3 ερμηνείες (421): α) Μετά από πολυετή χρόνια λοίμωξη από τον HBV τα επίπεδα του HBsAg στον ορό μπορεί να «πέσουν» χαμηλότερα από τα όρια



ευαισθησίας της χρησιμοποιούμενης μεθόδου ανίχνευσης. Το σενάριο αυτό ενισχύεται από τον προοδευτικά αυξανόμενο αριθμό μονάδων αίματος θετικών για το HBsAg με τη χρήση, σήμερα, μεθόδων ανίχνευσης του HBsAg με μεγαλύτερη ευαισθησία (405). β) Μετά από την ανάρρωση από ηπατίτιδα Β τα επίπεδα των αντισωμάτων αντι-HBs προοδευτικά υποχωρούν και μπορεί να παραμείνουν τελικά θετικά μόνο τα αντισώματα αντι-HBc. Διάφορες μελέτες έχουν επιβεβαιώσει το φαινόμενο αυτό με τη χορήγηση εμβολίου έναντι του HBV στα άτομα αυτά, εκτιμώντας την ταχύτητα και το μέγεθος της ανοσιακής απάντησης (407,422,423). γ) Ψευδώς θετικό αποτέλεσμα από τη χρησιμοποιούμενη μέθοδο.

Αντίθετα, παράγωγα του αίματος που περιέχουν συνδυασμό αντισωμάτων αντι-HBc και αντι-HBs δε φαίνεται να συμβάλλουν στη μετάδοση της ηπατίτιδας Β (424). Πράγματι, οι Mosley και συν (424) απέδειξαν μια αντίστροφη συσχέτιση μεταξύ της μολυσματικότητας και των επιπέδων των αντισωμάτων αντι-HBs στον ορό. Μολονότι, δε σε κάποια δείγματα ανιχνεύθηκε η παρουσία HBV ιαυμίας, δε βρέθηκε συσχέτιση μεταξύ της οροθετικότητας για το HBV-DNA και της μολυσματικότητας. Επίσης οι Allain και οι συν (412) μελέτησαν την δυνατότητα μετάδοσης της ηπατίτιδας Β μέσω 97 παραγώγων αίματος θετικών για τα αντισώματα αντι-HBc και αντι-HBs σε χαμηλό τίτλο (<0.1 IU/ml), σε 131 ασθενείς-δέκτες στη μελέτη αυτή δεν αποδείχθηκε μετάδοση της νόσου σε κανέναν ασθενή.

Στις αναπτυσσόμενες χώρες, όπου η ενδημικότητα του HBV είναι υψηλή, η πιθανότητα μετα-μετάγγισης ηπατίτιδας Β είναι επίσης υψηλή. Σε μια μελέτη στην Ινδία, 10% των ασθενών-δεκτών που έλαβαν 3-19 μονάδες αίματος από HBsAg αρνητικούς δότες στα πλαίσια καρδιοχειρουργικής

επέμβασης, ανέπτυξαν ηπατίτιδα Β, ενώ σε 11 από τις 24 μονάδες αίματος ανιχνεύθηκε HBV-DNA (425). Αυτή η έλλειψη αντιστοιχίας μεταξύ της υψηλής συχνότητας του HBV-DNA και της μετα-μετάγγισης ηπατίτιδας Β υποδηλώνει ότι δεν είναι μολυσματικά όλα τα παράγωγα του αίματος που παρουσιάζουν HBV-αιμία. Παρόλα αυτά δεν υπάρχουν ακόμα μελέτες που να συσχετίζουν το επίπεδο του ιικού φορτίου με την μολυσματικότητα.

Αντίστοιχα με άλλες ιογενείς λοιμώξεις, η μετάδοση της ηπατίτιδας Β μέσω μεταγγίσεων είναι άμεσα συνδεδεμένη α) με τον αριθμό και την ποσότητα των παραγώγων αίματος που μεταγγίσθηκαν και β) με την ανοσιακή κατάσταση του ξενιστή. Προκειμένου να μειωθεί περαιτέρω ο κίνδυνος της μετα-μετάγγισης ηπατίτιδας Β σε ορισμένες χώρες γίνεται έλεγχος των αιμοδοτών με πιο ευαίσθητες τεχνικές ανίχνευσης του ιού, όπως η μέθοδος NAT (nucleic acid amplification technology), ενώ όπως προαναφέρθηκε σε ορισμένες χώρες εξακολουθεί να γίνεται έλεγχος για το αντίσωμα αντι-HBc. Εντούτοις, ο έλεγχος του αντι-HBc αποκλείει μεγάλο αριθμό υγιών αιμοδοτών και έχει πολύ χαμηλή πρακτική αξία, ιδιαίτερα σε περιοχές μέτριας-υψηλής ενδημικότητας για τον HBV, όπου η οροθετικότητα για το αντι-HBc ξεπερνά το 10% στο γενικό πληθυσμό (200,426,427).

### **3.1.2. Μεταμοσχεύσεις οργάνων**

Η λοίμωξη από τον HBV μετά από μεταμόσχευση οργάνων ή μυελού των οστών αποτελεί έναν σημαντικό παράγοντα θνητότητας και θνησιμότητας (428-430). Η εμφάνιση de novo ηπατίτιδας Β μπορεί να οφείλεται στην ενεργοποίηση προϋπάρχουσας λανθάνουσας λοίμωξης από τον HBV στο δότη ή στο δέκτη (431,432). Το γεγονός αυτό προκάλεσε έντονο

προβληματισμό όσον αφορά αφένος στην ασφαλή χρήση μοσχευμάτων δοτών θετικών για το αντίσωμα αντι-HBc και αφετέρου στην ανάγκη χορήγησης προφυλακτικής αντιικής αγωγής στις περιπτώσεις αυτές (433,434). Οι ανοσοκατασταλμένοι ασθενείς είναι, άλλωστε, περισσότερο «ευαίσθητοι» στην ενεργοποίηση της λοίμωξης από τον HBV, αφού η ανοσοκατασταλτική αγωγή επηρεάζει τη λειτουργία των Β και Τ λεμφοκυττάρων (435).

Η σημασία της λανθάνουσας ηπατίτιδας Β ως πηγή λοίμωξης στις μεταμοσχεύσεις ήπατος έχει αποδειχθεί σε πολλές μελέτες (428,431,436,437). Μολονότι, το HBV-DNA δεν ανιχνεύεται πάντοτε στον ορό των ασθενών αυτών, ο έλεγχος του ηπατικού ιστού μπορεί να αποκαλύψει την παρουσία HBV-ιαιμίας (428,431,436,437). Ο έλεγχος της νουκλεοτιδικής αλληλουχίας αποκαλύπτει σ'αυτές τις περιπτώσεις σημαντική ομολογία μεταξύ του δότη και του λήπτη (431). Μόλυνση του αλλομοσχεύματος μπορεί να παρατηρηθεί, όμως, και σε ασθενείς με προϋπάρχουσα λανθάνουσα ηπατίτιδα Β. Όπως προαναφέρθηκε, τα μονοκύτταρα του περιφερικού αίματος μπορεί να παίξουν το ρόλο «δεξαμενής» για τον ιό, διατηρώντας τη δυνατότητα του ιικού πολλαπλασιασμού (349). Ο κίνδυνος μετάδοσης της ηπατίτιδας Β από δότη με λανθάνουσα HBV-λοίμωξη εκτιμάται σε ποσοστό 25-94% (428,437,438), ενώ το ακριβές ποσοστό υποτροπής της νόσου σε ασθενείς με προϋπάρχουσα λανθάνουσα ηπατίτιδα Β προ της μεταμόσχευσης παραμένει άγνωστο. Παρόλα αυτά οι ασθενείς αυτοί φαίνεται να έχουν μειωμένη επιβίωση (431). Σε μια πρόσφατη μελέτη, πάντως, οι Ghisetti και συν (439) απέδειξαν ότι η προϋπάρχουσα λανθάνουσα ηπατίτιδα Β δε σχετίζεται με αυξημένη πιθανότητα «απόρριψης» του οργάνου, μειωμένη

ανταπόκριση στον εμβολιασμό έναντι του HBV ή ανάπτυξη de novo ηπατίτιδας B (439). Οι δυσμενείς επιπτώσεις από την επαναδραστηριοποίηση της λοίμωξης από τον HBV δικαιολογούν την προφυλακτική μακρόχρονη αντιική αγωγή σε λήπτες μοσχεύματος με θετικό αντίσωμα αντι-HBc (440-444). Διάφορες μελέτες μάλιστα έχουν αποδείξει ότι τα μοσχεύματα αυτά μπορούν να χρησιμοποιηθούν με μεγαλύτερη ασφάλεια σε ασθενείς με ορολογικούς δείκτες προηγμένης ηπατίτιδας B (445,446).

Αντίθετα, ο κίνδυνος μετάδοσης της ηπατίτιδας B φαίνεται να είναι μικρότερος σε περιπτώσεις μεταμόσχευσης νεφρού από δότη με λανθάνουσα ηπατίτιδα B (436). Λιγαστές μελέτες έχουν γίνει για την εκτίμηση της επαναδραστηριοποίησης της ηπατίτιδας B σε ασθενείς θετικούς για το αντίσωμα αντι-HBc μετά από μεταμόσχευση νεφρού (Πίνακας 9) (447-452). Οι Blanpain και συν (447), ανέφεραν 2 περιπτώσεις επανενεργοποίησης του ιού μεταξύ 48 ασθενών που έλαβαν αλλομόσχευμα, ενώ οι Duhart και συν (448) δεν ανέφεραν καμία περίπτωση μελετώντας 18 ασθενείς σε μια παρόμοια έρευνα. Οι κλινικές εκδηλώσεις παρουσίαζαν μεγάλη ποικιλία, από ασυμπτωματική μορφή της νόσου έως την κεραυνοβόλο της μορφή σε άλλοτε άλλο χρονικό διάστημα από τη χειρουργική επέμβαση (447,449,451).

**Πίνακας 9.** Επανεμφάνιση του HBsAg σε μεταμόσχευση νεφρού.

	Αριθμός ασθενών	Αντισώματα αντι-HBs
Marcellin et al (1991)	1	Θετικά
Grotz et al (1998)	1	Θετικά
Kidd-Ljunggren et al (1999)	1	Θετικά
Blanpain et al (1998)	2	Αρνητικά
Duhart et al (2003)	0	Αρνητικά
Larghi et al (2003)	1	Θετικά

Ο κίνδυνος μετάδοσης της ηπατίτιδας Β από δότη θετικό για το HBsAg μετά από μεταμόσχευση μυελού των οστών είναι μικρός. Έχει εκτιμηθεί ότι ποσοστό μικρότερο του 50% των ληπτών αυτών αποκτούν χρόνια λοίμωξη από τον HBV (453). Ο κίνδυνος μετάδοσης της λοίμωξης από τον HBV είναι ακόμα μικρότερος σε περιπτώσεις που ο δότης έχει λανθάνουσα ηπατίτιδα Β. Παρόλα αυτά επανενεργοποίηση ή επαναδραστηριοποίηση του HBV σε ασθενή με προϋπάρχουσα νόσο, μετά από μεταμόσχευση μυελού, μπορεί να παρατηρηθεί και να οδηγήσει ακόμα και σε οξεία κεραυνοβόλο ηπατική ανεπάρκεια (454).

### **3.2. ΛΑΝΘΑΝΟΥΣΑ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ Β ΚΑΙ ΚΕΡΑΥΝΟΒΟΛΟΣ ΗΠΑΤΙΚΗ ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑ (ΚΗΑ)**

Οι ιογενείς ηπατίτιδες Α-Ε αποτελούν την πιο συχνή αιτία ΚΗΑ (455). Εκτιμάται ότι περίπου το 1% των περιπτώσεων λοίμωξης από τον HBV επιπλέκεται από ΚΗΑ, ενώ ποσοστό 20% παραμένει αδιευκρίνιστης αιτιολογίας (367). Ο παθογενετικός ρόλος της λανθάνουσας ηπατίτιδας Β στην εμφάνιση αυτού του συνδρόμου (ΚΗΑ) δεν έχει διευκρινιστεί (456-460). Είναι αξιοσημείωτο ότι HBV-DNA έχει ανευρεθεί στο 0-47% των ασθενών με ΚΗΑ και αρνητικό HBsAg (456-463). Η μεγάλη αυτή διακύμανση του ποσοστού στις διάφορες μελέτες οφείλεται, πιθανόν, στην ευρεία γεωγραφική κατανομή της νόσου και στην ευαισθησία της χρησιμοποιούμενης μεθόδου (365). Πρόσφατα οι Aoki και συν (464) απέδειξαν την ανίχνευση του HBsAg σε ασθενείς με ΚΗΑ και θετικό HBV-DNA στον ορό, με ανοσοενζυμική μέθοδο μεγαλύτερης ευαισθησίας σε σχέση με τη χρησιμοποιούμενη μέθοδο ρουτίνας, υποβαθμίζοντας έτσι το ρόλο της λανθάνουσας λοίμωξης από τον HBV στην

ανάπτυξη της ΚΗΑ. Εξάλλου η ανεύρεση HBV-ιαιμίας σε ασθενείς με ΚΗΑ δεν αποδεικνύει απαραίτητα την αιτιολογική συσχέτιση μεταξύ της λανθάνουσας ηπατίτιδας Β και της ΚΗΑ. Επιπλέον, πρόσφατες μελέτες στις Η.Π.Α απέδειξαν ότι η λανθάνουσα λοίμωξη από τον HBV δε σχετίζεται με την ΚΗΑ (461,463). ΚΗΑ παρατηρήθηκε σε ασθενή με αρνητικό HBsAg, θετικά αντισώματα αντι-HBs και HBV-ιαιμία, 22 μήνες μετά από τη μεταμόσχευση μυελού των οστών. Παρόλα αυτά είναι δύσκολο να αποσαφηνιστεί αν η ΚΗΑ στην περίπτωση αυτή σχετιζόταν με τη λανθάνουσα ηπατίτιδα Β ή με την προηγούμενη ανοσοκατασταλτική αγωγή.

### **3.3. ΛΑΝΘΑΝΟΥΣΑ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ Β ΚΑΙ ΧΡΟΝΙΑ ΗΠΑΤΙΚΗ ΝΟΣΟΣ**

Η κλινική σημασία της λανθάνουσας ηπατίτιδας Β μετά από την απώλεια του κυκλοφορούντος HBsAg παραμένει, δυστυχώς, ασαφής. Πολλές μελέτες έχουν περιγραφεί με αντικρουόμενα, όμως, αποτελέσματα. Οι Bläckberg και συν (387) μελετώντας 16 ασθενείς με ιστορικό οξείας αυτοπεριοριζόμενης ηπατικής νόσου πριν από 30 έτη, διαπίστωσαν ήπια χρόνια ηπατική φλεγμονή στους ασθενείς με θετικό HBV-DNA στον ηπατικό ιστό. Παρομοίως, οι Fong και συν (466) διαπίστωσαν βελτίωση της ηπατικής βιοχημείας και της ιστολογικής εικόνας με παραμονή ήπιας μόνο ηπατικής φλεγμονής, κατά την μακροχρόνια παρακολούθηση 11 ασθενών που είχαν λάβει ανοσοκατασταλτική αγωγή και είχαν πετύχει κάθαρση του HBsAg.

Ποια είναι όμως τα μακροχρόνια αποτελέσματα της λανθάνουσας λοίμωξης από τον HBV σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα Β μετά από την απώλεια του HBsAg; Στην πραγματικότητα, ενώ κάποιες μελέτες έχουν αποδείξει ευεργετική δράση της κάθαρσης του HBsAg στην ιστολογική εικόνα

του ήπατος (466-469), άλλες μελέτες υποδεικνύουν αυξημένη ανάπτυξη κίρρωσης και των επιπλοκών της (470,471). Αναλυτικότερα, οι Komori και συν (472), σε δείγμα 15 ασθενών, ανέδειξαν βελτίωση της ηπατικής ίνωσης με παραμονή ήπιας, μόνο, πυλαίας φλεγμονής. Παρομοίως, σε μελέτη των Liaw και συν (469), από την Ταϊβάν, κανένας από τους 75 ασθενείς δεν ανέπτυξε κίρρωση ή ηπατοκυτταρικό καρκίνο μετά από την κάθαρση του HBsAg κατά τη διάρκεια παρακολούθησης (μέσος όρος: 60 μήνες). Αντίθετα, άλλες μελέτες από την ίδια ενδημική περιοχή έδειξαν ότι ποσοστό 32.7% των ασθενών (18/55) ανέπτυξαν είτε κίρρωση είτε ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα ή ηπατική ανεπάρκεια μετά την καθυστερημένη κάθαρση του αντιγόνου επιφανείας (470). Διάφοροι παράγοντες μπορεί να ευθύνονται για τα αντιφατικά συμπεράσματα των παραπάνω ερευνών, όπως η βαρύτητα της ηπατικής νόσου πριν από την κάθαρση του HBsAg, καθώς και η πιθανή συν-λοίμωξη με άλλους ηπατοτρόπους ιούς.

Η διάγνωση της κρυψιγενούς χρόνιας ηπατικής νόσου-κίρρωσης επιβάλλει, όπως είναι γνωστό, τον αποκλεισμό υποκείμενων καταστάσεων, όπως είναι οι ιογενείς ηπατίτιδες, η αυτοάνοση ηπατίτιδα, η κατάχρηση οινόπνευματος και τα μεταβολικά νοσήματα. Η συχνότητα της HBV-ιαμίας σε ασθενείς με χρόνια κρυψιγενή ηπατική νόσο ποικίλλει και εξαρτάται από την γεωγραφική ενδημικότητα της λοίμωξης από τον HBV, το δείγμα ελέγχου και την ευαισθησία της χρησιμοποιούμενης μεθόδου. Για παράδειγμα, σε μια μελέτη από την Ινδία, 10.8% των ασθενών με χρόνια ηπατίτιδα και αρνητικούς ορολογικούς δείκτες για λοίμωξη από τον HBV παρουσίαζαν θετικό HBV-DNA στον ορό (473). Οι Berasain και συν (359) μελετώντας 109 Ισπανούς ασθενείς με αδιευκρίνιστη αύξηση των αμινοτρανσφερασών διαπίστωσε ότι 19% αυτών

είχαν λανθάνουσα ηπατίτιδα Β. Επιπλέον, έλεγχος με βιοψία ήπατος ανέδειξε ότι σημαντικό ποσοστό αυτών είχαν χρόνια ηπατίτιδα και κίρρωση. Παρομοίως, οι Chemin και συν (357) από τη Γαλλία και οι Chan και συν από την Κίνα (474), μελετώντας 50 ασθενείς με κρυψιγενή χρόνια ηπατίτιδα και 28 ασθενείς με κίρρωση, αντίστοιχα ανέδειξαν HBV-ιαιμία σε ποσοστό 30% περίπου.

Συμπερασματικά, οι επιπτώσεις της λανθάνουσας ηπατίτιδας Β, μετά την κάθαρση του HBsAg, ποικίλλουν και εξαρτώνται από τη βαρύτητα της υποκείμενης ηπατικής νόσου πριν από την κάθαρση, τη διάρκεια της προηγηθείσας χρόνιας ηπατίτιδας Β, το χρονικό διάστημα από την κάθαρση έως τη χρονική στιγμή του ελέγχου και από τη παρουσία συν-λοίμωξης με άλλους ηπατοτρόπους ιούς. Προφανώς, μακρόχρονιες προοπτικές μελέτες απαιτούνται για την περαιτέρω αποσαφήνιση του ρόλου αυτής της κλινικής οντότητας.

### **3.4. ΛΑΝΘΑΝΟΥΣΑ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ Β ΚΑΙ ΕΠΑΝΑΔΡΑΣΤΗΡΙΟΠΟΙΗΣΗ ΧΡΟΝΙΑΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ Β**

Όπως είναι γνωστό ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα Β σε κλινική, βιοχημική και ιολογική ύφεση οι οποίοι λαμβάνουν ανοσοκασταλτική αγωγή, στα πλαίσια νεοπλασίας, έχουν υψηλό κίνδυνο επαναδραστηριοποίησης της νόσου (475-478). Συγκεκριμένα, έχει παρατηρηθεί εμφάνιση οξείας ηπατοκυτταρικής βλάβης, συνήθως 3-4 εβδομάδες μετά από τη διακοπή του πρώτου έως πέμπτου κύκλου χημειοθεραπείας, που συνήθως περιλαμβάνει κορτικοειδή (τα οποία διεγείρουν περιοχή του ιικού γονιδιώματος που δρα σαν υποδοχέας κορτικοειδούς). Κατά τη διάρκεια της ανοσοκατασταλτικής αγωγής



ο ιικός πολλαπλασιασμός αυξάνεται σημαντικά, ενώ μετά τη διακοπή της ανοσολογική απάντηση κατά του έντονα πολλαπλασιασθέντος ιού είναι τόσο ισχυρή που ο ασθενής μπορεί να παρουσιάσει μεγάλη αύξηση των αμινοτρανσφερασών και ίκτερο που μπορεί να εξελιχθεί μέχρι και σε ΚΗΑ με θανατηφόρο έκβαση (477,478). Επαναδραστηριοποίηση της ηπατίτιδας Β έχει παρατηρηθεί, όμως, εκτός από τους φορείς του HBsAg και σε ασθενείς με αρνητικό αντιγόνο επιφάνειας, αλλά θετικό το αντίσωμα αντι-HBc (453,477).

Αυξημένη συχνότητα λανθάνουσας ηπατίτιδας Β έχει παρατηρηθεί σε ανοσοκατασταλμένους ασθενείς. Για παράδειγμα σε μια μελέτη στην Κίνα ασθενείς με καρκίνο είχαν θετικό HBV-DNA στον ορό σε ποσοστό 11.6%, το οποίο ήταν σημαντικά υψηλότερο σε σχέση με την ομάδα των υγιών μαρτύρων (1.8%) (479). Επαναδραστηριοποίηση της χρόνιας λοίμωξης από τον HBV, ή ακόμα και ΚΗΑ έχει αναφερθεί σε ασθενείς με λανθάνουσα ιαίμια κατά τη διάρκεια ανοσοκατασταλτικής αγωγής, αυτόλογη ή ετερόλογη μεταμόσχευση μυελού των οστών λόγω λεμφώματος, απλαστικής αναιμίας ή λευχαιμίας (465,480,481). Παρόλα αυτά η επαναδραστηριοποίηση της νόσου ήταν λιγότερο συχνή και σοβαρή σε ασθενείς με λανθάνουσα ηπατίτιδα Β σε σχέση με τους ασθενείς με γνωστή χρόνια ηπατίτιδα Β, προ της αγωγής (477). Για το λόγο αυτό διάφοροι ερευνητές δε συστήνουν την προφυλακτική αντιική αγωγή με λαμβουδίνη σε ασθενείς με λανθάνουσα ηπατίτιδα Β πριν την έναρξη της ανοσοκατασταλτικής αγωγής (439).

Επιπλέον, λόγω των κοινών τρόπων μετάδοσης του HBV και του ιού της επίκτητης ανοσολογικής ανεπάρκειας (HIV) έχει παρατηρηθεί ότι υψηλό ποσοστό των HIV-θετικών ασθενών (5-15%) είναι παράλληλα φορείς και του HBV (482). Επαναδραστηριοποίηση του HBV έχει παρατηρηθεί στις

περιπτώσεις αυτές μετά τη διακοπή της λαμβουδίνης ή λόγω της ανάπτυξης αντίστασης στην αγωγή (483-485). Εκτιμάται ότι ποσοστό 17-42% και > 75% των ασθενών με συν-λοίμωξη HBV/HIV και HIV/HBV/HCV, αντίστοιχα, έχουν θετικό μόνο το αντίσωμα αντι-HBc (486). Σε μια πρόσφατη μελέτη οι Chamorro και συν (487) περιέγραψαν την πιθανότητα επανενεργοποίησης του HBV σε ασθενή με θετικό μόνο το αντίσωμα αντι-HBc, μετά από τη διακοπή της αντι-ρετροϊκής αγωγής, επισημαίνοντας την ανάγκη αποκλεισμού της λανθάνουσας ηπατίτιδας Β στις περιπτώσεις αυτές πριν την τροποποίηση της αγωγής.

### **3.5. ΛΑΝΘΑΝΟΥΣΑ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ Β ΚΑΙ ΗΠΑΤΟΚΥΤΤΑΡΙΚΟΣ ΚΑΡΚΙΝΟΣ**

Ο ηπατοκυτταρικός καρκίνος 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 άμεσα με την εμφάνιση του ηπατοκυτταρικού καρκίνου. Οι γεωγραφικές κατανομές της ηπατίτιδας Β και του ηπατοκυτταρικού καρκίνου συσχετίζονται στενά. Η χρόνια ηπατίτιδα Β μπορεί να οδηγήσει στην ανάπτυξη ηπατοκυτταρικού καρκινώματος είτε άμεσα πυροδοτώντας κυτταρικά ογκογονίδια ή αδρανοποιώντας κατασταλτικά ογκογονίδια είτε έμμεσα μέσω της φλεγμονής της χρόνιας ηπατοκυτταρικής βλάβης και της αναγέννησης. Ο HBV βρίσκεται ενσωματωμένος στο DNA των νεοπλασματικών κυττάρων ασθενών με ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα που αναπτύχθηκε σε φορείς του ιού. Παρόλα αυτά ο ρόλος της λανθάνουσας ηπατίτιδας Β στην ανάπτυξη ηπατοκυτταρικού καρκίνου παραμένει υπό αμφισβήτηση (365). Ο επιπολασμός της λανθάνουσας ιαιμίας από τον HBV

στους ασθενείς αυτούς παρουσιάζει μεγάλες διακυμάνσεις στις διάφορες μελέτες (5-80%) (371,488-492), ενώ η συχνότητα των αντισωμάτων αντι-HBc/αντι-HBs εκτιμάται σε ποσοστό 43% περίπου (371). Αυξημένος σχετικός κίνδυνος ανάπτυξης ηπατοκυτταρικού καρκίνου διαπιστώθηκε ακόμα και σε ασθενείς με θετικό μόνο το αντίσωμα αντι-HBs, σαν μοναδικό δείκτη προηγούμενης HBV λοίμωξης (493). Επιπλέον, πειράματα σε τρωκτικά-μοντέλα της χρόνιας λοίμωξης από τον HBV απέδειξαν τη συσχέτιση της λανθάνουσας λοίμωξης με τον ηπατοκυτταρικό καρκίνο (494). Στην πραγματικότητα σε χώρες υψηλής ενδημικότητας για τον HBV, όπως στην Ιαπωνία, το HBV-DNA ανευρίσκεται στην πλειοψηφία των ηπατικών ιστών ασθενών με ηπατοκυτταρικό καρκίνο που είναι αρνητικοί για το HBsAg (495), αντίθετα με ότι συμβαίνει σε χώρες χαμηλής ενδημικότητας, όπως στις Η.Π.Α (496). Το HBV-DNA στις περιπτώσεις αυτές έχει ανευρεθεί τόσο στον καρκινικό όσο και στον μη-καρκινικό ηπατικό ιστό (371,490,492), είτε ενσωματωμένο, είτε με την επισωματική του μορφή (371,489).

Ο ακριβής παθογενετικός μηχανισμός είναι άγνωστος. Οι Komori και συν (472) απέδειξαν ότι η χρόνια φλεγμονώδης διαδικασία σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα Β μπορεί ήδη να πυροδοτεί την καρκινογένεση, προ της κάθαρσης του HBsAg, ιδιαίτερα σε ασθενείς με τελικού σταδίου κίρρωση, και η παραμονή στη συνέχεια της λανθάνουσας λοίμωξης από τον HBV να παίζει περαιτέρω επιβαρυντικό ρόλο. Επιπλέον, οι Shiota και συν (497) απέδειξαν ότι η αυξημένη έκφραση των πρωτεϊνών X και p53 στη λανθάνουσα ηπατίτιδα Β πιθανόν να συμβάλει στην καρκινογένεση. Η HBx πρωτεΐνη είναι ισχυρός και μαζικός διεγέρτης ποικίλων ιολογικών ενισχυτών (258,498,499). Η ενσωμάτωση του X γονιδίου αυτούσιου ή κατά τμήματα έχει βρεθεί στις

περισσότερες περιπτώσεις ηπατοκυτταρικού καρκίνου που σχετίζονται με τον HBV. Επίσης, η X πρωτεΐνη φαίνεται να «καταπιέζει» το κατασταλτικό ογκογονίδιο p53 με αποτέλεσμα μειωμένη ανασταλτική δράση του τελευταίου στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό (500-502).

Αξιζει να σημειωθεί ότι σε κάθε περίπτωση πρέπει να εκτιμώνται παράλληλα και άλλοι πιθανοί παράγοντες κινδύνου για την ανάπτυξη ηπατοκυτταρικού καρκινώματος, όπως η κατανάλωση οινοπνεύματος και η λοίμωξη από άλλους ηπατοτρόπους ιούς, πριν την «ενοχοποίηση» της λανθάνουσας ηπατίτιδας B (373,374,503).

### **3.6. ΛΑΝΘΑΝΟΥΣΑ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ Β ΚΑΙ ΧΡΟΝΙΑ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ C**

#### **3.6.1. Συχνότητα**

Οι HBV και ο HCV αποτελούν τις πιο συχνές αιτίες χρόνιας ηπατικής νόσου παγκοσμίως. Λόγω του κοινού τρόπου μετάδοσής τους, μέσω της παρεντερικής οδού, και των κοινών παραγόντων κινδύνου η συν-λοίμωξη από τον HBV και τον HCV είναι αρκετά συχνή, ιδιαίτερα στις ενδημικές περιοχές (504-506). Η ενεργός συν-λοίμωξη από τον HBV και τον HCV έχει συσχετιστεί με την ανάπτυξη βαρύτερης ηπατικής νόσου, αυξημένη πιθανότητα εμφάνισης ηπατοκυτταρικού καρκινώματος και μειωμένη ανταπόκριση στη αντι-ιική αγωγή με α-ιντερφερόνη (395,505-509). Πρόσφατες μελέτες έχουν αναδείξει, επιπλέον, την παρουσία HBV-DNA στον ορό ή στο ήπαρ ασθενών με χρόνια ηπατίτιδα C και αρνητικό HBsAg σε συχνότητα που ποικίλει από 0-95% (Πίνακας 10). Το σημαντικό αυτό εύρος διακύμανσης οφείλεται, πιθανόν, στην ευαισθησία της χρησιμοποιούμενης μεθόδου, στο μέγεθος του δείγματος ελέγχου και στη γεωγραφική ενδημικότητα της λοίμωξης από τον HBV. Για

παράδειγμα οι Pontisso και συν (389) από την Ιταλία (χώρα ενδιάμεσης ενδημικότητας για τη λοίμωξη από τον HBV) απέτυχε να ανιχνεύσει HBV-DNA στον ορό ή στο ήπαρ 20 HCV(+) / HBsAg (-) ασθενών, ενώ αντίθετα οι Uchida και συν (400) και οι Koike και συν (510) από την Ιαπωνία (χώρα υψηλής ενδημικότητας) ανέφεραν πολύ υψηλά ποσοστά (περίπου 90%). Επιπλέον, σημαντικό ρόλο φαίνεται να παίζει, εκτός από το μέγεθος του δείγματος ελέγχου, η παρουσία ή όχι διαφόρων παραγόντων κινδύνου, όπως η χρόνια αιμοκάθαρση, η χρήση ενδοφλέβιων τοξικών ουσιών κ.α (516,528,529). Έτσι, οι Torbenson και συν (528) καθώς και οι Besisik και συν (529) μελετώντας, αντίστοιχα, 188 ασθενείς-χρήστες ενδοφλεβίων τοξικών ουσιών και 33 ασθενείς με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια τελικού σταδίου και χρόνια λοίμωξη από τον HCV ανέδειξαν λανθάνουσα ιαιμία από τον HBV σε ποσοστό 45% και 36%. Μολονότι, λοιπόν, τα ακριβή ποσοστά της λανθάνουσας λοίμωξης από τον HBV σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C είναι δύσκολο εκτιμηθούν, φαίνεται να είναι υψηλότερα σε σύγκριση με τα αντίστοιχα σε ασθενείς με χρόνια ηπατική νόσο άλλης αιτιολογίας (366). Μελέτες, μάλιστα, παρακολούθησης των ασθενών αυτών έχουν δείξει ότι η HBV-ιαιμία στον ορό ασθενών με χρόνια ηπατίτιδα C ενδέχεται να παρουσιάζει διακυμάνσεις (355).

Στην Ελλάδα δεν υπάρχει σχετική πληροφορία της λανθάνουσας ηπατίτιδας B σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C. Στο ειδικό μέρος παρουσιάζεται αναλυτικά για πρώτη φορά η εκτίμηση αυτού του φαινομένου στον Ελλαδικό χώρο με την ανάλυση μιας μεγάλης ομάδας διαδοχικών ασθενών με χρόνια ηπατίτιδα C που παρακολουθούνται στο Ηπατολογικό Ιατρείο της Παθολογικής Κλινικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

**Πίνακας 10.** Συχνότητα της λανθάνουσα λοίμωξης από τον HBV σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C.

ΜΕΛΕΤΗ	ΧΩΡΑ	ΑΣΘΕΝΕΙΣ	ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ (%)
Porchon, 1992 (525)	Γαλλία	27	1
Pontisso, 1993 (387)	Ιταλία	20	0
Villa, 1995 (510)	Ιταλία	27	42
Jilg, 1995 (513)	Γερμανία	164	33
Fukuda, 1996 (365)	Ιαπωνία	30	70
Uchida, 1997 (398)	Ιαπωνία	30	87
Lee, 1997 (502)	Κορέα	27	52
Zignego, 1997 (520)	Ιταλία	125	11
Koike, 1998 (508)	Ιαπωνία	19	95
Cacciola, 1999 (364)	Ιταλία	200	33
Fukuda, 1999 (356)	Ιαπωνία	65	52
Nirei, 2000 (512)	Ιαπωνία	49	37
Stransky, 2000 (515)	Τσεχία	79	24
Kazemi-Shirazi, 2000 (353)	Αυστρία	98	22
De Maria, 2000 (524)	Η.Π.Α	285	3
Sagnelli, 2001 (517)	Ιταλία	185	17
Fukuda, 2001 (509)	Ιαπωνία	45	49
Kao, 2002 (518)	Ταϊβάν	21	15
Giannini, 2003 (523)	Ιταλία	119	6,5
Fabris, 2004 (514)	Ιταλία	51	29,5
Fujiwara, 2004 (516)	Ιαπωνία	41	19,5
Silva, 2004 (519)	Βραζιλία	106	14
Hui, 2005 (511)	Κίνα	74	42
Hasegawa, 2005 (521)	Ιαπωνία	140	8
Khattab, 2005 (522)	Γαλλία	53	7,5

### 3.6.2. Επίπεδα HBV-DNA / HCV-RNA

Όπως προαναφέρθηκε τα επίπεδα της ιαιμίας από τον HBV σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C και λανθάνουσα ηπατίτιδα B είναι, συνήθως, πολύ χαμηλά. Πράγματι, μελέτες ασθενών με χρόνια ηπατίτιδα C και ενεργό ή λανθάνουσα συν-λοίμωξη από τον HBV αποκάλυψαν μια αμοιβαία αλληλεπίδραση μεταξύ του HBV και HCV (389-395). Ασθενείς με οξεία συν-λοίμωξη από τον HBV και τον HCV συνήθως παρουσιάζουν καθυστέρηση εμφάνισης, μειωμένα επίπεδα και μειωμένη διάρκεια οροθετικότητας του

αντιγόνου επιφανείας HBsAg (365). Έρευνες σε ανθρώπους και ζώα με χρόνια B και C συν-λοίμωξη απέδειξαν επιπλέον, μειωμένα επίπεδα HBV αιμίας και αυξημένη κάθαρση του HBsAg (396). Η απουσία του HBsAg σε ασθενείς με λανθάνουσα ηπατίτιδα B και χρόνια λοίμωξη από τον HCV πιθανόν να οφείλεται στην αναστολή του ιικού πολλαπλασιασμού του HBV από τον HCV και ιδιαίτερα από την πρωτεΐνη του πυρήνα του HCV (HCV core protein) (394,397-399), με μείωση της ενεργού δράσης του ενισχυτή 1 και 2 του HBV (ρυθμιστικό γονίδιο της μεταγραφής) (394). Συγκεκριμένα, μια πολυπεπτιδική αλληλουχία μεταξύ των αμινοξέων 101 και 102 του N-τελικού άκρου της πρωτεΐνης αυτής βρέθηκε να σχετίζεται, ειδικότερα, με την ανασταλτική δράση του ιού HCV επί του πολλαπλασιασμού του ιού HBV (398,399), όπως επίσης και η φωσφορυλίωση της σερίνης στα αμινοξέα 99 και 116 της πρωτεΐνης του πυρήνα του HCV φαίνεται να παρουσιάζει, επίσης, ουσιαστικό ανασταλτικό ρόλο (398).

Η επίδραση της λανθάνουσας ηπατίτιδας B στα επίπεδα του HCV-RNA παραμένει ασαφής. Οι Fukuda και συν (511) ανέφεραν υψηλότερα επίπεδα HCV-RNA στους ασθενείς με θετικό HBV-DNA, αλλά τα αποτελέσματά τους ήταν στατιστικώς σημαντικά μόνο για το γονότυπο 1b. Αντίθετα, οι Kazemi-Shirazi και συν (355) ανέφεραν ότι ασθενείς με θετικό HBV-DNA στον ορό ήταν συχνότερα αρνητικοί για το HCV-RNA, υποδεικνύοντας πιθανή ανασταλτική δράση του HBV επί του HCV. Οι περισσότερες μελέτες, πάντως, δε βρίσκουν συσχέτιση των επιπέδων του HCV-RNA με την παρουσία ή όχι λανθάνουσας ηπατίτιδας B (366,514,525).

### 3.6.3. Ορολογικοί δείκτες λοίμωξης από τον HBV

Διάφορες μελέτες αναφέρουν υψηλότερη συχνότητα λανθάνουσας ηπατίτιδας Β σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C και θετικό το αντίσωμα αντι-HBc (351,514,515,519,520). Ορισμένοι, μάλιστα, ερευνητές χρησιμοποιούν στις μελέτες τους την παρουσία του αντισώματος αντι-HBc ως αξιόπιστο δείκτη παρουσίας λανθάνουσας λοίμωξης από τον HBV (519,526). Οι Torbenson και συν (530) συνοψίζοντας τα αποτελέσματα ερευνών σχετικών με τη λανθάνουσα ηπατίτιδα Β αναφέρουν ότι 35% αυτών των ασθενών είναι θετικοί για το αντι-HBs, το 42% είναι θετικοί για το αντι-HBc και το 22% είναι αρνητικοί και για τα δύο αυτά αντισώματα. Αξίζει να αναφερθεί, ότι οροθετικότητα για το HBV-DNA διαπιστώθηκε σε σημαντικό ποσοστό των HCV/αντι-HBs θετικών ασθενών, υποδεικνύοντας την παρουσία υπολειμματικής ιαιμίας ακόμα και σε περιπτώσεις φυσικής ανοσίας κατά του HBV (355,358,400,512,514,522). Εξίσου ενδιαφέρουσα είναι η παρατήρηση της παρουσίας λανθάνουσας ιαιμίας από τον HBV σε ασθενείς που είναι αρνητικοί για όλους τους ορολογικούς δείκτες προηγούμενης λοίμωξης από τον HBV (355,358,400,512,522). Για το λόγο αυτό πρόσφατες μελέτες θεωρούν ότι κανένας ορολογικός δείκτης της ηπατίτιδας Β δε μπορεί να συσχετιστεί με την λανθάνουσα ηπατίτιδα Β (355,525). Πιθανόν, η διαφορετική συχνότητα των ορολογικών δεικτών στις διάφορες έρευνες να οφείλεται στην διαφορετική γεωγραφική ενδημικότητα της λοίμωξης από τον HBV και στα ιδιαίτερα δημογραφικά χαρακτηριστικά των υπό εξέταση ασθενών.



### 3.6.4. Κλινική σημασία της λανθάνουσας ηπατίτιδας Β

Η κλινική σημασία της λανθάνουσας ηπατίτιδας Β σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C παραμένει ασαφής. Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει μια πιθανή επιδείνωση της ηπατικής βιοχημείας στους ασθενείς αυτούς (358,517) η οποία όμως δεν επιβεβαιώθηκε από άλλους ερευνητές (355,514,518,524,525). Άλλοι μελετητές συσχέτισαν την παρουσία λανθάνουσας ιαιμίας από τον HBV με βαρύτερη ιστολογική εικόνα όσον αφορά είτε στη φλεγμονώδη δραστηριότητα είτε την ηπατική ίνωση και κίρρωση (358,366,400,520). Για παράδειγμα οι Cacciola και συν (366) σε μελέτη 200 ασθενών διαπίστωσε ότι το 33% αυτών με λανθάνουσα ηπατίτιδα Β και λοίμωξη από τον HCV παρουσίαζαν, ιστολογικά, κίρρωση σε σύγκριση με το 19% των ασθενών που έπασχαν μόνο από χρόνια ηπατίτιδα C ( $p=0.04$ ). Αντίθετα, οι Hui και συν (513), προσφάτως, διαπίστωσαν ότι 19.4% των ασθενών με HCV και λανθάνουσα ηπατίτιδα Β είχαν αναπτύξει κίρρωση, σε σύγκριση με το 18.6% των ασθενών χωρίς λανθάνουσα ηπατίτιδα Β ( $p=0.946$ ). Τα ευρήματα αυτά είχαν επιβεβαιωθεί σε προηγούμενες μελέτες (355,516,520,521,523,525), ενισχύοντας την άποψη ότι η λανθάνουσα ηπατίτιδα Β δεν επιταχύνει την εξέλιξη προς κίρρωση στους ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C.

Επιπλέον, η παρουσία HBV-DNA στον ορό των ασθενών με χρόνια λοίμωξη από τον HCV έχει ενοχοποιηθεί ως παράγοντας μειωμένης ανταπόκρισης στην αντιική αγωγή με α-ιντερφερόνη από ορισμένους (511,522,524), αλλά όχι όλους τους ερευνητές (514,516,520,521,523). Οι Fukuda και συν (511) απέδειξαν ότι στους ασθενείς αυτούς παρατηρείται μειωμένη έκφραση του γονιδίου που είναι υπεύθυνοι για την έκφραση της

πρωτεΐνης-υποδοχέα της ιντεφερόνης στο ηπατοκύτταρο γεγονός που μπορεί να εξηγεί τη μειωμένη ανταπόκριση στη θεραπεία στους ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C και λανθάνουσα ηπατίτιδα B.

Όπως είναι γνωστό η ενεργός συν-λοίμωξη από τον HBV και τον HCV αυξάνει σημαντικά τον κίνδυνο ανάπτυξης ηπατοκυτταρικού καρκινώματος (531). Πρόσφατα δεδομένα αποκαλύπτουν την αυξημένη συχνότητα λανθάνουσας ηπατίτιδας B σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C και ηπατοκυτταρικό καρκίνο (365). Ο επιπολασμός των αντισωμάτων αντι-HBc και/ή αντι-HBs στους ασθενείς με χρόνια λοίμωξη από τον HCV και ηπατοκυτταρικό καρκίνο ποικίλλει από 50-90%, ενώ η παρουσία του HBV-DNA στον ορό και στο ήπαρ ποικίλλει από 0-18% και 15-80% αντίστοιχα (489,490,492,532-535). Ο ακριβής παθογενετικός ρολος της λανθάνουσας λοίμωξης από τον HBV δεν έχει διευκρινιστεί ακόμα. Θεωρείται, πάντως, ότι οι ασθενείς με λανθάνουσα ηπατίτιδα B και χρόνια λοίμωξη από τον HCV αναπτύσσουν ταχύτερα ηπατοκυτταρικό καρκίνο σε μικρότερο χρονικό διάστημα (535) και πολλές φορές πριν ακόμα την ανάπτυξη κίρρωσης (533). Σε μια πρόσφατη μελέτη οι Matsuzaki και συν (373) μελετώντας 16 ασθενείς με ηπατοκυτταρικό καρκίνο διαπίστωσαν την παρουσία HCV-RNA στον καρκινικό και στον μη καρκινικό ηπατικό ιστό σε ποσοστό 87.5% και 75.5%, αντίστοιχα. Παρομοίως, HBV-DNA ανιχνεύθηκε στο 50% και στο 43.8% του καρκινικού και του μη καρκινικού ιστού, αντίστοιχα. Ταυτόχρονη ιαιμία διαπιστώθηκε στο 43.8% του καρκινικού και μόνο στο 25% του μη καρκινικού ιστού. Τα ευρήματα αυτά ενισχύουν την άποψη ότι η ενσωμάτωση του HBV γενώματος στο ηπατοκύτταρο και λιγότερο ο ενεργός πολλαπλασιασμός του HCV συμβάλλουν στην καρκινογένεση.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Anonymous. Hepatitis C: global prevalence. *Weekly epidemiol record* 1997; 72: 341-344.
2. Mast EE et al. Strategies to prevent and control hepatitis B and C virus infections: a global perspective. *Vaccine* 1999; 17: 1730-1733.
3. Alter MJ, et al. The prevalence of hepatitis C virus infection in the United States, 1988 through 1994. *N Engl J Med* 1999; 341: 556-562.
4. Memon MI, et al. Hepatitis C: an epidemiological review. *J Viral Hepat* 2002; 9: 84-100.
5. Trepo C, et al. Hepatitis C virus infection in Western Europe. *J Hepatol* 1999; 31:80-83.
6. Naoumov NV. Hepatitis C virus infection in Eastern Europe. *J Hepatol* 1999; 31: 84-87.
7. WHO. Press Release 14. Unsafe injection practices have serious, large-scale consequences. Studies point to injection associated hepatitis C in Egypt. 14 March 2000.
8. Frank C, et al. The role of parenteral antishistosomal therapy in the spread of hepatitis C in Egypt. *Lancet* 2000; 341:556-562.
9. Papadimitropoulos V, et al. Prevalence of HCV infection in the general population of different areas in Greece. *Hepatitis C*, Hadziyannis SJ 1998: 163-170.
10. Goritsas C, et al. HCV infection in the general population of a Greek island: prevalence and risk factors. *Hepatogastrenterology* 2000; 47: 782-785.

11. Zervou EK, et al. Low prevalence of HCV, HIV, and HTLV-I/II infection markers in northwestern Greece: results of a 3-year prospective donor study (1995-1997). *Eur J Intern Med.* 2003; 14: 39-44.
12. Gogos CA, et al. Prevalence of hepatitis B and C virus infection in the general population and selected groups in South-Western Greece. *Eur J Epidemiol.* 2003;18: 551-7.
13. Lionis C, et al. Current prevalence of hepatitis A, B and C in a well-defined area in rural Crete, Greece. *J Viral Hepat.* 1997;4 : 55-61.
14. Poynard T, et al. Natural history of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. *Lancet* 1997; 349: 825-832.
15. Tong MJ, et al. Clinical outcomes after transfusion-associated hepatitis C. *N Engl J Med* 1995; 332: 1463-1466.
16. Detre KM, et al. Liver transplantation for chronic viral hepatitis. *Viral Hep Rev* 1997; 2: 219-228.
17. Deuffic S, et al. Modeling the hepatitis C virus epidemic in France. *Hepatology.* 1999; 29: 1596-601.
18. Davis GL. Current therapy for chronic hepatitis C. *Gastroenterology.* 2000; 118 (2 Suppl 1): S104-14. Review.
19. Van der Poel C. Hepatitis C virus infection and blood transfusion: past and present risks. *J Hepatol* 1999; 31: 751-55.
20. Makris M, et al. Hepatitis C antibody and chronic liver disease in haemophilia. *Lancet.* 1990; 335: 1117-19.
21. Pawlotsky JM, et al. Chronic hepatitis C after high-dose of intravenous immunoglobulin. *Transfusion* 1994; 34: 86-7.

22. Schreiber G, et al. The risk of transfusion-transmitted viral infections. *N Engl J Med.* 1996; 334: 1685-90.
23. Legler T, et al. Testing of individual blood donations for HCV-RNA reduces the residual risk of transfusion-transmitted HCV infection. *Transfusion* 2000; 40: 1192-7.
24. Beld M, et al. Evaluation of automated RNA-extraction technology and a qualitative HCV assay for sensitivity and detection of HCV-RNA in pool-screening systems. *Transfusion* 2000; 40: 575-9.
25. Dalekos GN, et al. Immunologic and viral markers in the circulation of anti-HIV negative addicts. *Eur J Clin Invest* 1993; 23: 219-25.
26. Lamden KH, et al. Hepatitis B and hepatitis C virus infections: risk factors among drug users in Northwestern England. *J Infect* 1998; 37: 260-269.
27. Bell J, et al. Hepatitis C virus in intravenous drug users. *Med J Aust* 1990; 153: 274-276.
28. Sulkowski MS, et al. Viral hepatitis among injection drug users. *Viral Hepat* 1998; 4: 229-44.
29. Stark K, et al. Prevalence and determinants of anti-HCV seropositivity and of HCV genotype among intravenous drug users in Berlin. *Scand J Infect Dis* 1995; 27: 331-337.
30. Mansell CJ, et al. Epidemiology of hepatitis C in the East. *Semin Liver Dis* 1995; 15: 15-32.
31. Cesaro S, et al. Chronic hepatitis C virus infection after treatment for pediatric malignancy. *Blood* 1997; 90:1315-20.

32. Locasciulli A, et al. Hepatitis C virus infection and liver failure in patients undergoing allogeneic bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1995; 16: 407-11.
33. Diego JM, et al. Hepatitis C in dialysis and transplantation. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 1996; 5: 497-503.
34. Fabrizi F, et al. Detection of de novo hepatitis C virus infection by polymerase chain reaction in hemodialysis patients. *Am J Nephrol* 1999; 19: 383-88.
35. Izopet J, et al. Molecular evidence for nosocomial transmission of hepatitis C virus in a French hemodialysis unit. *J Med Virol* 1999; 58: 139-44.
36. Rigopoulou EI, et al. HCV-RNA qualitative assay based on transcription mediated amplification improves the detection of hepatitis C virus infection in patients on hemodialysis: results from five hemodialysis units in central Greece. *J Clin Virol*. 2005; 34: 81-5.
37. Van der Poel CL, et al. Hepatitis C virus: epidemiology, transmission and prevention. *Curr Stud hematol Blood Transfus* 1998; 208-36.
38. Tsianos EV, et al. High frequency of antibodies to Hantaan virus and hepatitis C virus infection in chronic hemodialysis patients. Coincidence or cross-reaction? *J Intern Med* 1993; 234: 607-10.
39. Elisaf M, et al. Antibodies against hepatitis C virus (anti-HCV) in hemodialysis patients: association with hepatitis B serologic markers. *Nephrol Dial Transpl* 1991; 6: 476-9.
40. Huang CC. Hepatitis in patients with end-stage renal disease. *J Gastroenterol Hepatol* 1997; 12: 236-41.

41. Pru CE, et al. Hepatitis C transmission through dialysis machines. *ASAIQ J* 1994; 40: 889-91.
42. Irish DN, et al. Identification of hepatitis C virus seroconversion resulting from nosocomial transmission on a haemodialysis unit: implications for infection control and laboratory screening. *J Med Virol* 1999; 59: 135-40.
43. Okuda K, et al. Mode of hepatitis C infection not associated with blood transfusion among chronic hemodialysis patients. *J Hepatol* 1995; 23: 28-31.
44. Gilli P, et al. Prevention of hepatitis C virus in dialysis units. *Nephron* 1995; 70: 301-6.
45. Esteban J, et al. Transmission of hepatitis C virus by a cardiac surgeon. *N Engl J Med* 1996; 334: 555-60.
46. Schvarcz R, et al. Nosocomial transmission of hepatitis C virus. *Infection* 1997; 25:74-77.
47. Ross R, et al. Transmission of hepatitis C virus from a patient to an anesthesiology assistant to five patients. *N engl J Med* 2000; 343: 1851-4.
48. Bronowicki J, et al. Patient-to-patient transmission of hepatitis C virus during colonoscopy. *N Engl J Med* 1977; 337: 237-40.
49. Thomas D, et al. Viral hepatitis in health care personnel at the John Hopkins Hospital: the seroprevalence of and risk factors for hepatitis B and hepatitis C virus infection. *Arch Intern Med* 1993; 153:1705-12.
50. Mitsui T, et al. Hepatitis C virus infection in medical personnel after needle-stick accident. *Hepatology* 1992; 16:1109-14.

51. Hernandez M, et al. Risk of needle-stick injuries in the transmission of hepatitis C in hospital personnel. *J Hepatol* 1992; 16: 56-8.
52. Giovannini M, et al. Maternal-infant transmission of hepatitis C virus HIV infections: a possible interaction. *Lancet* 1990; 335: 1166.
53. Wejstal R, et al. Mother-to-infant transmission of hepatitis C virus. *Ann Intern Med* 1992; 117:887-890.
54. Paccagnini S, et al. Perinatal transmission and manifestation of hepatitis C virus infection in a high-risk population. *Pediatr Infect Dis J* 1995; 14:195-199.
55. Maggiore G, et al. Vertical transmission of hepatitis C [letter; comment]. *Lancet* 1995; 345: 1122.
56. Ohto H, et al. Transmission of hepatitis C from mothers to infants. The Vertical Transmission of Hepatitis C Virus Collaborative Study Group. *N Engl J Med* 1994; 330:744-750.
57. Lin HH, et al. Possible role of high titer maternal viremia in perinatal transmission of hepatitis C virus. *J Infect Dis* 1994; 169:638-641.
58. Resti M, et al. Mother to child transmission of hepatitis C virus: prospective study of risk factors and timing of infection in children born to women seronegative for HIV-1. Tuscany Study Group on hepatitis C Virus Infection. *BMJ* 1998; 317:437-41.
59. Zanetti AR, et al. A prospective study on mother-to-infant transmission of hepatitis C virus. *Intervirology* 1998; 41:208-212.
60. Lin HH, et al. Least microtransfusion from mother to fetus in elective cesarean delivery. *Obstet Gynecol* 1996; 87: 244-48.



61. Gibb DM, et al. Mother-to-child transmission of hepatitis C virus: evidence for preventable peripartum transmission. *Lancet* 2000; 356: 904-7.
62. Zanetti AR, et al. Mother-to-infant transmission of hepatitis C virus. *J Hepatol*. 1999; 31 Suppl 1:96-100. Review.
63. Ogasawara S, et al. Hepatitis C virus RNA in saliva and breastmilk of hepatitis C carrier mothers. *Lancet* 1993; 341:561.
64. Esteban JI, et al. Hepatitis C virus antibodies among risk groups in Spain. *Lancet* 1989; 2: 294-97.
65. Hess G, et al. Hepatitis C virus and sexual transmission. *Lancet* 1989; 2: 987.
66. Tedder RS, et al. Hepatitis C virus: evidence for sexual transmission. *BMJ* 1991; 302: 1299-1302.
67. Evenhart JE, et al. Risk for non-A, non-B (type C) hepatitis through sexual or household contact with chronic carriers. *Ann Intern Med* 1990; 112: 544-45.
68. Deny P, et al. Low rate of hepatitis C virus (HCV) transmission within the family. *J Hepatol* 1992; 14: 409-10.
69. Bellobuono A, et al. Intrafamilial spread for hepatitis C virus. *Transfusion* 1991; 31: 475.
70. Camarero C, et al. Horizontal transmission of hepatitis C virus in households of infected children. *J Pediatr* 1993; 123: 98-99.
71. Choo QL, et al. Isolation of cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science* 1989; 244: 359-62.

72. Van Regenmortel MHV, et al. Virus taxonomy. The VIIIth Report of The International Committee on Taxonomy of viruses. San Diego: Academic Press; 2000.
73. Major ME, et al. The molecular biology of hepatitis C. *Hepatology* 1997; 25: 1527-38.
74. Bukl J. Hepatitis C virus. In update of viral hepatitis Postgraduate Course AASLD 2000:102-111.
75. Moriya K, et al. The core protein of hepatitis C virus induces hepatocellular carcinoma in transgenic mice. *Natural Med* 1998; 4: 1065-67.
76. Shimizu YK, et al. A hyperimmune serum against a synthetic peptide corresponding to the hypervariable region 1 of hepatitis C virus can prevent viral infection in cell cultures. *Virology* 1996; 223: 409-12.
77. Farci P, et al. Prevention of hepatitis C virus infection in chimpanzees by hyperimmune serum against the hypervariable region 1 of the envelope 2 protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 15394-99.
78. Farci P, et al. The outcome of acute hepatitis C predicted by the evolution of the viral quasispecies. *Science* 2000; 288: 339-44.
79. Moradpour D, et al. Membrane association of hepatitis C virus non-structural proteins and identification of the membrane alteration that harbors the viral replication complex. *Antiviral research* 2003; 60: 103-9.
80. Enomoto N, et al. Mutations in the non-structural protein 5A gene and response to interferon in patients with chronic hepatitis C virus 1b infection. *N Engl J Med* 1996; 334: 77-81.

81. Stratidaki I, et al. NS5A mutations predict biochemical but not virological response to interferon-alpha treatment of sporadic hepatitis C virus infection in European patients. *J Viral Hepat.* 2001; 8: 243-8.
82. Brown AB, et al. Secondary structure of the 5' nontranslated regions of hepatitis C virus and pestivirus genomic RNAs. *Nucl Acids Res* 1992; 20: 5041-5.
83. Wang C, et al. A conserved helical element is essential for internal initiation of translation of hepatitis C virus RNA. *J Virol* 1994; 68: 7301-7.
84. Kettinen H, et al. Mapping of the internal ribosome entry site at the 5' end of the hepatitis C virus genome. In K. Nishioka, H. Suzuki, S Mishiro and T. Oda (eds), "Viral Hepatitis and Liver disease", Springer-Verlag, Tokyo 1994:125-31.
85. Martell M, et al. Hepatitis C virus (HCV) circulates as a population of different but closely related genomes: quasispecies nature of HCV genome distribution. *J Virol* 1992: 66; 3225-9.
86. Bukh J, et al. Genetic heterogeneity of hepatitis C virus: quasispecies and genotypes. *Semin Liver Dis* 1995: 15; 41-63.
87. Simmonds P, et al. Classification of hepatitis C virus into six major genotypes and a series of subtypes by phylogenetic analysis of the NS5 region. *J Gen Virol* 1993; 74:2391.
88. Hoofnagle JH. Course and outcome of hepatitis C. *Hepatology* 2002; 36: 21-9.
89. Lau JY, et al. Distribution of hepatitis C virus genotype determined by line probe assay in patients with chronic hepatitis C seen at tertiary

- referral centers in the United States. Hepatitis Interventional therapy Group. *Ann Intern Med* 1996; 124: 868-76.
90. Rubbia Brandt L, et al. Liver steatosis in chronic hepatitis C: a morphological sign suggesting infection with HCV genotype 3. *Histopathology* 2001; 39: 119-24.
91. Liang TJ, et al. Pathogenesis, natural history, treatment and prevention of hepatitis C. *Ann Intern Med* 2000; 132: 296-305.
92. McHutchison JG, et al. Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin as initial treatment for chronic hepatitis C. *N Engl J Med* 1998; 339: 1485-92.
93. Poynard T, et al. Randomised trial of interferon alfa-2b plus ribavirin for 48 weeks or for 24 weeks versus interferon alfa-2b plus placebo for 48 weeks for treatment of chronic infection with hepatitis C virus. *Lancet* 1998; 352: 1426-32.
94. Manns MP, et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomized trial. *Lancet* 2001; 358: 958-65.
95. Fried MW, et al. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 2002; 347: 975-82.
96. Hadziyannis SJ, et al. Peginterferon-alpha2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann Intern Med* 2004; 140: 346-55
97. Hoofnagle JH. Hepatitis C: the clinical spectrum of disease. *Hepatology* 1997; 26:15-20.

98. Farci P, et al. A long-term study of hepatitis C virus replication in non-A, non-B hepatitis. *N Engl J Med* 1991; 325: 98-104.
99. Thimme R, et al. Determinants of viral clearance and persistence during acute hepatitis C virus infection. *J Exp Med* 2001; 194: 1395-406.
100. Alter HJ, Seeff LB. Recovery, persistence and sequelae in hepatitis C virus infection: a perspective on long-term outcome. *Semin Liver Dis* 2000; 20: 17-35.
101. Farci P, et al. Hepatitis C virus-associated fulminant hepatic failure. *N Engl J Med* 1996; 335: 631-4.
102. Takaki A, et al. Cellular immune responses persist and humoral responses decrease two decades after recovery from a single-source outbreak of hepatitis C. *Nat Med* 2000; 6:578-82.
103. Gerlach JT, et al. Acute hepatitis C: natural course and response to antiviral treatment. *Hepatology* 2001; 34:341.
104. Zoulim F, et al. Clinical consequences of hepatitis C virus infection. *Rev Med Virol* 2003; 13: 57-68.
105. Gruner NH, et al. Association of hepatitis C virus-specific CD4+ T cells with viral clearance in acute hepatitis C. *J Infect Dis* 2000; 181: 1528-1536.
106. Cerny A, et al. Pathogenesis of chronic hepatitis C: immunological features of hepatic injury and viral persistence. *Hepatology* 1999; 30: 595-691.
107. Christie JM, et al. Clinical outcome of hypogammaglobulinemic patients following an outbreak of acute hepatitis C: 2 year follow up. *Clin Exp Immunol* 1997; 110: 4-8.

108. Thomas DL, et al. The natural history of hepatitis C virus infection: host, viral and environmental factors. *JAMA* 2000; 284: 450-6.
109. Sasaki N, et al. Loss of circulating hepatitis C virus in children who developed a persistent carrier state after mother-to-baby transmission. *Pediatr Res* 1997; 42: 263-7.
110. Vogt M, et al. Prevalence and clinical outcome of hepatitis C infection in children who underwent cardiac surgery before implementation of blood donor screening. *N Engl J Med* 1999; 341: 866-79.
111. Kenny-Walsh E, for the Irish Hepatology Research Group. Clinical outcomes after hepatitis C infection from contaminated anti-D immune globulin. *N Engl J Med* 1999; 340: 1228-33.
112. Wiese M, et al, for the East German Hepatitis C Study Group. Low frequency of cirrhosis in a hepatitis C (genotype 1b) single-source outbreak in Germany: a 20-year multicentre study. *Hepatology* 2000; 32: 91-6.
113. Bellentani S, et al. The spectrum of liver disease in the general population: lesson from the Dionysos study. *J Hepatol* 2001; 35: 531-7.
114. Howell C, et al. Hepatitis C in African Americans. Summary of a workshop. *Gastroenterology* 2000; 119: 1385-96.
115. Poynard T, et al. Rates and risk factors of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2001; 34: 730-9.
116. Moradpour D, et al. Hepatitis C: an update. *Swiss Med Wkly* 2001; 131: 291-8.
117. EASL International Consensus Conference on hepatitis C. *J Hepatol* 1999; 31: 3-8.

118. The American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD) 51st annual meeting and postgraduate courses. October 27-31, 2000, Dallas, Texas, USA. Abstracts. *Hepatology*. 2000; 32: 163A-655A.
119. Cacoub P, et al. Extrahepatic manifestations associated with hepatitis C virus infection: A prospective multicenter study of 321 patients. *Medicine* 2000; 79: 47-56.
120. Hadziyannis SJ. The spectrum of extrahepatic manifestations in hepatitis C virus infection. *J Viral Hepat* 1997; 4: 9-28.
121. Zignego A, et al. Extrahepatic manifestations of HCV infection: facts and controversies. *J Hepatol* 1999; 31: 369-76.
122. Buscila D. Hepatitis C-associated arthritis. *Curr Opin Rheumatol*. 2000; 12: 295-9.
123. Obermayer-Sraub P, et al. Hepatitis C and D, retroviruses and autoimmune manifestations. *J Autoimmunity* 2001; 16: 275-285.
124. Dalekos GN, et al. Idiopathic dilated cardiomyopathy: lack of association with hepatitis C virus infection. *Heart* 1998; 80: 270-5.
125. Rambusch EG, et al. Extrahepatic manifestations of HCV infection: facts and controversies. *J Hepatol* 1999; 31: 369-76.
126. Manns MP, et al. Autoimmunity and extrahepatic manifestations in hepatitis C virus infection. *J Hepatol* 1999; 31: 39-42.
127. Dalekos GN, et al. Viral hepatitis and idiopathic (autoimmune) thrombocytopenic purpura. Is there any relationship? *J Hepatol*. 1996; 25: 1000-1.
128. Lunel F, et al. Treatment of autoimmune and extrahepatic manifestations of hepatitis C virus infection. *J Hepatol* 1999; 31: 210-6.

129. Czaja AL. Extrahepatic immunologic features of chronic viral hepatitis. *Dig Dis Sci* 1997; 15: 125-44.
130. Dalekos GN, et al. Dermatologic disease during interferon-alpha therapy for chronic viral hepatitis. *Ann Intern Med* 1998; 128: 409-10.
131. Tsianos EV, et al. Frequency of thyroid dysfunction after recombinant alpha-interferon therapy in Greek patients with chronic active hepatitis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1994; 6: 547-551.
132. Dalekos GN, et al. A prospective evaluation of dermatological side-effects during alpha-interferon therapy for chronic viral hepatitis. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 1998 ;10 : 933-9.
133. Agnello V, et al. A role of hepatitis C virus infection in type II cryoglobulinemia. *N Engl J Med* 1992; 327: 1490-5.
134. Misiani R, et al. Hepatitis C virus infection in patients with essential mixed cryoglobulinemia. *Ann Intern Med* 1992; 117:573-7.
135. Akriviadis EA, et al. Prevalence of cryoglobulinemia in chronic hepatitis C virus infection and response to treatment with interferon-alpha. *J Clin Gastroenterol* 1997; 25: 612-8.
136. Christodoulou DK, et al. Cryoglobulinemia due to chronic viral hepatitis infections is not a major problem in clinical practice. *Eur J Intern Med* 2001; 12: 435-441.
137. Pawlotsky JM, et al. Extrahepatic immunologic manifestations in chronic hepatitis C and hepatitis C virus serotypes. *Ann Intern Med* 1995; 122: 169-73.
138. Pawlotsky JM, et al. Immunological disorders in C virus chronic active hepatitis: a prospective case-control study. *Hepatology* 1994; 19: 841-8.



139. Misiani R, et al. Interferon alfa-2a therapy in cryoglobulinemia associated with hepatitis C virus. *N Engl J Med* 1994; 330: 751-6.
140. Johnson RJ, et al. Membranoproliferative glomerulonephritis associated with hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 1993; 328: 465-70.
141. Johnson RJ, et al. Hepatitis C virus-associated glomerulonephritis. Effect of alpha-interferon therapy. *Kidney Int* 1994; 46: 1700-4.
142. Stehman-Breen C, et al. Focal segmental glomerular sclerosis among patients infected with hepatitis C virus. *Nephron* 1999; 81: 37-49.
143. Davis CL, et al. Hepatitis C-associated glomerular disease in liver transplant recipients. *Liver Transpl Surg* 1995; 1: 166-75.
144. Moses PL, et al. Renal failure associated with hepatitis C virus infection. Improvement in renal function after treatment with interferon-alpha. *Dig Dis Sci* 1997; 42: 443-6.
145. Quigg RJ, et al. Successful cyclophosphamide treatment of cryoglobulinemic membranoproliferative glomerulonephritis associated with hepatitis C virus infection. *Am J Kidney Dis* 1995; 25: 798-800.
146. Bonkovsky HL, et al. Porphyria cutanea tarda, hepatitis C and HFE gene mutation in North America. *Hepatology* 1998; 27: 1661-9.
147. Sheikh MY, et al. Dramatic resolution of skin lesions associated with porphyria cutanea tarda after interferon therapy in a case of chronic hepatitis C. *Dig Dis Sci* 1998; 43: 529-33.
148. Okano J, et al. Interferon treatment of porphyria cutanea tarda associated with hepatitis C. *Hepatogastroenterology* 1997; 44: 525-8.

149. Coll J, et al. Immunohistochemistry of minor salivary gland biopsy specimens from patients with Sjögren's syndrome with and without hepatitis C infection. *Ann Rheum Dis* 1997; 56: 390-2.
150. Scott CA, et al. Chronic lymphocytic sialadenitis in HCV related chronic liver disease: comparison of Sjögren's syndrome. *Histopathology* 1997; 30: 41-8.
151. Arrieta JJ, et al. In situ detection of hepatitis C virus RNA in salivary gland. *Am J Pathol* 2001; 158: 259-64.
152. Buskila D, et al. Hepatitis C virus, autoimmunity and rheumatic disease. *Lupus* 1997; 6: 685-9.
153. Lenzi M, et al. Prevalence of non-organ-specific autoantibodies and chronic liver disease in the general population: a nested case-control study of the Dionysos cohort. *Gut* 1999; 45: 435-41.
154. Clifford BD, et al. High prevalence of serological markers of autoimmunity in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 1995; 23: 613-9.
155. Bayraktar Y, et al. A comparison of the prevalence of autoantibodies in individuals with chronic hepatitis C and those with autoimmune hepatitis: the role of interferon in the development of autoimmune diseases. *Hepatogastroenterology* 1997; 44: 417-25.
156. Czaja AJ, et al. Evidence against hepatitis viruses as important causes of severe autoimmune hepatitis in the United States. *J Hepatol* 1993; 18: 342-52.

157. Cassani F, et al. Serum autoantibodies in chronic hepatitis C: comparison with autoimmune hepatitis and impact on the disease profile. *Hepatology* 1997; 26: 561-6.
158. Meyer zum Buschenfelde KH, et al. The role of autoimmunity in hepatitis C infection. *J Hepatol* 1995; 22: 93-6.
159. Gregorio GV, et al. Autoantibody prevalence in children with liver disease due to chronic hepatitis C virus (HCV) infection. *Clin Exp Immunol* 1998; 112: 471-6.
160. Bortolotti F, et al. Non-organ specific autoantibodies in children with chronic hepatitis C. *J Hepatol* 1996; 25: 614-20.
161. Treichel U, et al. Autoantibodies against the human asialoglycoprotein receptor: effects of therapy in autoimmune and virus-induced chronic active hepatitis. *J Hepatol* 1993; 19: 55-63.
162. Dalekos GN, et al. Anti-neutrophil antibodies in chronic viral hepatitis. *J Hepatol*. 1994; 20: 561.
163. Wu YY, et al. Proteinase 3 and dihydrolipoamide dehydrogenase (E3) are major autoantigens in hepatitis C virus (HCV) infection. *Clin Exp Immunol* 2002; 128: 347-52.
164. Liaskos C, et al. Prevalence and clinical significance of anticardiolipin antibodies in patients with type 1 autoimmune hepatitis. *J Autoimmun*. 2005; 24: 251-60.
165. Gatselis NK, et al. Impact of parietal cell autoantibodies and non-organ-specific autoantibodies on the treatment outcome of patients with hepatitis C virus infection: a pilot study. *World J Gastroenterol*. 2005;11: 482-7.

166. Zachou K, et al. 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.
167. Dalekos GN, et al. Increased incidence of anti-cardiolipin antibodies in patients with hepatitis C is not associated with aetiopathogenetic link to anti-phospholipid syndrome. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2000; 12: 67-74.
168. Dalekos GN, et al. Increased incidence of anti-LKM autoantibodies in a consecutive cohort of hepatitis C patients from central Greece. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2002; 14: 35-42.
169. Dalekos GN, et al. Autoantibodies and defined target autoantigens in autoimmune hepatitis: an overview. *Eur J Intern Med.* 2002 ;13: 293-303.
170. Garcia-Buey L, et al. Latent autoimmune hepatitis triggered during interferon therapy in patients with chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 1995; 108: 1770-7.
171. Shindo M, et al. Acute exacerbation of liver disease during interferon alpha therapy for chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 1992; 102: 1406-8.
172. Dalekos GN, et al. Epitope mapping of cytochrome P4502D6 autoantigen in patients with chronic hepatitis C during alpha-interferon treatment. *J Hepatol* 1999; 30: 366-75.
173. Todros L, et al. Efficacy and safety of interferon alfa therapy in chronic hepatitis C with autoantibodies to liver-kidney microsomes. *Hepatology.* 1995; 22: 1374-8.

174. Muratori L, et al. Interferon therapy in liver/kidney microsomal antibody type 1-positive patients with chronic hepatitis C. *J Hepatol.* 1994; 21: 199-203.
175. Megrin S, et al. Hepatitis C viremia in chronic liver disease: relationship to interferon-alpha or corticosteroid treatment. *Hepatology* 1994; 19: 273-9.
176. Czaja AJ, et al. Histological findings in chronic hepatitis C with autoimmune features. *Hepatology* 1997; 26: 459-66.
177. Bogdanos DP, et al. Molecular mimicry and autoimmune liver disease: virtuous intentions, malign consequences. *Liver* 2001; 21: 225-32.
178. Vento S, et al. Autoimmune hepatitis type 2 induced by HCV and persisting after viral clearance. *Lancet* 1997; 350: 1298-9.
179. De Rosa G, et al. High prevalence of hepatitis C virus infection in patients with B-cell lymphoproliferative disorders in Italy. *Am J Hematol* 1997; 55: 77-82.
180. Izumi T, et al. B cell malignancy and hepatitis C virus infection. *Leukemia* 1997; 11: 516-8.
181. Andreone P, et al. Prevalence of monoclonal gammopathies in patients with hepatitis C virus infection. *Ann Intern Med* 1998; 129: 294-8.
182. Zuckerman E, et al. Hepatitis C virus infection in patients with B-cell non-Hodgkin lymphoma. *Ann Intern Med* 1997; 127: 423-8.
183. Rasul I, et al. Detection of occult low-grade B-cell non-Hodgkin's lymphoma in patients with chronic hepatitis C infection and mixed cryoglobulinemia. *Hepatology* 1999; 29: 543-7.

184. Luppi M, et al. Clinico-pathological characterization of hepatitis C virus-related B-cell non-Hodgkin's lymphomas without symptomatic cryoglobulinemia. *Ann Oncol* 1998; 9: 495-8.
185. McColl MD, et al. The role of hepatitis C virus in the aetiology of non-Hodgkin lymphoma: a regional associated? *Leuk Lymphoma* 1997; 26: 127-30.
186. Collier JD, et al. No association between hepatitis C and B-cell lymphoma. *Hepatology* 1999; 29: 1259-61.
187. Germanidis G, et al. Hepatitis C virus infection in patients with overt B-cell non-Hodgkin's Lymphoma in a French centre. *Blood* 1999; 93: 1778-9.
188. De vita S, et al. Gastric mucosa as an additional extrahepatic localization of hepatitis C virus: viral detection in gastric low-grade lymphoma associated with autoimmune disease and in chronic gastritis. *Hepatology* 2000; 31: 182-9.
189. Mazzaro C, et al. Regression of monoclonal B-cell expansion in patients affected by mixed cryoglobulinemia responsive to alpha-interferon therapy. *Cancer* 1996; 77: 2604-13.
190. World Health Organization. Hepatitis B. World Health Organization Fact Sheet 204 (Revised October 2004). WHO Web site. 2000. <http://who.int/inf-fs/en/fact204.html>.
191. Lok AS. Chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 2002; 346: 1682-3.
192. Margolis HS, et al. Prevention of hepatitis B virus transmission by immunization: an economic analysis of current recommendations. *JAMA* 1995; 264: 1201-8.

193. Mahoney FJ. Update on diagnosis, management and prevention of hepatitis B virus infection. *Clin Microbiol Rev* 1999; 12: 351-66.
194. Lee WM. Hepatitis B virus infection. *N Engl J Med* 1997; 337: 1733-45.
195. Gust ID. Epidemiology of hepatitis B infection in the Western Pacific and South East Asia. *Gut* 1996; 38: 18-23.
196. World Health Organization. Hepatitis B Vaccines. WHO Web Site. 2003. <http://www.who.int/vaccines/en/hepatitisb.shtml>.
197. Kane MR. WHO Estimates of HBV Carriers Worldwide (Personal Communication, March 13, 1997).
198. Kyriakis KP, et al. Seroprevalence of hepatitis B surface antigen (HBsAg) among first-time and sporadic blood donors in Greece: 1991-1996. *Transfus Med* 2000; 10: 175-180.
199. Koulentaki M, et al. Prevalence of hepatitis B and C markers in volunteer blood donors in Crete. A 5-year study. *J Viral Hepat* 1999; 6: 243-248.
200. Zervou EK, et al. 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.
201. Syspa V, et al. 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: 721-728.
202. Βενιζέλος Μ, και συν. Επιπολασμός HBsAg σε γενικό και νοσοκομειακό πληθυσμό της κεντρικής Ελλάδας: Πρόδρομα αποτελέσματα με τη χρήση ταχείας μεθόδου ανοσοαποτυπώματος. 7<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Ηπατολογικό Συνέδριο, 29 Μαρτίου-1 Απριλίου 2001, Αθήνα.

203. Gogos CA, et al. Prevalence of hepatitis B and C virus infection in the general population and selected groups in South-Western Greece. *Eur J Epidemiol* 2003; 18: 551-7.
204. Tsiantoulas D, et al. Hepatitis B in 2001: Changes in Epidemiology in Public Health. *Ημερίδα Ηπατίτιδας Β και C* . Ιανουάριος 2001. 7-12.
205. Skliros EA, et al. High prevalence of HBV infection markers in refugees from eastern countries. *Ital J Gastroenterol Hepatol* 1999; 31: 84-5.
206. Dalekos GN, et al. 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: 553-558.
207. Roussos A, et al. Prevalence of hepatitis B and C markers among refugees in Athens. *World J Gastroenterol*. 2003; 9: 993-5.
208. Malamitsi-Puchner A, et al. Prevalence study of different hepatitis markers among pregnant Albanian refugees in Greece. *Eur J Epidemiol* 1996; 12: 297-301.
209. Dalekos GN, et al. 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: 21-25.
210. Stamouli M, et al. Decline of hepatitis B infection in Greece. *Eur J Epidemiol* 1999; 15: 447-9.
211. Boag F, et al. Hepatitis B: heterosexual transmission and vaccination strategies. *Int J STD AIDS* 1991; 2: 318-24.
212. Dodd RY, et al. Current prevalence and incidence of infectious disease markers and estimated window-period risk in the American Red Cross blood donor population. *Transfusion* 2002; 42: 975-979.



213. Harrison TJ. Genetic variation in hepatitis B virus. *E J Gastroenterol Hepatol* 1996; 8: 306-311.
214. Lai ME, et al. Hepatitis B virus DNA in the serum of Sardinian blood donors negative for the hepatitis B surface antigen. *Blood* 1989; 73: 17-19.
215. Schiss ER, et al. *Schiff's Diseases of the Liver*. 8<sup>th</sup> Edition, 1999; 1: 757-792.
216. Schreiber GB, et al for the Retrovirus Epidemiology Donor Study. The risk of transfusion-transmitted viral infections. *N Engl J Med* 1996; 334: 1685-1690.
217. Nishioka Sde A, et al. Tattoos as risk factors for transfusion-transmitted diseases. *Int J Infect Dis* 2001; 5: 27-34.
218. Limentani AE, et al. An outbreak of hepatitis B from tattooing. *Lancet* 1979; 2: 86-88.
219. Kent GB, et al. A large outbreak of acupuncture – associated hepatitis B. *Am J Epidemiol* 1988; 127: 591-598.
220. Kane A, et al 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: 801-807.
221. Balogun MA, et al. Acute hepatitis B infection in England and Wales: 1985-1996. *Epidemiol Infect* 1999; 122: 125-31.
222. Hou J, et al. Epidemiology and prevention of hepatitis B Virus infection. *Int J Med Sci* 2005; 2: 50–57.

223. Coleman PJ, et al. Incidence of hepatitis B virus infection in the United States, 1976-1994: estimates from the National Health and Nutrition Examination Surveys. *J Infect Dis* 1998; 178: 954-9.
224. Stevens CE, et al. HBeAg and anti-HBe detection by radioimmunoassay. Correlation with vertical transmission of hepatitis B virus in Taiwan. *J Med Virol* 1979; 3: 237-241.
225. Xu ZY, 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.
226. Wong VC, 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.
227. Xu DZ, et al. Risk factors and mechanism of transplacental transmission of hepatitis B virus: a case-control study. *J Med Virol* 2002; 67: 20-26.
228. Beasley RP, et al. Evidence against breast-feeding as a mechanism for vertical transmission of hepatitis B. *Lancet* 1975; 2: 740-741.
229. Hill JB, et al. Risk of hepatitis B transmission in breast-fed infants of chronic hepatitis B carriers. *Obstet Gynecol* 2002; 99: 1049-1052.
230. Zervou EK, et al. Intrafamilial spread of hepatitis B virus infection in Greece. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2005; 17: 911-5.
231. Doganci T, et al. Horizontal transmission of hepatitis B virus in children with chronic hepatitis B. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 418-20.

232. Erol S, et al. Intrafamilial transmission of hepatitis B virus in the eastern Anatolian region of Turkey. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2003; 15: 345-9.
233. Hutin YJ, et al. Injections given in healthcare settings as a major source of acute hepatitis B in Moldova. *Int J Epidemiol* 1999; 28: 782-6.
234. Douvin C, et al. An outbreak of hepatitis B in an endocrinology unit traced to a capillary-blood-sampling device. *N Engl J Med* 1990; 322: 57-8.
235. Hutin YJ, et al. An outbreak of hospital acquired hepatitis B virus infection among patient receiving chronic hemodialysis. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1999; 20: 731-735.
236. Dienstag JL, et al. Occupational exposure to hepatitis B virus in hospital personnel: infection or immunization. *Am J Epidemiol* 1982; 115: 26-39.
237. Gerberding JL. The infected health care provider. *N Engl J Med* 1996; 334: 594-595.
238. Gitlin N. Hepatitis B: diagnosis, prevention and treatment. *Clinical Chemistry* 1997; 43: 1500-1506.
239. Bond WW, et al. Survival of hepatitis B virus after drying and storage for 1 week. *Lancet* 1981; 1: 550-1.
240. Quale JM, et al. Déjà vu: nosocomial hepatitis B virus transmission and finger stick monitoring. *Am J Med* 1998; 105: 296-301.
241. 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.

242. Alter H, 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.
243. Centers for Disease Control and Prevention, Recommendations for preventing transmission of infections among chronic hemodialysis patients. *MMWR* 2001; 50: 1-43.
244. Stefanidis I, et al. Hepatitis E virus antibodies in hemodialysis patients: an epidemiological survey in central Greece. *Int J Artif Organs* 2004; 27: 842-7
245. Wei Y, et al. Molecular biology of hepatitis B virus. *Clin Liver Dis* 1999; 3: 189-219.
246. Nassal M, et al. Hepatitis B virus replication- an update. *J Viral Hepat* 1996; 3: 217-26.
247. Ganem D. Hepadnaviridae and their replication: In: Fields BN, Knipe DM, Howley PM (eds), "Virology". Philadelphia, Lippincott-Raven: 2703-37.
248. Gerlich W, et al. Functions of hepatitis B virus protein proteins and molecular targets for protective immunity. Marcel Dekker, Inc, New York 1993.
249. McLachlan A, et al. Expression of hepatitis B virus surface and core antigens: influences of pre-S and precore sequences. *J Virol* 1987; 61: 683-92.
250. Ou JH, et al. Hepatitis B virus genus function: the precore region targets core antigen to cellular membranes and causes the secretion of the e antigen. *Proct Natl Acad Sci* 1986; 83: 1578-82.

251. Chang C, et al. Expression of the precore region of an avian hepatitis B virus is not required for viral replication. *J Virol* 1987; 61: 3322-3325.
252. Schlicht HJ, et al. The secretory core protein of human hepatitis B virus is expressed on the cell surface. *J Virol* 1989; 63: 5399-5404.
253. Milich DR, 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.
254. Thomas HC, et al. Virus-host interaction in chronic hepatitis B virus infection. *Semin Liver Dis* 1988; 8: 342-349.
255. 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.
256. Yeh C-T, et al. The arginine-rich domain of hepatitis B virus precore and core proteins contains a signal for nuclear transport. *J Virol* 1990; 64: 6141-6147.
257. Eckhardt S, et al. Hepatitis B virus core antigen has two nuclear localization sequences in the arginine-rich carboxyl terminus. *J Virol* 1991; 65: 575-582.
258. Rossner MT. Review: hepatitis B virus X-gene product: a promiscuous transcriptional activator. *J Med Virol* 1992; 36: 101-17.
259. Kaplan PM, et al. DNA polymerase associated with human hepatitis B antigen. *J Virol* 1973; 12: 995-1005.
260. Weber M, et al. Hepadnavirus P protein utilizes a tyrosine residue in the TP domain to prime reverse transcription. *J Virol* 1994; 68: 2994-9.

261. Radziwill G, et al. Mutational analysis of the hepatitis B virus P gene product: domain structure and RNase H activity. *J Virol* 1990; 64: 613-620.
262. Guther S, et al. Naturally occurring hepatitis B virus genomes bearing hallmarks of retroviral GA hypermutation. *Virology* 1997; 235: 104-8.
263. Hunt CM, et al. Clinical relevance of hepatitis B virus mutation. *Hepatology* 2000; 31: 1037-44.
264. Carman WF, et al. Mutation preventing formation of the hepatitis B e antigen in patients with chronic hepatitis B infection. *Lancet* 1989; 2: 588-591.
265. Hadziyannis SJ. Hepatitis B e antigen negative chronic hepatitis B: from clinical recognition to pathogenesis and treatment. *Vir Hep Rev* 1995; 1: 7-36.
266. Lok ASF, et al. Mutations in the pre-core region of hepatitis B virus serve to enhance the stability of the secondary structure of the pre-genome encapsidation signal. *Proc Natl Acad Sci* 1994; 91: 4077-81.
267. Lok ASF, et al. Predictive value of precore hepatitis B virus mutations in spontaneous and interferon-induced hepatitis B e antigen clearance. *Hepatology* 1995; 21: 19-24.
268. Carman WF, et al. Hepatitis B virus core protein mutations are concentrated in B-cell epitopes in progressive disease and in T helper cell epitopes during clinical remission. *J Infect Dis* 1997; 175: 1093-100.
269. Liang TJ, et al. A hepatitis B virus mutant associated with an epidemic of fulminant hepatitis. *N Engl J Med* 1991; 324: 1705-1709.

270. Bozkaya H, et al. 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.
271. Buckwold VE, et al. Effects of a naturally occurring mutation in the hepatitis B virus basal core promoter on precore gene expression and viral replication. *J Virol* 1996; 70: 5845-5851.
272. Moriyama K, et al. Reduced precore transcription and enhanced core-pregenome transcription of hepatitis B virus DNA after replacement of the precore-core promoter with sequences associated with e antigen-seronegative persistent infections. *Virology* 1996; 226: 269-280.
273. Kekule AS, et al. Hepatitis B virus transactivator HBx uses a tumor promoter signaling pathway. *Nature* 1993; 361: 742-45.
274. Sirma H, et al. Hepatitis B virus X mutants, present in hepatocellular carcinoma tissue abrogate both the antiproliferative and transactivation effects of HBx. *Oncogene* 1999; 18: 4848-4859.
275. Feitelson MA, 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.
276. Feitelson MA, et al. X region deletion mutants associated with surface antigen positive hepatitis B virus infections. *Gastroenterology* 1995; 108: 1810-1819.
277. Ushida T, et al. Mutations of the X region of hepatitis B virus and their clinical implications. *Pathol Int* 1997; 47: 183-193.

278. Tran A, 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.
279. Gerkin G, et al. Hepatitis B defective virus with rearrangement in the preS gene during chronic HBV infection. *Virology* 1991; 183: 555-565.
280. Minami M, et al. Significance of pre-S region defective hepatitis B virus that emerged during exacerbation of chronic type B hepatitis. *Hepatology* 1993; 17: 558-563.
281. Trautwein C, et al. Hepatitis B virus mutation in the pre-S genome before and after liver transplantation. *Hepatology* 1996; 24: 482-8.
282. Carman WF, et al. Hepatitis B virus envelope variation after transplantation with and without hepatitis B immune globulin prophylaxis. *Hepatology* 1996; 24: 489-493.
283. Carman WF, et al. Vaccine-induced escape mutant of hepatitis B virus. *Lancet* 1990; i: 325-329.
284. Waters JA, et al. Loss of the common «α» determinant of hepatitis B surface antigen by a vaccine-induced escape mutant. *J Clin Invest* 1992; 90: 2543-2547.
285. Tripples GA, et al. Mutation in HBV RNA-dependent DNA polymerase confers resistance to lamivudine in vivo. *Hepatology* 1996; 24: 714-717.
286. Ling R, et al. Selection of mutations in the hepatitis B virus polymerase during therapy of transplant recipients with lamivudine. *Hepatology* 1996; 24: 711-713.



287. Buti M, et al. Transient emergence of hepatitis B variants in a patient with chronic hepatitis B resistant to lamivudine. *J Hepatol* 1998; 28: 510-513.
288. Dimou E, et al. Efficacy of long term lamivudine therapy in HBeAg negative chronic hepatitis B. *J Hepatol* 2000; 32: 98.
289. Norder H, et al. 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.
290. Stuyver L, et al. A new genotype of hepatitis B virus: complete genome and phylogenetic relatedness. *J Gen Virol* 2000; 81: 67-74.
291. Arauz-Ruiz P, et al. Genotype H: a new Amerindian genotype of hepatitis B virus revealed in Central America. *J Gen Virol* 2002; 83: 2059-73.
292. Magnius LO, et al. Subtypes, genotypes and molecular epidemiology of the hepatitis B virus as reflected by sequence variability of the S-gene. *Intervirology* 1995; 38: 24-34.
293. Sakai T, et al. Hepatitis B genotypes in patients with hepatitis B infection. *J Hepatol* 2001; 35: 829-30.
294. Mayerat C, et al. Does hepatitis B virus (HBV) genotype influence the clinical outcome of HBV infection? *J Viral Hepat* 1999; 6: 299-304.
295. Flodgren E, et al. Recent high incidence of fulminant hepatitis in Samara, Russia: molecular analysis of prevailing hepatitis B and D virus strains. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 3311-16.

296. Chan HL, et al. Viral genotype and hepatitis B virus DNA levels are correlated with histological liver damage in HBeAg-negative chronic hepatitis B virus infection. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 406-12.
297. Orito E, et al. Geographic distribution of hepatitis B virus genome (HBV) genotype in patients with chronic HBV infection in Japan. *Hepatology* 2001; 34: 590-4.
298. Kao JH, et al. Hepatitis B genotypes correlate with clinical outcomes in patients with chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 2000; 118: 554-9.
299. Fujie H, et al. Hepatitis B virus genotypes and hepatocellular carcinoma in Japan. *Gastroenterology* 2001; 120: 1564-5.
300. Zollner B, et al. 20-fold increase in risk of lamivudine resistance in hepatitis B virus subtype adw. *Lancet* 2001; 357: 934-5.
301. Kao JH, et al. Hepatitis B viral genotypes and lamivudine resistance. *J Hepatol* 2002; 36:303-4.
302. Hoofnagle et al. Serologic diagnosis of acute and chronic viral hepatitis. *Serum Liver Dis* 1991; 11: 73-83.
303. Hadziyannis SJ, et al. *Liver Diseases: Diagnosis and management*. New York: Churchill Livingstone; 2000; *Viral Hepatitis: Clinical features*. 79-107.
304. Seeger C, et al. Hepatitis B virus biology. *Microbiol Mol Biol Rev* 2000; 64: 51-68.
305. Shiels MT, et al. Frequency and significance of concurrent hepatitis B surface antigen and antibody in acute and chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 1987; 93: 675-80.

306. Hadziyannis SJ, et al. Clinical significance of quantitative anti-HBc IgM assay in acute and chronic HBV infection. *Hepatogastroenterology* 1993; 40: 588-92.
307. Maruyama T, et al. Distinguishing between acute and symptomatic chronic hepatitis B virus infection. *Gastroenterology* 1994; 106: 1006-15.
308. Kapke G, 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 Hepat* 1997; 4: 67-75.
309. Pawlotsky JM. Hepatitis B virus (HBV) DNA assays (methods and practical use) and viral kinetics. *J Hepatol* 2003; 39: 31-35.
310. Fong TL, et al. High levels of viral replication during acute hepatitis B infection predict progression to chronicity. *J Med Virol* 1994; 43: 155-158.
311. Michalak TI, et al. Hepatitis B virus persistence after recovery from acute viral hepatitis. *J Clin Invest* 1994; 93: 230-239.
312. Pawlotsky J, 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.
313. Butterworth L, et al. Comparison of four methods for quantitative measurement of hepatitis B viral DNA. *J Hepatol* 1996; 24: 686-691.
314. Krajden M, et al. Multi-measurement method comparison of three commercial hepatitis B virus DNA quantification assays. *J Viral Hepat* 1998; 5: 415-422.

315. Noborg U, et al. Automated quantitative analysis of hepatitis B virus DNA using the COBAS Amplicor HBV monitor test. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 2793-2797.
316. Paraskevis D, et al. Development and assessment of a novel real-time PCR assay for quantitation of HBV DNA. *J Virol Methods* 2003; 110: 115.
317. McMahon BJ, et al. Acute hepatitis B virus infection: relation of age to the clinical expression of disease and subsequent development of the carrier state. *J Infect Dis* 1985; 151: 599-603.
318. Lok AS, et al. Clinical manifestations and natural history of hepatitis B virus infection. In: Rose, B.D. (Ed), *UpToDate*, Wellesley, UA. 2000
319. Hadziyannis SJ, et al. Hepatitis B e antigen negative chronic hepatitis B: from clinical recognition to pathogenesis and treatment. *Viral Hepat* 1995; 1: 7-36.
320. Lok AS, et al. Spontaneous hepatitis B e antigen to antibody seroconversion and reversion in Chinese patients with chronic hepatitis B virus infection. *Gastroenterology* 1987; 92: 1839-43.
321. Chu CM, et al. Intrahepatic distribution of hepatitis surface and core antigens in chronic hepatitis B virus infection. Hepatocyte with cytoplasmic/membranous hepatitis B core antigen as a possible target for immune hepatocytolysis. *Gastroenterology* 1987; 92: 220-5.
322. Hadziyannis SJ, et al. Immunopathogenesis and natural course of anti-HBe positive chronic hepatitis with replicating B virus. *Vir Hepat Liv Dis* 1991; 673-6

323. Τασσοπουλος Ν, και συν. Κύρια χαρακτηριστικά και μορφές κεραυνοβόλου ηπατίτιδας στην Ελλάδα. Ιατρική 1983; 44: 233-9.
324. 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.
325. Dalekos DN, et al. Interferon-alpha treatment of children with chronic hepatitis D virus infection: the Greek experience. Hepatogastroenterology 2000; 47: 1072-6.
326. Farci P, et al. Hepatitis C virus-associated fulminant hepatic failure. N Engl J Med 1996 29; 335: 631-4.
327. Beasley R, et al. Efficacy of hepatitis B immune globulin for prevention of perinatal transmission of the hepatitis B virus carrier state: final report of a randomized double-blind, placebo controlled trial. Hepatology 1983; 3: 135-41.
328. Grady GF, et al. Hepatitis B immune globulin for accidental exposures among medical personnel: final report of a multicentre controlled trial. J Infect Dis 1978; 138: 625-38.
329. Redeker AG, et al. Hepatitis B immune globulin as a prophylactic measure for spouses exposed to acute type B hepatitis. N Engl J Med 1975; 293: 1055-59.
330. Dienstag JL. Passive-active immunoprophylaxis after percutaneous exposure to hepatitis B virus (Editorial). Hepatology 1989; 10: 385-387.
331. Kane M. Global program for control of hepatitis B infection. Vaccine 1995; 13: 47-49.

332. Keyserling HL, 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.
333. Clements ML, 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.
334. Bloom BS, et al. A reappraisal of hepatitis B virus vaccination strategies using cost-effectiveness analysis. *Ann Intern Med* 1993; 118: 298-306.
335. Lee S, 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.
336. Beasley RP, et al. Prevention of perinatally transmitted hepatitis B virus infections with hepatitis B immune globulin and hepatitis B vaccine. *Lancet* 1983; i: 1099-1102.
337. European Consensus Group on Hepatitis B Immunity. Are booster immunisations needed for lifelong hepatitis B immunity? *Lancet* 2000; 355: 561-565.
338. Chan HLY, et al. Hepatitis B in adults. A clinical perspective. *Clin Liver Dis* 1999; 3: 291-307.
339. Feitelson M, et al. Pathogenesis of post-transfusion viral hepatitis in children with beta-thalassemia. *Hepatology* 1994; 19: 558-68.
340. Mosley JW, et al. Donor screening for antibody to hepatitis B core antigen and hepatitis B virus infection in transfusion recipients. *Transfusion* 1995; 35: 5-12.

341. Yuki N, et al. Long-term histologic and virologic outcomes of acute self-limited hepatitis B. *Hepatology* 2003; 37: 1172-9.
342. Hoofnagle JH, et al. The type B hepatitis after transfusion with blood containing antibody to hepatitis B core antigen. *N Engl J Med* 1978; 298: 1379-83.
343. Nalpas B, et al. Hepatitis B virus multiplication in the absence of usual serological markers. A study of 146 chronic alcoholics. *J Hepatol* 1985; 1: 89-97.
344. Tanaka Y, et al. Persistence of hepatitis B virus DNA after serological clearance of hepatitis B virus. *Liver* 1990; 10: 6-10.
345. EASL International consensus conference on hepatitis B, 13-14 September 2002, Geneva, Switzerland, Consensus statement. *J Hepatol* 2003; 38: 533-40.
346. Kaneko S, et al. Detection of serum hepatitis B virus DNA in patients with chronic hepatitis using the polymerase chain reaction assay. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 312-6.
347. Thiers V, et al. Transmission of hepatitis B from hepatitis B-seronegative subjects. *Lancet* 1988; 2: 1273-6.
348. Kato J, et al.. A molecular analysis of viral persistence in surface antigen-negative chronic hepatitis B. *Hepatology* 1996; 23: 389-95.
349. Cabrerizo M, et al. Molecular analysis of hepatitis B virus DNA in serum and peripheral mononuclear cells from hepatitis B surface antigen-negative cases. *Hepatology* 2000; 32: 116-23.

350. Mason AL, et al. Molecular basis for persistent hepatitis B virus infection in the liver after clearance of serum hepatitis B surface antigen. *Hepatology* 1998; 27: 1736-42.
351. Cacciola I, et al. Quantification of intrahepatic hepatitis B virus (HBV) DNA in patients with chronic HBV infection. *Hepatology* 2000; 31: 507-12.
352. Marusawa H, et al. Latent hepatitis B virus infection in healthy individual with antibodies to hepatitis B core antigen. *Hepatology* 2000; 31: 488-95.
353. Weinberger KM, et al. High genetic variability of the group-specific  $\alpha$ -determinant of hepatitis B virus surface antigen (HBsAg) and the corresponding fragment of the viral polymerase in chronic virus carriers lacking detectable HBsAg in serum. *J General Virol* 2000; 81: 1165-74.
354. Zhang YY, et al. Hepatitis B virus DNA in serum and liver is commonly found in Chinese patients with chronic liver disease despite the presence of antibodies to HBsAg. *Hepatology* 1993; 17: 538-44.
355. Kazemi-Shirazi L, et al. Hepatitis B virus DNA in sera and liver tissue of HBsAg negative patients with chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2000; 33: 785-90.
356. Lorient MA, et al. Demonstration of hepatitis B virus DNA by polymerase chain reaction in the serum and the liver after spontaneous or therapeutically induced HbeAg to anti-HBe or HBsAg to anti-HBs seroconversion in patients with chronic hepatitis B. *Hepatology* 1992; 15: 32-6.
357. Chemin I, et al. High incidence of hepatitis B infections among chronic hepatitis cases of unknown aetiology. *J Hepatol* 2001; 34: 447-54.



358. Fukuda R, et al. Serologically silent hepatitis B virus coinfection in patients with hepatitis C virus-associated chronic liver disease: clinical and virological significance. *J Med Virol* 1999; 58: 201-7.
359. Berasain C, et al. Pathological and virological findings in patients with persistent hypertransaminasaemia of unknown aetiology. *Gut* 2000; 47: 429-435.
360. Carman WF. The clinical significance of surface antigen variants of hepatitis B virus. *J Viral Hepat* 1997; 4: 11-20.
361. Hou J, et al. A unique insertion in the S gene of surface antigen-negative hepatitis B virus Chinese carriers. *Hepatology* 1995; 21: 273-8.
362. Yamamoto K, et al. Naturally occurring escape mutants of hepatitis B virus with various mutations in the S gene in carriers seropositive for antibodies to hepatitis B surface antigen. *J Virol* 1994; 68: 2671-6.
363. Gerken G, et al. Hepatitis B defective virus with rearrangements in the preS gene during chronic HBV infection. *Virology* 1991; 183: 555-65.
364. Melegari M, et al. Properties of hepatitis B virus pre-S1 deletion mutants. *Virology* 1994; 199: 292-300.
365. Hu KQ. Occult hepatitis B virus infection and its clinical implications. *J Viral Hepat* 2002; 9: 243-57.
366. Cacciola I, et al. Occult hepatitis B virus infection in patients with chronic hepatitis C liver disease. *N Engl J Med* 1999; 341: 22-26.
367. Fukuda R, et al. Hepatitis B virus X gene mutation is associated with the majority of serologically «silent» non-B, non-C chronic hepatitis. *Microbiol Immunol* 1996; 40: 481-8.

368. Brechot C, et al. State of hepatitis B virus DNA in hepatocytes of patients with hepatitis B surface antigen-positive and –negative liver diseases. *Proc Acad Sci USA* 1981; 78: 3906-10.
369. Brechot C, et al. Hepatitis B virus DNA in patients with chronic liver disease and negative tests for hepatitis B surface antigen. *N Engl J Med* 1985; 312: 270-6.
370. Lai MY, et al. Identification and characterization of intrahepatic hepatitis B virus DNA in HBsAg-seronegative patients with chronic liver disease and hepatocellular carcinoma in Taiwan. *Hepatology* 1990; 12: 575-81.
371. Paterlini P, et al. Polymerase chain reaction to detect hepatitis B virus DNA and RNA sequences in primary liver cancers from patients negative for hepatitis B surface antigen. *N Engl J Med* 1990; 323: 80-5.
372. Koike K, et al. Hepatitis B virus DNA intergration frequently observed in the hepatocellular carcinoma DNA of hepatitis C virus-infected patients. *Int J Oncol* 1996; 8: 781-4.
373. Matsuzaki Y, et al. HBV genome intergration and genetic instability in HBsAg-negative and anti-HCV-positive hepatocellular carcinoma in Japan. *Cancer Lett* 1997; 119: 53-61.
374. Matsuzaki Y, et al. The role of previous infection of hepatitis B virus in HBs antigen negative and anti-HCV negative Japanese patients with hepatocellular carcinoma: etiological and molecular biological study. *J Exp Clin Cancer Res* 1999; 18: 379-89.
375. Satra M, et al. Telomerase reverse transcriptase mRNA expression in peripheral lymphocytes of patients with chronic HBV and HCV infections. *J Viral Hepat* 2005; 12: 488-93.

376. Satra M, et al. 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.
377. Sugai Y, et al. State of hepatitis B virus DNA in peripheral blood mononuclear cells from persistently infected individuals: correlation with e antigen and viral DNA in the serum as well as activity of liver disease. *Tohoku J Exp Med* 1989; 158: 73-84.
378. Davidson F, et al. Leukocyte hepatitis B virus DNA in acute and chronic hepatitis B virus infection. *J Med Virol* 1987; 22: 379-85.
379. Bouffard P, et al. Different forms of hepatitis B virus DNA and expression of HBV antigens in peripheral blood mononuclear cells in chronic hepatitis B. *J Med Virol* 1990; 31: 312-7.
380. Pasquinelli G, et al. Hepatitis B virus DNA in mononuclear blood cells. A frequent event in hepatitis B surface antigen-positive and negative patients with acute and chronic liver disease. *Hepatology* 1986; 3: 95-103.
381. Mason A, et al. Hepatitis B virus DNA in peripheral blood mononuclear cells in chronic hepatitis B after HBsAg clearance. *Hepatology* 1992; 16: 36-41.
382. Feray C, et al. Persistent hepatitis B virus infection of mononuclear blood cells without concomitant liver infection. The liver transplantation model. *Transplantation* 1990; 49: 1155-8.
383. Brind A, et al. Evidence of selection of hepatitis B mutants after liver transplantation through peripheral blood mononuclear cell infection. *J Hepatol* 1997; 26: 228-35.

384. Machalak TI, et al. Hepatitis B virus persistence after recovery from acute viral hepatitis. *J Clin Invest* 1994; 93: 230-9.
385. Reherman B, et al. The hepatitis B virus persists for decades after patients' recovery from acute viral hepatitis despite active maintenance of a cytotoxic T-lymphocyte response. *Nat Med* 1996; 2: 1104-8.
386. Yotsuyanagi H, et al. Persistent viremia after recovery from self-limited acute hepatitis B. *Hepatology* 1998; 27: 1377-82.
387. Bläckberg J, et al. Occult hepatitis B virus after acute self-limited infection persisting for 30 years without sequence variation. *J Hepatol* 2000; 33: 992-7.
388. Chang KM, et al. Immunopathogenesis of hepatitis B virus infection. *Clin Liver Dis* 1999; 3: 221-39.
389. Pontisso P, et al. Clinical and virological profiles in patients with multiple hepatitis virus infections. *Gastroenterology* 1993; 105; 1529-33.
390. Ohkawa K, et al. Long term follow up of hepatitis B virus and hepatitis C virus replicative levels in chronic hepatitis patients coinfectd with both viruses. *J Med Virol* 1995; 46: 258-64.
391. Sheen IS, et al. Role of hepatitis C virus infection in spontaneous hepatitis B surface antigen clearance during hepatitis B virus infection. *J Infect Dis* 1992; 165: 831-4.
392. Squadrito G, et al. Virological profiles in patients with chronic hepatitis C and overt or occult HBV infection. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 1528-23.
393. Jardi R, et al. Role of hepatitis B, C and D viruses in dual and triple infection: influence of viral genotypes and hepatitis B precore and basal

- core promoter mutations on viral replicative interference. *Hepatology* 2001; 34: 404-10.
394. Schuttler CG, et al. Suppression of hepatitis B virus enhancer 1 and 2 by hepatitis C virus core protein. *J Hepatol* 2002; 37: 855-62.
395. Sagnelli E, et al. Virologic and clinical expression of reciprocal inhibitory effect of hepatitis B, C and delta viruses in patients with chronic hepatitis. *Hepatology* 2000; 32: 1106-10.
396. Liaw YF. Role of hepatitis C virus in dual and triple hepatitis virus infection. *Hepatology* 1995; 22: 1101-8.
397. Shih CM, et al. Suppression of hepatitis B virus expression and replication by hepatitis C virus core protein in HuH-7 cells. *J Virol* 1993; 67: 5823-32.
398. Shih CM, et al. Modulation of the trans-suppression activity of hepatitis C virus core protein by phosphorylation. *J Virol* 1995; 69: 1160-71.
399. Chen SY, et al. Mechanisms for inhibition of hepatitis B virus gene expression and replication by hepatitis C virus core protein. *J Biol Chem* 2003; 278: 591-607.
400. Uchida T, et al. Hepatitis C virus is frequently coinfecting serum marker-negative hepatitis B virus; probable replication promotion of the former by the latter as demonstrated by in vitro cotransfection. *J Med Virol* 1997; 52: 399-405.
401. Hennig H, et al. Frequency and load of hepatitis B virus DNA in first-time blood donors with antibodies to hepatitis B core antigen. *Blood* 2002; 100: 2637-41.

402. Jilg W, et al. Prevalence of markers of hepatitis B in the adult German population. *J Med Virol* 2001; 63: 96-102.
403. Tseliou P, et al. Detection of hepatitis B virus DNA in blood units with anti-HBc as the only positive serological marker. *Haematologia (Budap)* 2000; 30: 159-65.
404. Bart PA, et al. Seroprevalence of HBV (anti-HBc, HBsAg and anti-HBs) and HDV infections among 9006 women at delivery. *Liver* 1996; 16: 110-6.
405. Allain JP, et al. The risk of hepatitis B virus infection by transfusion in Kumasi, Ghana. *Blood* 2003; 101: 2419-25.
406. Kleinman SH, et al. Frequency of HBV-DNA detection in US blood donors testing positive for anti-HBc: implications for transfusion-transmission and donor screening. *Transfusion* 2003; 43: 696-704.
407. Almeida-Neto C, et al. Significance of isolated hepatitis B core antibody in blood donors from Sao Paulo. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 2001; 43: 203-8.
408. Ren F, et al. Studies on hepatitis B virus infection in blood donors with positive anti-HBc and negative HBsAg. *Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi* 1998; 32: 7-9.
409. Sato S, et al. Comparison of the sensitivity of NAT using pooled donor samples for HBV and that of a serologic HBsAg assay. *Transfusion* 2001; 41: 1107-13.
410. Bernvil SS, et al. Hepatitis B core antigen antibody as an indicator of a low grade carrier state for hepatitis B virus in a Saudi Arabian Blood Donor Population. *Trasfus Sci* 1997; 18: 49-53.

411. Silva CM, et al. Low rate of occult hepatitis B virus infection among anti-HBc positive blood donors living in a low prevalence region in Brazil. *J Infect.* 2005; 51: 24-9.
412. Allain JP, et al. Evidence that anti-HBc but not HBV-DNA testing may prevent some HBV transmission by transfusion. *Br J Haematol* 1999; 107: 186-95.
413. Lai ME, et al. Hepatitis B virus DNA in the serum of Sardinian blood donors negative for the hepatitis surface antigen. *Blood* 1989; 73:17-9.
414. Wang JT, et al. Detection of hepatitis B virus DNA by polymerase chain reaction in plasma of volunteer blood donors negative for hepatitis B surface antigen. *J Infect Dis* 1991; 163: 397-9.
415. Iizuka H, et al. Correlation between anti-HBc titers and HBV-DNA in blood units without detectable HBsAg. *Vox Sang* 1992; 63: 107-11.
416. Nagaraju K, et al. High prevalence of HBV infectivity in blood donors detected by the dot-blot hybridization assay. *Vox Sang* 1992; 67:183-6.
417. Lander JJ, et al. Anticore antibody screening of transfused blood. *Vox Sang* 1978; 34: 77-80.
418. Koziol DE, et al. Antibody to hepatitis B core antigen as a paradoxical marker for non-A, non-B hepatitis agents in donated blood. *Ann Intern Med* 1996; 104: 488-95.
419. Sugg U, et al. Antibodies to hepatitis B core antigen in blood donors screened for alanine aminotransferase level and hepatitis non-A, non-B in recipients. *Transfusion* 1988; 28: 386-8.

420. Larsen J, et al. Posttransfusion hepatitis B transmitted by blood from a hepatitis B surface antigen-negative hepatitis B virus carrier. *Transfusion* 1990; 30:431-2.
421. Grob P, et al. Serological pattern "anti-HBc alone": report on a workshop. *J Med Virol* 2000; 62: 450-5.
422. Aoki SK, et al. Significance of antibody to hepatitis B core antigen in blood donors as determined by their serological response to hepatitis B vaccine. *Transfusion* 1993; 33: 362-7.
423. Schiffman RB, et al. Significance of isolated hepatitis B core antibody in blood donors. *Arch Intern Med* 1993; 153: 2261-6.
424. Mosley JW, et al. Donor screening for antibody to hepatitis B core antigen and hepatitis B virus infection in transfusion recipients. *Transfusion* 1995; 35: 5-12.
425. Saraswat S, et al. Post-transfusion hepatitis type B following multiple transfusions of HBsAg-negative blood. *J Hepatol* 1996; 25: 639-43.
426. Allain JP. Occult hepatitis B virus infection: implications in transfusion. *Vox Sang* 2004; 86: 83-91.
427. Allain JP. Occult hepatitis B virus infection. *Transfus Clin Biol* 2004; 11: 18-25.
428. Dickson RC, et al. Transmission of hepatitis B by transplantation of liver from donors positive for antibody to hepatitis B core antigen. The National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases Liver Transplantation Database. *Gastroenterology* 1997; 13: 1668-74.
429. Crespo J, et al. Severe clinical course of de novo hepatitis B infection after liver transplantation. *Liver Transpl Surg* 1999; 5: 275-83.



430. Segovia R, et al. Evidence of serious graft damage induced by de novo hepatitis B virus infection after liver transplantation. *Liver Transpl* 2001; 7: 106-12.
431. Chazouilleres O, et al. Occult hepatitis B virus as a course of infection in liver transplant recipients. *Lancet* 1994; 343: 142-146.
432. Roche B, et al. De novo and apparent de novo hepatitis B virus infection after liver transplantation. *J Hepatol* 1997; 26: 517-26.
433. Prieto M, et al. 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: 51-8.
434. Villamil I, et al. Truly de novo hepatitis B after liver transplantation. *Am J Gastroenterol* 2004; 767-8.
435. Milich DR. T- and B-cell recognition of hepatitis B viral antigens. *Immunol Today* 1988; 9: 380.
436. Wachs ME, et al. The risk of transmission of hepatitis B from HBsAg (-), HBcAg (+), HBIgM (-) organ donors. *Transplantation* 1995; 59: 230-4.
437. Uemoto S, et al. Transmission of hepatitis B virus from hepatitis B core antibody-positive donors in living related liver transplantation. *Transplantation* 1998; 65: 494-9.
438. Chung RT, et al. Approach to the management of allograft recipients following the detection of hepatitis B virus in the prospective organ donor. *Am J Transplant* 2001; 1: 185-91.

439. Ghisetti V, et al. Occult hepatitis B virus infection in HBsAg negative patients undergoing liver transplantation: Clinical significance. *Liver Transpl* 2004; 10: 356-62.
440. Rizzetto M. Transmission of hepatitis B infection from hepatitis B core antibody-positive livers: background and prevention. *Liver Transpl* 2001; 7: 518-20.
441. Todo S, et al. Orthotopic liver transplantation for patients with hepatitis B virus-related liver disease. *Hepatology* 1991; 13: 619-26.
442. Demetris AJ, et al. Evolution of hepatitis B virus liver disease after hepatic replacement. Practical and theoretical considerations. *Am J Pathol* 1990; 137: 667-76.
443. Samuel D, et al. Liver transplantation in European patients with hepatitis B surface antigen. *New Engl J Med* 1993; 329: 1842-7.
444. Marzano A, et al. Prophylaxis of hepatitis B virus infection before liver transplantation, 1990-2001: a single center experience. *Transpl Proc* 2003; 35: 1020-1.
445. Munoz SJ. Use of hepatitis B core antibody-positive donors for liver transplantation. *Liver Transpl* 2002; 8: 82-7.
446. Tai DR, et al. Reappearance of HBsAg with compartmentalized different HBV strains in allograft versus PBMC of the recipient. *J Gastroenterol* 2001; 36: 200-5.
447. Blanpain C, et al. Reactivation of hepatitis B after transplantation in patients with pre-existing anti-hepatitis B surface antigen antibodies: report on three cases and review of the literature. *Transplantation* 1998; 66: 883-6.

448. Duhart JR, et al. Retrospective evaluation of the risk of hepatitis B virus reactivation after transplantation. *Transpl Infect Dis* 2003; 5: 126-31.
449. Grotz W, et al. Occurrence and management of hepatitis B virus reactivation following kidney transplantation. *Clin Nephrol* 1998; 49: 385-8.
450. Kidd-Ljunggren K, et al. Reappearance of hepatitis B 10 years after kidney transplantation. *N Engl J Med* 1999; 341: 127-8.
451. Larghi A, et al. Hepatitis B virus reactivation after kidney transplantation and new onset lymphoma. *J Clin Gastroenterol* 2003; 36: 276-80.
452. Mascellin P, et al. Redevelopment of hepatitis B surface antigen after renal transplantation. *Gastroenterology* 1991; 100: 1432-4.
453. Strasser SI, et al. Hepatitis viruses and hematopoietic cell transplantation. A guide to patient and donor management. *Blood* 1999; 93: 1127-36.
454. Pariente EA, et al. Fulminant hepatitis due to reactivation of chronic hepatitis B virus infection after allogeneic bone marrow transplantation. *Dig Dis Sci* 1988; 33: 1185-91.
455. Schiodt FV, et al. Viral hepatitis-related acute liver failure. *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 448-53.
456. Hytioglou P, et al. Detection of hepatitis B and hepatitis C viral sequences in fulminant hepatic failure of unknown etiology. *Am J Clin Pathol* 1995; 104: 58-93.
457. Wright TL, et al. Hepatitis B virus and apparent fulminant non-A, non-B hepatitis. *Lancet* 1992; 339: 952-5.

458. Multimer D, et al. Failure to incriminate hepatitis B, hepatitis C and hepatitis E viruses in the aetiology of fulminant non-A non-B hepatitis. *Gut* 1995; 36: 433-7.
459. Feray C, et al. Hepatitis C virus RNA and hepatitis B virus DNA in serum and liver of patients with fulminant hepatitis. *Gastroenterology* 1993; 104: 549-55.
460. Sallie R, et al. Occult HBV in NANB fulminant hepatitis. *Lancet* 1993; 341:123.
461. Mason A, et al. Prevalence of herpes-viridae and hepatitis B virus DNA in the liver of patients with non-A, non-B fulminant hepatic failure. *Hepatology* 1996; 24: 1361-5.
462. Inokuchi K, et al. Prevalence of hepatitis B or C virus infection in patients with fulminant viral hepatitis. An analysis using polymerase chain reaction. *J Hepatol* 1996; 24: 258-64.
463. Teo EK, et al. Hepatitis B infection in patients with acute liver failure in the United States. *Hepatology* 2001; 33: 972-6.
464. Aoki M, et al. Clinical significance of a highly sensitive enzyme immunoassay of hepatitis B surface antigen using a novel electron spin resonance technique. *J Med Virol* 2002; 66: 166-70.
465. Iwai K, et al. Fulminant hepatitis B following bone marrow transplantation in an HBsAg-negative, HBsAb-positive recipient; reactivation of dormant virus during the immunosuppressive period. *Bone Marrow Transplant* 2000; 25: 105-8.
466. Fong TL, et al. Persistence of hepatitis B virus DNA in the liver after loss of HBsAg in chronic hepatitis B. *Hepatology* 1993; 18:1313-8.

467. Liaw YF, et al. Incidence, determinants and significance of delayed clearance of serum HBsAg in chronic hepatitis B virus infection: a progressive study. *Hepatology* 1991; 13: 627-631.
468. Perrillo RP, et al. Hepatic histologic and immunohistochemical changes in chronic hepatitis B after prolonged clearance of hepatitis e antigen and hepatitis B surface antigen. *Ann Intern Med* 1991; 115: 113-5.
469. Liaw YF, et al. Spontaneous clearance of hepatitis B surface antigen in chronic hepatitis B virus infection confers a favorable response. *Hepatology* 1999; 29: 296-7.
470. Huo TI, et al. Seroclearance of hepatitis B surface antigen in chronic carriers does not necessarily imply a good prognosis. *Hepatology* 1998; 28: 231-6.
471. Adachi H, et al. Clearance of HBsAg in seven patients with chronic hepatitis B. *Hepatology* 1992; 16: 1334-1337.
472. Komori M, et al. Long-term clinical impact of occult hepatitis B virus infection in chronic hepatitis B patients. *J Hepatol* 2001; 35: 798-804.
473. Chaundhuri V, et al. Hepatitis B virus in seronegative samples. *Antiviral Ther* 2000; 5 (Suppl. 1): B21.
474. Chan HL, et al. Occult HBV Infection in cryptogenic liver cirrhosis in an area with high prevalence of HBV infection. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 1211-5.
475. Lau JY, et al. Treatment of HBV reactivation after withdrawal of immunosuppression. *Lancet* 1991; 337: 802.
476. Hoofnagle JH, et al. Reactivation of chronic hepatitis B virus infection by cancer chemotherapy. *Ann Intern Med* 1982; 96: 447-9.

477. Lok AS, et al. Reactivation of hepatitis B virus replication in patients receiving cytotoxic therapy. Report of a prospective study. *Gastroenterology* 1991; 100: 182-8.
478. Alexopoulos CG, et al. Prevalence of hepatitis B virus marker positivity and evolution of hepatitis B virus profile, during chemotherapy, in patients with solid tumours. *Br J Cancer* 1999; 81: 69-74.
479. Pao CC, et al. Presence of hepatitis B virus DNA in serum of surface-antigen-seronegative immunocompromised patients. *J Clin Microbiol* 1987; 25: 449-51.
480. Chen PM, et al. Reactivation of hepatitis B virus infection in two chronic GVHD patients after transplantation. *Int J Hematol* 1993; 58: 183-8.
481. Lau GK, et al. Persistence of hepatic hepatitis B virus after serological clearance of HBsAg with autologous peripheral stem cell transplantation. *J Clin Pathol* 1997; 50: 706-8.
482. Rutsgi V, et al. Hepatitis B infection in the acquired immunodeficiency syndrome. *Ann Intern Med* 1984; 101: 795-7.
483. Bessesen M, et al. Chronic active hepatitis exacerbation in human immunodeficiency virus-infected patients following development of resistance to or withdrawal of lamivudine. *Clin Infect Dis* 1999; 28: 1032-5.
484. Altfeld M, et al. Reactivation of hepatitis B in a long-term anti-HBs-positive patient with AIDS following lamivudine withdrawal. *J Hepatol* 1998; 29: 306-9.

485. Neau D, et al. Hepatitis B exacerbation with a precore mutant virus following withdrawal of lamivudine in a human immunodeficiency virus-infected patient. *J Infect* 2000; 41: 192-4.
486. Gandhi RT, et al. Isolated antibody to hepatitis B core antigen in human immunodeficiency virus type-1-infected individuals. *Clin Infect Dis* 2003; 36: 1602-5.
487. Chamorro AJ, et al. Reactivation of hepatitis B in an HIV-infected patient with antibodies against hepatitis B core antigen as the only serological marker. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2005; 24: 492-4.
488. Brechot C, et al. Impact of HBV, HCV and GB-GHGV on hepatocellular carcinoma in Europe: results of a European concerted action. *J Hepatol* 1998; 29: 173-83.
489. Sheu JC, et al. Hepatitis C and B viruses in hepatitis B surface antigen-negative hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 1992; 103: 1322-7.
490. Paterlini P, et al. Persistence of hepatitis B and hepatitis C viral genomes in primary liver cancers from HBsAg-negative patients: a study of a low-endemic area. *Hepatology* 1993; 17: 20-9.
491. Coursaget P, et al. Detection of hepatitis B virus DNA by polymerase chain reaction in HBsAg negative patients suffering from cirrhosis or primary liver cancer. *EEMS Microbiol Lett* 1991; 67: 35-8.
492. Enriquez J, et al. Demonstration of HCV-RNA and HBV-DNA in the serum of HBsAg negative patients with hepatocellular carcinoma. *Eur J Epidemiol* 1994; 10: 189-94.

493. Yu MC, et al. Presence of antibodies to the hepatitis B surface antigen is associated with an excess risk for hepatocellular carcinoma among non-Asians in Los Angeles County, California *Hepatology* 1997; 25: 226-8.
494. Michalak TI, et al. Occult lifelong persistence of infectious hepadnavirus and residual liver inflammation in woodchucks convalescent from acute viral hepatitis. *Hepatology* 1999; 29: 928-38.
495. Brechot C, et al. Persistent hepatitis B virus infection in subjects without hepatitis B surface antigen: clinically significant or purely "occult"? *Hepatology* 2001; 34: 194-203.
496. Kannangai R, et al. Occult hepatitis B viral DNA in liver carcinomas from a region with a low prevalence of chronic hepatitis B infection. *J Viral Hepat* 2004; 11: 297-301.
497. Shiota G, et al. Occult hepatitis B virus infection in HBs antigen-negative hepatocellular carcinoma in a Japanese population: involvement of HBx and p53. *J Med Virol* 2000; 62: 151-8.
498. Henkler F, et al. Hepatitis B virus transcriptional activators: mechanisms and possible role in oncogenesis. *J Viral Hepat* 1996; 3: 109-21.
499. Lara-Pezzi E, 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.
500. Kim CM, et al. HBx gene of hepatitis B virus induces liver cancer in transgenic mice. *Nature* 1991; 351: 317-320.
501. Feitelson M, et al. Hepatitis B X antigen and p53 are associated in vitro and liver tissues from patients with primary hepatocellular carcinoma. *Oncogene* 1993; 8: 1109-1117.



502. Wang XW, et al. Molecular pathogenesis of human hepatocellular carcinoma. *Toxicology* 2002; 181-182: 43-47.
503. Chen GB, et al. Prevalence of anti-HCV antibodies in patients with chronic liver disease and its relationship to HBV and HDV infections. *Infection* 1990; 18: 277-9.
504. Lee DS, et al. HCV and HBV coexist in HBsAg-negative patients with HCV viraemia: possibility of coinfection in these patients must be considered in HBV-high endemic area. *J Gastroenterol Hepatol* 1997; 12: 855-61.
505. Zarski JP, et al. Characteristics of patients with dual infection by hepatitis B and C viruses. *J Hepatol* 1998; 28: 27-33.
506. Pontisso P, et al. Coinfection by hepatitis B virus and hepatitis C virus. *Antivir Ther* 1998; (Suppl 3): 137-42.
507. Villa E, et al. High doses of alpha-interferon are required in chronic hepatitis due to coinfection with hepatitis B and hepatitis C virus: long term results of a prospective randomized trial. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 2973-7.
508. Weltman MD, et al. Coinfection with hepatitis B and C or B, C and delta viruses results in severe chronic liver disease and responds poorly to interferon-alpha treatment. *J Viral Hepat* 1995; 2: 39-45.
509. Chiaramonte M, et al. Rate of incidence of hepatocellular carcinoma in patients with compensated viral cirrhosis. *Cancer* 1999; 85: 2132-7.
510. Koike K, et al. Hepatitis B virus DNA is frequently found in liver biopsy samples from hepatitis C virus-infected chronic hepatitis patients. *J Med Virol* 1998; 54: 249-55.

511. Fukuda R, 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: 220-7.
512. Villa E, et al. Evidence for hepatitis B virus infection in patients with chronic hepatitis C with and without serological markers of hepatitis B. *Dig Dis Sci* 1995; 40: 8-13.
513. Hui CK, et al. Fibrosis progression in chronic hepatitis C patients with occult hepatitis B co-infection. *J Clin Virol* 2006; 35: 185-92.
514. Nirei K, et al. 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.
515. Jilg W, et al. Individuals with antibodies against hepatitis B core antigen as the only serological marker for hepatitis B infection: high percentage of carriers of hepatitis B and C virus. *J Hepatol* 1995; 23: 14-20.
516. Fabris P, et al. Occult hepatitis B virus infection does not affect liver histology or response to therapy with interferon alpha and ribavirin in intravenous drug users with chronic hepatitis C. *J Clin Virol* 2004; 29: 160-6.
517. Stransky J, et al. Overt and hidden co-infection with hepatitis B and C viruses in chronic liver disease and porphyria cutanea tarda. *Acta Virol* 2000; 44: 23-28.
518. Fujiwara K, et al. Lack of association between occult hepatitis B virus DNA viral load and aminotransferase levels in patients with hepatitis C

- virus-related chronic liver disease. *J Gastroenterol Hepatol* 2004; 19: 1343–1347.
519. Sagnelli E, et al. HCV genotype and «silent» HBV coinfection: two main risk factors for a more severe liver disease. *J Med Virol* 2001; 64: 350-5.
520. Kao JH, et al. Occult hepatitis B virus infection and clinical outcomes of patients with chronic hepatitis C. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 4068-71.
521. Silva C, et al. The influence of occult infection with hepatitis B virus on liver histology and response to interferon treatment in chronic hepatitis C patients. *Braz J Inf Dis* 2004; 8: 431-9.
522. Zignego AL, et al. Relevance of inapparent coinfection by hepatitis B virus in alpha interferon treated patients with hepatitis C virus chronic hepatitis. *J Med Virol* 1997; 51: 313-8.
523. Hasegawa I, et al. Impact of occult hepatitis B virus infection on efficacy and prognosis of interferon- $\alpha$  therapy for patients with chronic hepatitis C. *Liver Int* 2005; 25: 247–253.
524. Khattab E, et al. Analysis of HCV co-infection with occult hepatitis B virus in patients undergoing IFN therapy. *J Clin Virol* 2005; 33: 150–157.
525. Giannini E, 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: 12-8.
526. De Maria N, et al. The impact of previous HBV infection on the course of chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 3529-36.

527. Porchon C, 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: 184-9.
528. Torbenson M, et al. High prevalence of occult hepatitis B in Baltimore injection drug users. *Hepatology* 2004; 39: 51-7.
529. Besisik F, et al. Occult HBV infection and YMDD variants in hemodialysis patients with chronic HCV infection. *J Hepatol.* 2003; 38: 506-10.
530. Torbenson M, et al. Occult hepatitis B. *Lancet Infect Dis* 2002; 2: 479-86.
531. Tsai JF, et al. Effect of hepatitis C and B virus infection on risk of hepatocellular carcinoma: a prospective study. *Br J Cancer* 1997; 76: 968-74.
532. Marusawa H, et al. High prevalence of anti-hepatitis B virus serological markers in patients with hepatitis C virus related chronic liver disease in Japan. *Gut* 1999; 45; 284-8.
533. Kubo S, et al. Clinical significance of prior hepatitis B virus infection in patients with hepatitis C virus-related hepatocellular carcinoma. *Cancer* 1999; 86: 793-8.
534. Shiratori Y, et al. Does dual infection by hepatitis B and C viruses play an important role in the pathogenesis of hepatocellular carcinoma in Japan? *Cancer* 1997; 80: 2060-7.
535. Kubo S, et al. Development of hepatocellular carcinoma in patients with HCV infection, with or without past HBV infection and relationship to age at the time of transfusion. *Vox Sang* 1998; 74: 129.

## ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

### ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΗΣ ΛΑΝΘΑΝΟΥΣΑΣ ΙΑΙΜΙΑΣ ΑΠΟ ΤΟΝ ΙΟ ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ Β ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΧΡΟΝΙΑ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ C

## 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο ιός της ηπατίτιδας Β (HBV) και ο ιός της ηπατίτιδας C (HCV) θεωρούνται οι πιο συχνές αιτίες χρόνιας ηπατικής νόσου παγκοσμίως. Η κύρια οδός μετάδοσης των δύο ιών γίνεται παρεντερικά και οι παράγοντες κινδύνου για την μετάδοση αυτών είναι παρόμοιοι. Έτσι, η συν-λοίμωξη από τον HCV και τον HBV δεν είναι σπάνια, ιδιαίτερα μάλιστα σε ενδημικές περιοχές (1-3). Η ενεργός συν-λοίμωξη από τον HBV και τον HCV έχει συνδεθεί, σε πολλές μελέτες, με βαρύτερη ηπατική νόσο, αυξημένη πιθανότητα ανάπτυξης ηπατοκυτταρικού καρκινώματος και αντίσταση στη θεραπεία με α-ιντερφερόνη (2-7). Διάφορες μελέτες έχουν δείξει, επιπλέον, την παρουσία HBV-DNA στον ορό και/ή στο ήπαρ ασθενών με αρνητικούς ορολογικούς δείκτες και/ή κρυψιγενή ηπατίτιδα, κίρρωση ή ηπατοκυτταρικό καρκίνο με συχνότητα που κυμαίνεται από 14 έως 85% (8-13). Επιπρόσθετα, το ποσοστό ανίχνευσης του HBV-DNA με αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR) στον ορό και/ή στο ήπαρ ασθενών με χρόνια ηπατίτιδα C, οι οποίοι είναι αρνητικοί για το αντιγόνο επιφανείας του HBV (HBsAg) κυμαίνεται από 0 έως 95% (1,9,14-36).

Σύμφωνα με την Ευρωπαϊκή Εταιρεία Μελέτης του Ήπατος (EASL) ως «λανθάνουσα» ηπατίτιδα Β ορίζεται η παρουσία HBV-DNA στον ορό ή στο ήπαρ ασθενών με αρνητικό HBsAg (37). Εντούτοις, η κλινική σημασία της λανθάνουσας λοίμωξης από τον HBV στην εξέλιξη της χρόνιας ηπατίτιδας C παραμένει ασαφής (38,39): διάφορες μελέτες (4,13,16,20,28,35) αλλά όχι όλες (14,23,29,34) συσχετίζουν τη λανθάνουσα ηπατίτιδα Β με βαρύτερη ηπατική νόσο σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C. Επιπλέον, η συχνότητα της λανθάνουσας ηπατίτιδας Β στην χρόνια ηπατίτιδα C παρουσιάζει ευρεία

διακύμανση από μηδενική έως πολύ υψηλή συχνότητα (14,15,16,21,23,29,34,35,38,39).

Βασιζόμενοι στις παραπάνω παρατηρήσεις, μελετήσαμε την συχνότητα και τη σημασία της ύπαρξης λανθάνουσας λοίμωξης από τον HBV σε ένα μεγάλο μη επιλεγμένο δείγμα διαδοχικών ασθενών με χρόνια ηπατίτιδα C από την Κεντρική Ελλάδα, περιοχή με ενδιάμεση ενδημικότητα για τον HBV, καθώς δεν υπάρχει καμία παρόμοια πληροφορία για τον Ελλαδικό χώρο. Την ομάδα ελέγχου της μελέτης μας αποτέλεσαν ασθενείς με διάφορα άλλα μη ιογενή ηπατικά νοσήματα (αυτοάνοσα νοσήματα ήπατος, αλκοολική ηπατοπάθεια, μη αλκοολική λιπώδη διήθηση και/ή στεατοηπατίτιδα, κλπ) καθώς και υγιείς αιμοδότες που ήταν αρνητικοί για HBsAg και το anti-HCV. Για την εκτίμηση της κλινικής σημασίας της «λανθάνουσας» ηπατίτιδας B στην εξέλιξη της χρόνιας ηπατίτιδας C η παρουσία του HBV-DNA συσχετίστηκε, επιπλέον, με δημογραφικά, επιδημιολογικά, κλινικά, εργαστηριακά, ιολογικά και ιστολογικά δεδομένα των ασθενών με χρόνια λοίμωξη από τον HCV καθώς και με την ανταπόκριση στη θεραπεία εκείνων των ασθενών που έλαβαν αντιική αγωγή με α-ιντερφερόνη.

## 2. ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

### 2.1 Ασθενείς (Πίνακας 1)

#### 2.1.1. Ασθενείς με χρόνια λοίμωξη από τον HCV

Εκατόν ενενήντα έξι διαδοχικοί ασθενείς (93 άνδρες και 103 γυναίκες, με μέση ηλικία 47 έτη, εύρος 17-83 έτη) με καλά τεκμηριωμένη χρόνια λοίμωξη από τον HCV, οι οποίοι δεν ελάμβαναν αντι-ιική θεραπεία τουλάχιστο για 6-12 μήνες πριν την είσοδό τους στη μελέτη, εξετάστηκαν για την παρουσία στον ορό τους HBV-DNA. Η μέση διάρκεια της λοίμωξης ήταν  $3.9 \pm 3.9$  έτη (μέση τιμή  $\pm$  σταθερή απόκλιση, mean  $\pm$  SD).

Οι ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C, που συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη κατατάχθηκαν σε τρεις ομάδες: i) ασθενείς με φυσιολογικές τιμές αμινοτρανσφερασών τουλάχιστο ανά μήνα για έξι μήνες πριν την είσοδό τους στη μελέτη (n=47), ii) ασθενείς με παθολογική ηπατική βιοχημεία τουλάχιστο για έξι μήνες πριν την είσοδό τους στη μελέτη, με ιστολογικά, ιολογικά και βιοχημικά αποδεδειγμένη χρόνια λοίμωξη από τον HCV (n=112) και iii) ασθενείς με HCV-σχετιζόμενη κίρρωση με ή χωρίς ανάπτυξη πυλαίας υπέρτασης (n=37).

Η διάγνωση της χρόνιας λοίμωξης από τον HCV έγινε σύμφωνα με τα κριτήρια του EASL (EASL International Consensus criteria) (40). Εν συντομία, οι ασθενείς που συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη πληρούσαν τα παρακάτω κριτήρια: α) ορολογική απόδειξη χρόνιας λοίμωξης από τον HCV όπως αυτή ορίζεται από την ανίχνευση αντισωμάτων εναντίον του ιού (αντι-HCV) με ανοσοενζυμική μέθοδο δεύτερης ή τρίτης γενεάς (Murex Diagnostics, Temple Hill, Dartford, UK), τουλάχιστον δύο φορές μέσα σε έξι μήνες πριν από την



**Πίνακας 1. Χαρακτηριστικά των ασθενών της μελέτης**

	HCV ασθενείς (n=196)	Ομάδα ελέγχου (n=100)
Φύλο (Α/Γ)	93/103	45/55
Ηλικία (μέση/εύρος, έτη)	46.8/ 17-83	50.2/ 15-82
Διάρκεια νόσου (έτη)	3.9 ± 3.9	3.8 ± 5.2
Χρόνια HCV λοίμωξη με κφ AST/ ALT	47	
Χρόνια ηπατίτιδα C	112	
Κίρρωση	37	23
Πηγή λοίμωξης		
μετάγγιση πριν το 1990	52	
IV χρήση ναρκωτικών	51	
αιμοκάθαρση	2	
πολλαπλές νοσηλείες	3	
πολλαπλοί ερωτικοί σύντροφοι	7	
μέλος οικογένειας με HCV λοίμωξη	6	
ατύχημα με βελόνη	4	
άγνωστη	64	
Εξωηπατικές εκδηλώσεις (ναι/όχι)	7/196	
Ιστορικό εγχειρήσεων (ναι/όχι)	142/54	
Τατουάζ (ναι/όχι)	27/168	
Ιστορικό ενέσεων με κοινόχρηστες βελόνες (ναι/όχι)	105/87	
Ιστορικό παραδοσιακών τεχνικών (ναι/όχι)	73/119	
Κατάχρηση αλκοόλ (ναι/όχι)	53/141	
Λήψη άλλων φαρμάκων (ναι/όχι)	64/99	
Συμπτώματα κατά τη διάγνωση (ναι/όχι)	46/149	
Ιστολογικά δεδομένα (ναι/όχι)	107/90	
ελάχιστη/ήπια φλεγμονή	57	
μέτρια/σοβαρή φλεγμονή	50	
καμία ή ήπια ίνωση	47	
μέτρια ή σοβαρή ίνωση	60	
Γονότυπος HCV (1b/non 1b)	60/52	
Θεραπεία (ναι/όχι)	51/145	
Αυτοάνοσο νόσημα ήπατος		50
Αλκοολική νόσος ήπατος		18
Μη αλκοολική νόσος ήπατος		16
Διάφορα ηπατικά νοσήματα		16

A: άνδρας, Γ: γυναίκα, AST: ασπαραγική αμινοτρανσφεράση, ALT: αλανινοαμινοτρανσφεράση

είσοδο στη μελέτη, β) ενεργό πολλαπλασιασμό του ιού όπως ορίζεται από την ανίχνευση HCV-RNA με τη χρήση της μεθόδου της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR, Cobas Amplicor HCV Monitore test, Roche) ή με τη μέθοδο τροποποιημένης ενίσχυσης του προϊόντος μεταγραφής (transcription mediated amplification, TMA, Bayer). Όλοι οι ασθενείς ήταν αρνητικοί για αντισώματα έναντι του HIV (αντι-HIV) (Abbott Laboratories, Wiesbaden, Germany), το αντιγόνο επιφάνειας του HBV (HBsAg), το VDRL test, και την άμεση αντίδραση Coombs.

Η πιθανή πηγή λοίμωξης φαίνεται στον Πίνακα 1. Αναλυτικότερα, 52 ασθενείς είχαν ιστορικό τουλάχιστον μιας μετάγγισης πριν το 1990, 51 ασθενείς ήταν χρήστες ενδοφλεβίων ναρκωτικών ουσιών στο παρελθόν, 2 ασθενείς βρισκόταν σε πρόγραμμα χρόνιας αιμοκάθαρσης, 3 ασθενείς είχαν ιστορικό πολλαπλών εισαγωγών σε νοσοκομεία χωρίς ιστορικό μετάγγισης, 4 ασθενείς είχαν ιστορικό πολλαπλών επισκέψεων σε οδοντίατρο στο παρελθόν (περισσότερων από 15 φορές το χρόνο). Επιπλέον, 7 ασθενείς ανέφεραν ετεροφυλοφιλικές σχέσεις με πολλαπλούς ερωτικούς συντρόφους, ενώ 9 ασθενείς ανέφεραν ότι και άλλο μέλος της οικογένειας είχε γνωστή λοίμωξη από τον HCV. Τέσσερις ασθενείς εργάζονταν σε χώρους παροχής υπηρεσιών υγείας και ανέφεραν τρύπημα από βελόνα στο παρελθόν. Οι υπόλοιποι 64 ασθενείς δεν ανέφεραν προφανή αιτία μόλυνσης από τον HCV (άγνωστη πηγή μόλυνσης). Για λόγους στατιστικής ανάλυσης, οι ασθενείς χωρίστηκαν σε δυο κύριες ομάδες ως προς την πηγή μόλυνσης: α) εκείνοι με βέβαιη πηγή μόλυνσης (103 από τους 196 ασθενείς) (ως βέβαιες πηγές λοίμωξης θεωρήθηκαν: η μετάγγιση/μεταγγίσεις, η χρήση ενδοφλέβιων ναρκωτικών ουσιών και η αιμοκάθαρση) και β) εκείνοι με αβέβαιη πηγή λοίμωξης (93 από

τους 196 ασθενείς). Ακόμα, επειδή οι χρήστες ενδοφλέβιων ναρκωτικών ουσιών αποτελούν ιδιαίτερη ομάδα, οι ασθενείς χωρίστηκαν ανάλογα με τη χρήση ή όχι ναρκωτικών ουσιών α) στους χρήστες (51 από τους 196 ασθενείς) και β) στους μη χρήστες (145 από τους 196 ασθενείς).

Στην στατιστική ανάλυση συμπεριλήφθησαν ορισμένοι επιδημιολογικοί και δημογραφικοί παράγοντες όπως: το ιστορικό εγχειρήσεων, η ύπαρξη ή διενέργεια τατουάζ, ιστορικό ενέσεων με κοινόχρηστες βελόνες, ιστορικό παραδοσιακών πρακτικών (όπως βελονισμός ή βεντούζες) και τέλος η κατάχρηση οινόπνεύματος. Από το ιατρικό ιστορικό κάθε ασθενούς σημειώθηκε η παρουσία ή όχι μη ειδικών συμπτωμάτων (καταβολή, μυαλγίες, αρθραλγίες) κατά τη διάγνωση της λοίμωξης, καθώς και εξωηπατικών εκδηλώσεων σχετιζόμενων με την ηπατίτιδα C. Έτσι, καταγράφηκε η ύπαρξη εξωηπατικών εκδηλώσεων, όπως: δερματικές εκδηλώσεις (φαινόμενο Raynaud, αγγειίτιδα, πορφύρα, ομαλός λειχήνας, ψωρίαση, όψιμη δερματική πορφυρία), ρευματολογικές εκδηλώσεις (αρθρίτιδα, μυοσίτιδα, σύνδρομο Sicca, σύνδρομο Sjögren), νευρολογικές εκδηλώσεις (περιφερική αισθητική και/ή κινητική νευροπάθεια, εκδηλώσεις από το κεντρικό νευρικό σύστημα), νεφρική συμμετοχή (σπειραματονεφρίτιδα), ιστορικό B-κυτταρικού μη-Hodgkin λεμφώματος, ιστορικό θρομβωτικών επεισοδίων αρτηριών και/ή φλεβών, καθώς και ιστορικό καθ'έξιν αποβολών (δύο ή περισσότερες). Έτσι, 2 ασθενείς έπασχαν από σύνδρομο Sjögren εκ των οποίων ο ένας έπασχε και από κλινικώς έκδηλη κρουοσφαιριναιμία. Ένας ασθενής έπασχε από σύνδρομο Sicca. Δυο ασθενείς έπασχαν από σπειραματονεφρίτιδα, ένας από κλινικώς έκδηλη κρουοσφαιριναιμία και ένας από όψιμη δερματική πορφυρία. Ως σαφείς εξωηπατικές εκδηλώσεις σχετιζόμενες με τη λοίμωξη από τον HCV

θεωρήθηκαν οι εκδηλώσεις της μεικτής κρουσφαιριναιμίας, η σπειραματονεφρίτιδα, το σύνδρομο Sicca και/ή Sjogren, καθώς και η οζώδης πολυαρθρίτιδα (41). Για στατιστικούς λόγους οι ασθενείς χωρίστηκαν σε δυο ομάδες: α) HCV ασθενείς με εξωηπατικές εκδηλώσεις σαφώς σχετιζόμενες με τη λοίμωξη (7 από του 196 ασθενείς) και β) HCV ασθενείς χωρίς εξωηπατικές εκδηλώσεις (189 από τους 196).

Τα επίπεδα της ασπαρτικής αμινοτρανσφεράσης (AST), της αλανινοαμινοτρανσφεράσης (ALT), της αλκαλικής φωσφατάσης (ALP), της γ-γλουταμυλικής-τρανσπεπτιδάσης (γGT), και των γ-σφαιρινών και αλβουμίνης προσδιορίστηκαν σε αυτόματους αναλυτές. Σύμφωνα με προηγούμενες μελέτες μας (42-45) η παρουσία θρομβοπενίας ορίστηκε ως τιμή αιμοπεταλίων κάτω των  $140000/\text{mm}^3$ . Οι ορολογικοί δείκτες της λοίμωξης από τον HBV προσδιορίστηκαν χρησιμοποιώντας εμπορικά διαθέσιμες ανοσοενζυμικές μεθόδους τρίτης γενεάς (Abbott GmbH Diagnostika, Wiesbaden-Delkenheim, Germany). Ο γονότυπος του HCV προσδιορίστηκε σε 112 από τους 196 ασθενείς μετά από υβριδισμό του προϊόντος PCR σε λωρίδες νιτροκυταρίνης (Innolipa, HCV III Innogenetics), ενώ ποσοτικός προσδιορισμός του HCV-RNA έγινε στους 113 από τους 196 ασθενείς (PCR, Cobas Amplicor HCV Monitore test, Roche).

Ιστολογικά δεδομένα υπήρχαν για τους 107 από τους 196 ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C. Η ιστολογική εκτίμηση της φλεγμονής και ίνωσης έγινε σύμφωνα με το δείκτη ιστολογικής δραστηριότητας Knodell (46). Η φλεγμονώδης δραστηριότητα κατά Knodell βαθμοποιείται από 0-18 με βάση το βαθμό της πυλαίας, περιπυλαίας, και λοβιακής φλεγμονής, ενώ η ίνωση βαθμοποιείται ως: 0 (χωρίς ίνωση), 1 (πυλαία ίνωση), 2 (πυλαία ίνωση με

σχηματισμό ινωδών διαφραγμάτων), 3 (γεφυροποιός ίνωση), 4 (κίρρωση) (46). Όπως και σε προηγούμενες μελέτες της ομάδας μας (42-45), οι ασθενείς χωρίστηκαν για στατιστικούς λόγους σε δύο ομάδες όσον αφορά στη φλεγμονή: α) ελάχιστη/ήπια (score: 0-8) (57 ασθενείς) και β) μέτρια/σοβαρή (score: 9-18) (50 ασθενείς) και σε δύο ομάδες όσον αφορά στην ίνωση α) καθόλου/ήπια (score: 0-1) (47 ασθενείς) και β) μέτρια/σοβαρή (score: 2-4) (60 ασθενείς).

Τέλος κατά τη στιγμή γραψίματος αυτής της μελέτης, 51 από τους 196 HCV-ασθενείς είχαν λάβει πλήρη αντιική αγωγή με α-ιντερφερόνη (μόνη ή σε συνδυασμό με ριμπαβιρίνη). Η ανταπόκριση στη θεραπεία (βιοχημική, ιολογική και ιστολογική) αξιολογήθηκε τόσο στο τέλος της αγωγής (EOT, end of treatment), όσο και στους 6 μήνες μετά το τέλος της αγωγής (EOF, end of follow-up) σε όσους ασθενείς υπήρχαν διαθέσιμα στοιχεία.

### **2.1.2. Ομάδα ελέγχου**

Παράλληλα με τους 196 ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C ελέχθησαν για την παρουσία HBV-DNA στον ορό εκατό ασθενείς με διάφορα μη ιογενή ηπατικά νοσήματα, οι οποίοι δεν ελάμβαναν ανοσοκατασταλτική θεραπεία τουλάχιστον για έξι μήνες πριν από την είσοδό τους στη μελέτη (45 άνδρες και 55 γυναίκες με μέση ηλικία 50 έτη, εύρος 15-82 έτη). Η μέση διάρκεια της νόσου ήταν  $3.8 \pm 5.2$  έτη (μέση τιμή  $\pm$  σταθερή απόκλιση, mean  $\pm$  SD). Είκοσι τρεις από αυτούς είχαν κίρρωση κατά την είσοδο τους στη μελέτη. Αναλυτικά, 50 ασθενείς έπασχαν από αυτοάνοσο νόσημα του ήπατος ήτοι: 16 είχαν αυτοάνοση ηπατίτιδα (ΑΗ), 17 πρωτοπαθή χολική κίρρωση (ΠΧΚ), 16 πρωτοπαθή σκληρυντική χολαγγειίτιδα (ΠΣΧ) και ένας ασθενής σύνδρομο

αλληλεπικάλυψης ΑΗ-ΠΧΚ. Επιπλέον, 18 από τους 100 ασθενείς έπασχαν από αλκοολική ηπατοπάθεια, 16 ασθενείς από μη αλκοολική στεατοηπατίτιδα και 16 ασθενείς από διάφορα άλλα ηπατικά νοσήματα (3 είχαν νόσο του Wilson, 2 ασθενείς είχαν σύνδρομο Budd-Chiari, 1 ασθενής είχε ηπατική πελίωση, 6 αδιευκρίνιστα χολοστατικά σύνδρομα, 4 υψηλές αμινοτρανσφεράσες άγνωστης αιτιολογίας). Όλοι οι ασθενείς της ομάδας ελέγχου ήταν αρνητικοί για αντι-HIV αντισώματα και το HBsAg.

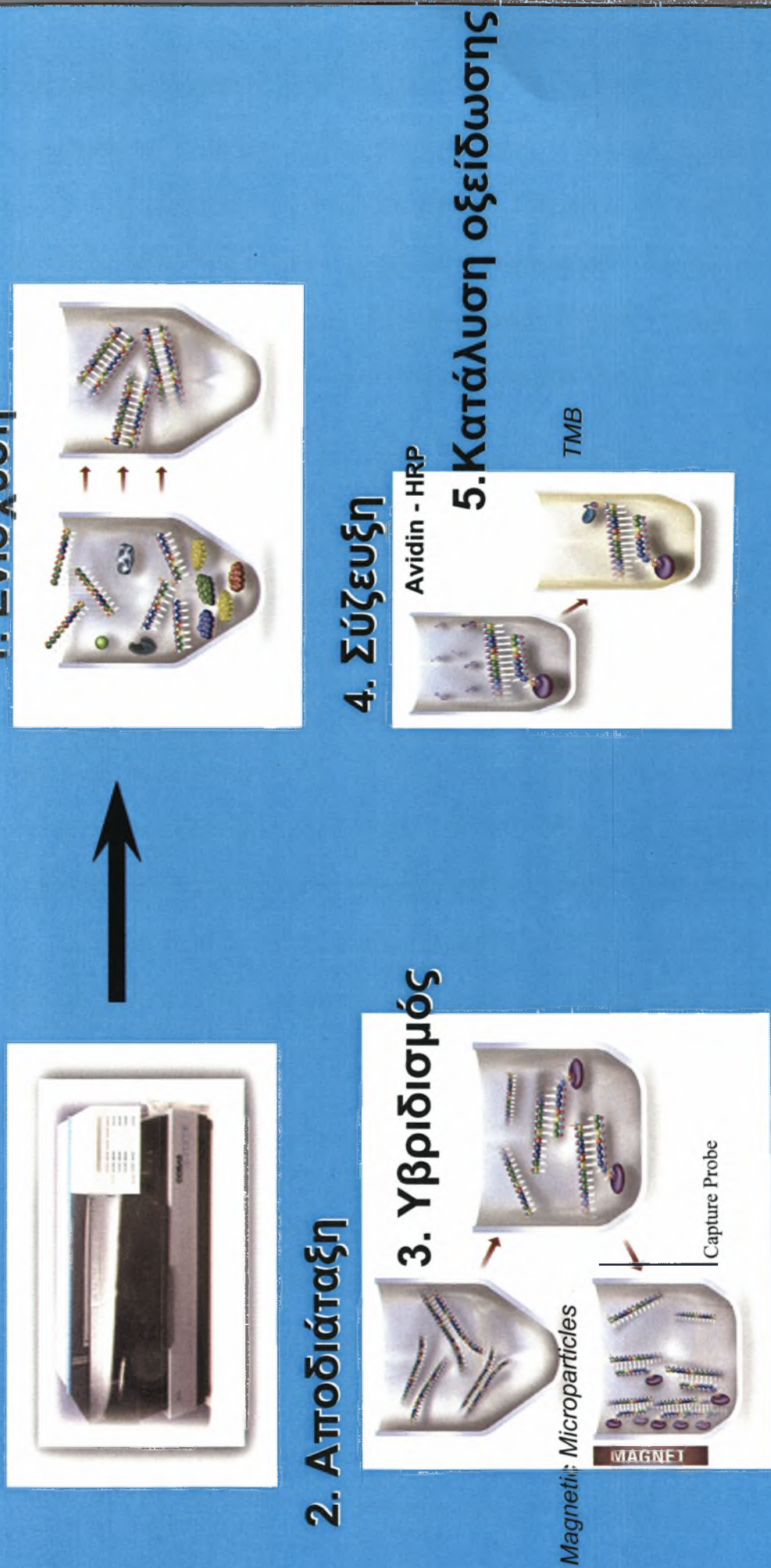
### **2.1.3. Υγιείς αιμοδότες**

Επιπρόσθετα, μελετήθηκαν για την παρουσία HBV-DNA στον ορό 282 υγιείς αιμοδότες με ανάλογα χαρακτηριστικά όσον αφορά στην ηλικία και το φύλο με τις ομάδες ελέγχου. Όλοι οι αιμοδότες ήταν αρνητικοί για τα αντι-HIV και το HBsAg, αλλά θετικοί για το αντίσωμα αντι-HBc (μόνο ή σε συνδυασμό με την παρουσία αντισωμάτων αντι-HBe και/ή αντισωμάτων αντι-HBs σε χαμηλούς τίτλους <20 mU/ml).

## 2.2. Ανίχνευση HBV-DNA (Σχήμα 1)

Η ανίχνευση του HBV-DNA πραγματοποιήθηκε με εμπορικά διαθέσιμη μέθοδο PCR (Cobas Amplicor HBV Monitor, Roche) σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή. Εν συντομία το Cobas Amplicor HBV Monitor test είναι μια in vitro δοκιμασία ενίσχυσης νουκλεϊκού οξέος για την ποσοτικοποίηση του DNA του HBV στο ανθρώπινο πλάσμα και στον ορό αίματος με τη χρήση τελικά του Cobas Amplicor αναλυτή. Η εξέταση μπορεί να ποσοτικοποιήσει HBV-DNA σε εύρος 200 έως 200.000 HBV-DNA αντίγραφα/ml. Για τον προσδιορισμό μεγαλύτερων συγκεντρώσεων HBV-DNA απαιτείται αραιώση των προς μέτρηση δειγμάτων.

Το Cobas Amplicor HBV Monitor test βασίζεται σε τέσσερις κύριες διαδικασίες: i) προετοιμασία δείγματος, ii) ενίσχυση με PCR του DNA στόχου με τη χρήση ειδικών για το HBV συμπληρωματικών εκκινητών, iii) υβριδισμό των ενισχυμένων προϊόντων σε ολιγονουκλεοτιδικούς ιχνηθέτες ειδικών για το στόχο(ους) και iv) ανίχνευση των δεσμευμένων στον ιχνηθέτη ενισχυμένων προϊόντων με χρωματομετρικό προσδιορισμό. Η μέθοδος αυτή επιτρέπει την ταυτόχρονη ενίσχυση PCR του HBV και του DNA προτύπου ποσοτικοποίησης HBV. Το αντιδραστήριο κύριου μείγματος περιέχει ένα ζεύγος εκκινητών ειδικών τόσο για το HBV-DNA στόχου όσο και για το DNA προτύπου ποσοτικοποίησης HBV. Η ποσοτικοποίηση του ιικού DNA του HBV εκτελείται με τη χρήση του προτύπου ποσοτικοποίησης HBV. Το πρότυπο ποσοτικοποίησης HBV είναι ένα μη μολυσματικό γραμμικοποιημένο πλασμίδιο που περιέχει τις ίδιες ακριβώς περιοχές δέσμευσης εκκινητή με το HBV-DNA στόχο και μια μοναδική περιοχή δέσμευσης ιχνηθέτη που επιτρέπει διαχωρισμό του κλώνου (amplicon) του προτύπου ποσοτικοποίησης HBV





από τον κλώνο (amplicon) του HBV στόχου. Το πρότυπο ποσοτικοποίησης HBV ενσωματώνεται σε κάθε μεμονωμένο δείγμα σε ένα γνωστό αριθμό αντιγράφων και μεταφέρεται κατά την προετοιμασία δείγματος, την ενίσχυση PCR, τον υβριδισμό και την ανίχνευση μαζί με τον HBV στόχο. Ο αυτόματος αναλυτής υπολογίζει τα επίπεδα HBV-DNA στα δείγματα εξέτασης συγκρίνοντας το σήμα HBV στόχου με το σήμα προτύπου ποσοτικοποίησης HBV για κάθε δείγμα.

Παρακάτω περιγράφονται, διεξοδικότερα, οι τέσσερις κύριες φάσεις της μεθόδου:

Προετοιμασία δείγματος: Το HBV-DNA απομονώνεται απευθείας από τον ορό ή το πλάσμα με λύση των καθιζημένων σωματιδίων του ιού χρησιμοποιώντας ένα αλκαλικό διάλυμα, μετά από εξουδετέρωση και κατακρήμνιση της πολυαιθυλενικής γλυκόλης (PEG), για την παροχή των κατάλληλων συνθηκών ρυθμιστικού διαλύματος. Σε κάθε δείγμα εισάγεται ένας γνωστός αριθμός μορίων DNA προτύπου ποσοτικοποίησης HBV με το αντιδραστήριο «λύσης». Το πρότυπο ποσοτικοποίησης εκτελείται κατά τα βήματα της προετοιμασίας δείγματος, της ενίσχυσης, του υβριδισμού και της ανίχνευσης και χρησιμοποιείται για την ποσοτικοποίηση του HBV-DNA στο δείγμα εξέτασης.

Ενίσχυση PCR: α) *Επιλογή στόχου:* Η επιλογή της αλληλουχίας DNA-στόχου για το HBV εξαρτάται από τον εντοπισμό των περιοχών εντός του γονιδιώματος HBV που επιδεικνύουν μέγιστο βαθμό διατήρησης αλληλουχίας στο επίπεδο DNA μεταξύ όλων των γονοτύπων. Η ορθή επιλογή εκκινήτων και ιχνηθέτη είναι αποφασιστικής σημασίας για τη δυνατότητα της εξέτασης να ανιχνεύσει τους κλινικά σχετικούς γονότυπους του HBV. Μια περιοχή του εν

μέρει μονόκλωνου, κυκλικού γονιδιώματος DNA του HBV έχει επιδείξει μέγιστη διατήρηση της αλληλουχίας DNA μεταξύ των γνωστών γονοτύπων HBV. Το Cobas Amplicor HBV Monitor test χρησιμοποιεί τους εκκινητές HBV-104UB και HBV-104D για τον καθορισμό μια αλληλουχίας 104 νουκλεοτιδίων εντός της προπυρηνικής/πυρηνικής περιοχής υψηλής διατήρησης του γονιδιώματος HBV. Το DNA ενισχύεται με τη χρήση ενός βιοτινιλυωμένου και ενός μη βιοτινιλυωμένου ολιγονουκλεοτιδικού εκκινητή. Η νουκλεοτιδική αλληλουχία των εκκινητών έχει αποδειχθεί ότι παρέχει ισοδύναμη ενίσχυση των γονοτύπων A έως E. Από την παραλλαγή αλληλουχιών θα πρέπει να προκύπτει μειωμένη ενίσχυση του γονοτύπου F του HBV καθώς και μειωμένη ανίχνευση του γονοτύπου G.

α) *Ενίσχυση στόχου:* Τα επεξεργασμένα δείγματα προστίθενται στο μείγμα ενίσχυσης σε σωληνάρια ενίσχυσης (A-tubes) στα οποία πραγματοποιείται ενίσχυση της PCR. Ο θερμοκυκλοποιητής θερμαίνει το μείγμα αντίδρασης για την αποδιάταξη του δίκλωνου DNA και την έκθεση των αλληλουχιών-στόχου ειδικών για τον εκκινητή στο γονιδίωμα του κυκλικού DNA του HBV. Καθώς το μείγμα ψύχεται, οι βιοτινιλυωμένοι εκκινητές HBV-104UB και HBV-104D υβριδίζονται στο DNA-στόχο. Το θερμοανθεκτικό ανασυνδυασμένο ένζυμο *Thermus aquaticus* DNA πολυμεράση (Taq pol), με την παρουσία μαγνησίου και πλεονάσματος τριφωσφορικών νουκλεοτιδίων (dNTPs), στους οποίους περιλαμβάνονται η τριφωσφορική δεοξυαδενοσίνη, η δεοξυγουανοσίνη, η δεοξυκυτιδίνη και δεοξουριδίνη (αντί της δεοξυθυμιδίνης), επεκτείνει τους υβριδισμένους εκκινητές κατά μήκος των προτύπων στόχων για τη δημιουργία ενός μορίου δίκλωνου DNA 104 ζευγών βάσεων που ονομάζεται κλώνος (amplicon). Ο Cobas Amplicor αναλυτής επαναλαμβάνει αυτόματα τη

διαδικασία αυτή για έναν καθορισμένο αριθμό κύκλων, καθένας από τους οποίους έχει ως αποτέλεσμα το διπλασιασμό των DNA κλώνων (amplicons). Ο απαιτούμενος αριθμός κύκλων προγραμματίζεται εκ των προτέρων στον αναλυτή. Η ενίσχυση πραγματοποιείται μόνο στη μεταξύ των εκκινήτων περιοχή του γονιδιώματος του HBV (δεν ενισχύεται ολόκληρο το HBV-γονιδίωμα).

γ) *Επιλεκτική ενίσχυση:* Η επιλεκτική ενίσχυση του νουκλεϊκού οξέος-στόχου από το δείγμα επιτυγχάνεται με τη χρήση του ενζύμου AmpErase (ουρακίλη-N-γλυκοζυλάση) και της τριφωσφορικής δεοξουριδίνης (dUTP). Το ένζυμο AmpErase αναγνωρίζει και καταλύει τη διάσπαση των κλώνων του DNA που περιέχουν δεοξουριδίνη, αλλά όχι του DNA που περιέχει δεοξυθυμιδίνη. Η δεοξουριδίνη δεν υπάρχει στο φυσικό DNA, αλλά υπάρχει πάντοτε στον κλώνο (amplicon) λόγω της χρήσης τριφωσφορικής δεοξουριδίνης ως ενός από τα dNTPs του αντιδραστηρίου του κύριου δείγματος. Για το λόγο αυτό, μόνο ο κλώνος (amplicon) περιέχει δεοξουριδίνη. Η δεοξουριδίνη καθιστά το μολυσματικό κλώνο ευαίσθητο στη διάσπαση από το ένζυμο AmpErase, πριν από την ενίσχυση του DNA-στόχου. Το ένζυμο AmpErase καταλύει τη σχάση του DNA που περιέχει δεοξουριδίνη στα ιζήματα ανοίγοντας την αλυσίδα της δεοξυριβόζης στην θέση C1. Όταν θερμανθεί στο πρώτο βήμα «θερμοκυκλοποίησης» στο αλκαλικό PH του κύριου δείγματος (Master Mix), η αλυσίδα DNA του κλώνου (amplicon) διασπάται στη θέση της δεοξουριδίνης, καθιστώντας το DNA μη ανιχνεύσιμο. Το ένζυμο AmpErase είναι αδρανές σε θερμοκρασίες πάνω από 55°C, δηλαδή σε όλα τα βήματα της «θερμοκυκλοποίησης» και για το λόγο αυτό δεν καταστρέφει τον κλώνο (amplicon)-στόχο. Μετά την ενίσχυση, όλα τα υπολειμματικά ένζυμα

αποδιατάσσονται με την προσθήκη του διαλύματος αποδιάταξης, προσλαμβάνοντας την αποικοδόμηση οποιουδήποτε κλώνου (amplicon)-στόχου. Το ένζυμο AmpErase αδρανοποιεί τουλάχιστον  $10^3$  αντίγραφα κλώνου (amplicon) HBV που περιέχει δεοξουριδίνη σε κάθε PCR.

Αντίδραση υβριδισμού: Μετά την ενίσχυση PCR ο αναλυτής προσθέτει αυτόματα διάλυμα αποδιάταξης στα A-tubes για τη χημική αποδιάταξη του κλώνου (amplicon) HBV και του κλώνου (amplicon) του προτύπου ποσοτικοποίησης του HBV-DNA σχηματίζοντας μονόκλωνο DNA. Για την επίτευξη ποσοτικών αποτελεσμάτων σε ευρύ δυναμικό εύρος αναλύονται διαδοχικές αραιώσεις του αποδιαταγμένου κλώνου (amplicon) στα σωληνάρια ανίχνευσης (D-cups). Ένα εναιώρημα μαγνητικών σωματιδίων ανίχνευσης με επίστρωση ενός ολιγονουκλεοτιδικού ιχνηθέτη ειδικού για τον κλώνο (amplicon) HBV ή τον κλώνο του προτύπου ποσοτικοποίησης (SK55) προστίθενται σε καθεμία από τις τέσσερις αραιώσεις του κλώνου HBV ή σε καθεμία από τις δυο αραιώσεις (amplicon) προτύπου ποσοτικοποίησης HBV, αντίστοιχα. Οι επισημασμένοι με βιοτίνη κλώνοι (amplicon) υβριδίζονται στους ολιγονουκλεοτιδικούς ειδικούς για το στόχο ιχνηθέτες που είναι δεσμευμένοι στα μαγνητικά σωματίδια. Κάθε ποσοτικός προσδιορισμός απαιτεί τέσσερις ανεξάρτητες μετρήσεις απορρόφησης αντιδραστηρίου με χρήση του αιωρήματος ιχνηθέτη HBV στόχου και δυο μετρήσεις απορρόφησης με χρήση του αιωρήματος ιχνηθέτη του προτύπου ποσοτικοποίησης του HBV-DNA.

Αντίδραση Ανίχνευσης: Μετά την αντίδραση υβριδισμού ο αναλυτής πραγματοποιεί πλύση των μαγνητικών σωματιδίων στα D-cups για την απομάκρυνση μη δεσμευμένων υλικών και στη συνέχεια προσθέτει συζεύκτη υπεροξειδάσης-avidin ραφανίδα. Ο συζευκτής υπεροξειδάσης avidin-

ραφανίδας δεσμεύεται στον επισημασμένο με βιοτίνη κλώνο (amplicon) που υβριδίζεται στους ειδικούς για το στόχο ολιγονουκλεοτιδικούς ιχνηθέτες που είναι δεσμευμένοι στα μαγνητικά σωματίδια. Ο αναλυτής απομακρύνει το μη δεσμευμένο συζευκτική πραγματοποιώντας πλύση των μαγνητικών σωματιδίων και στη συνέχεια σε κάθε D-cup προσθέτει διάλυμα υποστρώματος που περιέχει υπεροξειδίο του υδρογόνου και 3,3',5,5'-τετραμεθυλοβενζιδίνη (TMB). Με την παρουσία του υπεροξειδίου του υδρογόνου, η δεσμευμένη στο σωματίδιο υπεροξειδάση ραφανίδας καταλύει την οξειδωση της TMB για το σχηματισμό ενός έγχρωμου συμπλόκου, η απορρόφηση του οποίου μετράται σε μήκος κυμάτων των 660 nm από τον αυτόματο Cobas Amplicor αναλυτή.

### 2.3. Στατιστική ανάλυση

Όλοι οι στατιστικοί υπολογισμοί έγιναν σε Microsoft computer με τη χρήση του προγράμματος SPSS, 10η έκδοση. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως μέση τιμή  $\pm$  σταθερά απόκλιση. Τα ευρήματα αναλύθηκαν χρησιμοποιώντας τις παρακάτω στατιστικές μεθόδους όπου ήταν εφαρμόσιμα: unpaired t-test, Mann-Whitney U test (MWU),  $\chi^2$  ( $2 \times 2$  μετά από διόρθωση κατά Yates), Fisher's exact test, Pearson  $\chi^2$ , Spearman's correlation coefficient. Στατιστικά σημαντική διαφορά θεωρήθηκε εκείνη όπου η διπλής κατεύθυνσης τιμή του P ήταν μικρότερη του 0.05 ( $P < 0.05$ ). Τα όρια αξιοπιστίας (95% CI) προσδιορίστηκαν με βάση τον τύπο  $P = p \pm 1.96 (pq/n)^{1/2}$  (όπου p είναι η συχνότητα, q είναι το 1-p και n είναι ο αριθμός των ατόμων που ελέγχθηκαν από κάθε ομάδα).

### 3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

#### 3.1 Συχνότητα ανίχνευσης του HBV-DNA (Πίνακας 2)

Από τους 196 ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C που εξετάστηκαν, HBV-DNA ανιχνεύθηκε στον ορό 49 ασθενών (25.0%; 95%CI 18.9-31.1%). Ο μέσος όρος του τίτλου της ιαιμίας  $\pm$  SD ήταν  $3122 \pm 5546$  copies/ml με εύρος 205-32,000 copies/ml. Από τους 100 ασθενείς με μη ιογενή ηπατικά νοσήματα 13 ήταν θετικοί για την παρουσία HBV-DNA στον ορό (13%; 95% CI 6.4-19.6%) με μέσο όρο ιαιμίας  $\pm$  SD  $798 \pm 1264$  copies/ml και εύρος 207-4870 copies/ml. Αναλυτικά, 10 από τους 13 HBV-DNA θετικούς ασθενείς της ομάδας ελέγχου έπασχαν από αυτοάνοσο νόσημα του ήπατος (3 ασθενείς με ΠΧΚ, 2 με ΑΗ και 5 ασθενείς με ΠΣΧ), ένας ασθενής από αλκοολική νόσο του ήπατος, ένας ασθενής από σύνδρομο Budd-Chiari και ένας από αδιευκρίνιστο χολοστατικό σύνδρομο. Αντίθετα HBV-DNA δεν ανιχνεύθηκε σε κανέναν από τους 282 αιμοδότες που ήταν αντι-HBc θετικοί.

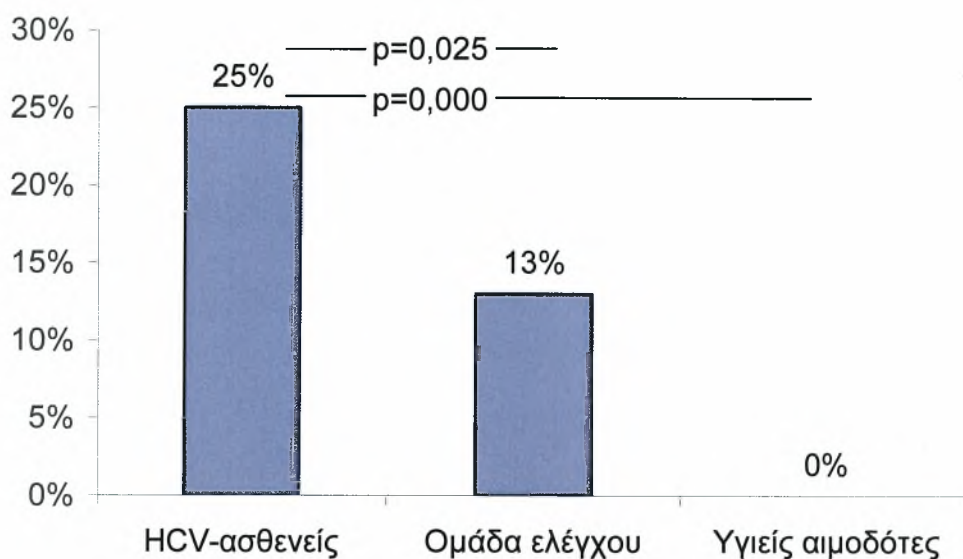
Επομένως η συχνότητα ανεύρεσης λανθάνουσας ηπατίτιδας Β ήταν, στατιστικώς, σημαντικά μεγαλύτερη στους ασθενείς με χρόνια λοίμωξη από τον HCV τόσο σε σχέση με την ομάδα ελέγχου ( $P=0.025$ ) όσο και με τους υγιείς αιμοδότες ( $P=0.000$ ) (Πίνακας 2, σχήμα 2). Εντούτοις, δε διαπιστώθηκε στατιστικώς, σημαντική διαφορά μεταξύ των επιπέδων ιαιμίας στην ομάδα των ασθενών με χρόνια ηπατίτιδα C και της ομάδας ελέγχου με χρόνιες μη ιογενείς ηπατοπάθειες ( $P=0.141$ ).

**Πίνακας 2.** Συχνότητα της παρουσίας HBV-DNA

	HBV-DNA	
	Θετικοί	Αρνητικοί
HCV-ασθενείς	49 (25%)***	147 (75%)
Ομάδα ελέγχου	13(13%)****	87(87%)
Υγιείς δότες	0***	282 (100%)

\*P=0.025; \*\*P=0.000; \*\*\*P=0.000

**Σχήμα 2.** Συχνότητα (%) HBV-DNA



### 3.2. Συσχέτιση της παρουσίας λανθάνουσας ηπατίτιδας Β με δημογραφικά και επιδημιολογικά δεδομένα των ασθενών

Στους ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C, η παρουσία του HBV-DNA δε συσχετίζονταν με την ηλικία, το φύλο, την πηγή και τη διάρκεια της λοίμωξης καθώς και άλλους δημογραφικούς ή επιδημιολογικούς παράγοντες (ιστορικό εγχειρήσεων στο παρελθόν, τατουάζ, ενέσεις με κοινόχρηστες σύριγγες, παραδοσιακές πρακτικές, σεξουαλική συμπεριφορά, κατάχρηση αλκοόλ και τη

λήψη φαρμάκων). Επιπλέον, όταν οι ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C χωρίστηκαν σε χρήστες ενδοφλέβιων ναρκωτικών και μη, η παρουσία του HBV-DNA δε βρέθηκε να σχετίζεται με τη χρήση των ουσιών αυτών.

**Πίνακας 3.** Δημογραφικά και επιδημιολογικά δεδομένα των ασθενών με χρόνια ηπατίτιδα C και θετικό ή αρνητικό HBV-DNA στον ορό

	HBV DNA		P
	Θετικό (n=49)	Αρνητικό (n=147)	
Ηλικία (έτη)	48.3±17.3	46.4±17.2	NS
Φύλο (άνδρες/γυναίκες)	24/25	69/78	NS
Πηγή λοίμωξης* (σαφής/ασαφής)	26/23	77/70	NS
Διάρκεια λοίμωξης	3.8±3.1	4.0±4.2	NS
Επεμβάσεις (ναι/όχι)	35/14	107/40	NS
Τατουάζ (ναι/όχι)	5/44	22/124	NS
Παραδοσιακές πρακτικές (ναι/όχι)	25/24	48/95	NS
Κοινές σύριγγες (ναι/όχι)	29/20	76/67	NS
Σεξουαλικό ιστορικό (ναι/όχι)	9/40	33/112	NS
Κατάχρηση αλκοόλ (ναι/όχι)	11/38	42/103	NS
Χρήση IV ουσιών (ναι/όχι)	12/37	39/108	NS
Λήψη φαρμάκων (ναι/όχι)	30/19	64/80	NS
Συμπτώματα(ναι/όχι)	12/37	34/112	NS
Εξωηπατικά νοσήματα (ναι/όχι)	1/48	5/142	NS

\* Ως σαφής πηγή λοίμωξης θεωρήθηκε: η μετάγγιση/μεταγγίσεις, η χρήση ενδοφλέβιων ναρκωτικών ουσιών και η αιμοκάθαρση  
Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως μέση τιμή ± σταθερά απόκλιση. P> 0.05 ( $\chi^2$  διόρθωση κατά Yates, Fisher's exact test, t-test, Mann-Whitney U test). NS, μη στατιστικά σημαντική διαφορά.



Στατιστικά σημαντικές διαφορές δε βρέθηκαν ούτε όταν οι ασθενείς χωρίστηκαν ανάλογα με το αν η πηγή μόλυνσης για τον HCV ήταν βέβαιη ή αβέβαιη (Πίνακας 3).

Παρομοίως, στους ασθενείς με διάφορα μη ιογενή ηπατικά νοσήματα η παρουσία του HBV-DNA δε συσχετίστηκε με την ηλικία, το φύλο και τη διάρκεια της νόσου (Πίνακας 4).

**Πίνακας 4.** Δημογραφικά δεδομένα των ασθενών της ομάδας ελέγχου με θετικό και αρνητικό HBV-DNA στον ορό

	HBV-DNA		P
	Θετικό (n=13)	Αρνητικό (n=87)	
Ηλικία (έτη)	50.3±14.1	50.2±13.8	NS
Φύλο (άνδρες/γυναίκες)	5/8	40/47	NS
Διάρκεια νόσου (έτη)	3.6±3.2	3.9±5.4	NS

Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως μέση τιμή ± σταθερά απόκλιση. P> 0.05 ( $\chi^2$  διόρθωση κατά Yates, Fisher's exact test, t-test, Mann-Whitney U test). NS, μη στατιστικά σημαντική διαφορά.

### 3.3. Συσχέτιση της παρουσίας λανθάνουσας ηπατίτιδας B με κλινικά και εργαστηριακά δεδομένα των ασθενών

Η οροθετικότητα για HBV-DNA δε σχετίζονταν με την παρουσία ή απουσία συμπτωμάτων κατά τη διάγνωση της λοίμωξης από τον HCV και την παρουσία ή απουσία εξωηπατικών εκδηλώσεων σαφώς σχετιζόμενων με την ηπατίτιδα C (Πίνακας 3). Επιπρόσθετα, η παρουσία του HBV-DNA δεν σχετίζονταν με το κλινικό στάδιο της HCV-σχετιζόμενης νόσου [ i] ασθενείς με φυσιολογικές τιμές αμινοτρανσφερασών τουλάχιστο για έξι μήνες πριν την

είσοδό τους στη μελέτη, ii) ασθενείς με παθολογική ηπατική βιοχημεία τουλάχιστο για έξι μήνες πριν την είσοδό τους στη μελέτη, με ιστολογικά, ιολογικά και βιοχημικά αποδεδειγμένη χρόνια HCV λοίμωξη και iii) ασθενείς με HCV-σχετιζόμενη κίρρωση με ή χωρίς ανάπτυξη πυλαίας υπέρτασης] (Πίνακας 5).

Παρομοίως, στους ασθενείς της ομάδας ελέγχου δε βρέθηκε συσχέτιση μεταξύ της παρουσίας του HBV-DNA και της ανάπτυξης κίρρωσης (Πίνακας 5).

**Πίνακας 5.** Συσχέτιση της παρουσίας του HBV-DNA με το στάδιο της νόσου στους ασθενείς με χρόνια λοίμωξη από τον HCV και στην ομάδα ελέγχου

	HCV-ασθενείς		Ομάδα ελέγχου	
	HBV-DNA		HBV-DNA	
	Θετικό (n=49)	Αρνητικό (n=147)	Θετικό (n=13)	Αρνητικό (n=87)
Κλινικό στάδιο				
-AST/ALT κφ (ναι/όχι)	12/37	35/112		
-Χρόνια HCV λοίμωξη (ναι/όχι)	28/21	84/63		
-Κίρρωση (ναι/όχι)	9/40	28/119	4/9	19/68

Επιπλέον, καμία εργαστηριακή παράμετρος που μελετήθηκε (AST, ALT, ALP, γGT, γ-σφαιρίνες, αλβουμίνη, αιμοπετάλια) δε βρέθηκε να σχετίζεται με την ύπαρξη λανθάνουσας ηπατίτιδας B τόσο στους ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C, όσο και στους ασθενείς της ομάδας ελέγχου (Πίνακας 6).

### 3.4. Συσχέτιση της παρουσίας λανθάνουσας ηπατίτιδας B με τους ορολογικούς δείκτες της λοίμωξης από τον HBV (Πίνακας 7)

Ενενήντα-οχτώ από τους 196 ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C (50 %; 95% CI: 43-57%) και 58 από τους 100 ασθενείς με μη ιογενή χρόνια ηπατικά

νοσήματα (58%; 95% CI: 48.3-67.6%) ήταν αρνητικοί για όλους τους ορολογικούς δείκτες της λοίμωξης από τον HBV (P>0.05). Το αντίσωμα αντι-

**Πίνακας 6.** Συσχέτιση της παρουσίας του HBV-DNA με εργαστηριακά δεδομένα στους ασθενείς με χρόνια λοίμωξη από τον HCV και στην ομάδα ελέγχου

	HCV-ασθενείς HBV-DNA		Ομάδα ελέγχου HBV-DNA	
	Θετικό (n= 49)	Αρνητικό (n= 147)	Θετικό (n=13)	Αρνητικό (n=87)
AST (U/L)	54.2 ± 42.1	59.8 ± 49.2	90.8 ± 127.2	108.6 ± 325.3
ALT (U/L)	72.5 ± 82.5	81.6 ± 101.5	71.4 ± 57.4	104.8 ± 224.8
γ-GT (U/L)	48.3 ± 96.2	53.7 ± 58.8	90.3 ± 102.2	157.0 ± 134.0
ALP (U/L)	131.3 ± 78.3	127.1 ± 90.0	274.2 ± 180	171.0 ± 145.4
γ-σφαιρίνες (g/ml)	3.33 ± 0.67	3.61 ± 2.0	3.23 ± 0.9	3.42 ± 0.7
Αλβουμίνη (g/ml)	4.46 ± 0.61	4.73 ± 3.9	4.2 ± 0.6	3.4 ± 0.7
Αιμοπετάλια ×10 <sup>3</sup> /μl	214.3 ± 80.5	210.6 ± 92.5	293.1 ± 133	221.6 ± 65.2

**Πίνακας 7.** Συχνότητα (%) των ορολογικών δεικτών λοίμωξης από τον HBV στους ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C και στην ομάδα ελέγχου

	HCV-ασθενείς HBV-DNA		Ομάδα ελέγχου HBV-DNA	
	Θετικό (n=49)	Αρνητικό (n=147)	Θετικό (n=13)	Αρνητικό (n=87)
Αρνητικοί δείκτες (%)	53.1	49.0	61.5	57.5
Anti-HBc(+) μόνο (%)	12.2	10.2	7.7	9.2
Anti-HBs(+) μόνο (%)	16.3	13.6	15.4	12.6
Anti-HBc(+)/Anti-HBs(+) (%)	10.2	15.0	0.0	10.3
Anti-HBc(+)/Anti-HBs(+)/Anti-HBe (%)	7.7	8.0	6.1	5.4
Anti-HBc(+)/Anti-HBe(+) (%)	7.7	2.3	2.0	5.4
Anti-HBs(+) (%)	32.7	34.0	23.1	31.0
Anti-HBc(+) (%)	30.6	36.1	23.1	29.9
Anti-HBe(+) (%)	8.2	12.2	15.4	10.3

HBc ανιχνεύθηκε σε 68 ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C (34.7%; 95%CI: 29-41.4%) και σε 29 από τους ασθενείς της ομάδας ελέγχου (29%; 95% CI: 20.1-37.9%) ( $P > 0.05$ ), ενώ το αντίσωμα αντι-HBs σε ποσοστό 33.7% (95% CI: 27.1-40.3%) και 30% (95% CI: 21-39%) αντίστοιχα ( $P > 0.05$ ). Κανένας από τους ασθενείς με θετικό το αντίσωμα αντι-HBc δεν ανέφερε ιστορικό οξείας ή χρόνιας λοίμωξης από τον ιό της ηπατίτιδας B.

Η ανίχνευση του HBV-DNA στον ορό των ασθενών με χρόνια λοίμωξη από τον HCV καθώς και στην ομάδα ελέγχου δε βρέθηκε να συσχετίζεται με την παρουσία θετικού αντι-HBc ως μόνου ορολογικού δείκτη ή την παρουσία άλλων ορολογικών δεικτών της λοίμωξης από τον HBV. Αναλυτικότερα, 26 από τους 49 ασθενείς με χρόνια λοίμωξη από τον HCV και λανθάνουσα ηπατίτιδα B (53.1%; 95% CI: 46-60%) και 72 από τους 147 αρνητικούς για HBV-DNA ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C (49%; 95% CI: 42-56%) ήταν αρνητικοί για όλους τους ορολογικούς δείκτες ( $P > 0.05$ ). Επιπλέον, η ανίχνευση τουλάχιστον ενός ορολογικού δείκτη λοίμωξης από τον HBV στους ασθενείς με λοίμωξη από τον HCV δε σχετιζόταν με την ανίχνευση του HBV-DNA [23/98 (23.5%; 95% CI: 15.1-31.9%) στους HCV-ασθενείς με τουλάχιστον έναν ορολογικό HBV-δείκτη θετικό έναντι 26/98 (26.5%; 95%CI: 17.7-35.2%) στους HCV-ασθενείς με αρνητικούς όλους τους ορολογικούς δείκτες για λοίμωξη από τον HBV] ( $P>0.05$ ). Παρόμοια ευρήματα παρατηρήθηκαν και στην ομάδα ελέγχου [5/42 (11.9%; 95% CI: 2.1-21.7%) παρουσίαζαν θετικό HBV-DNA και τουλάχιστον ένα ορολογικό HBV-δείκτη θετικό έναντι 8/58 (13.8%; 95%CI: 5-22.7%) με HBV-DNA θετικό και αρνητικούς όλους τους ορολογικούς δείκτες για λοίμωξη από τον HBV] ( $P>0.05$ ).

### 3.5. Συσχέτιση της παρουσίας λανθάνουσας ηπατίτιδας Β με ιολογικές παραμέτρους της λοίμωξης από τον HCV

Όπως προαναφέρθηκε, η ταυτοποίηση του γονότυπου και ο ποσοτικός προσδιορισμός του HCV-RNA πραγματοποιήθηκε σε 112 και σε 113 από τους 196 HCV-ασθενείς, αντίστοιχα. Η παρουσία του HBV-DNA δε σχετιζόταν με το είδος του γονότυπου, ούτε όταν οι ασθενείς χωρίστηκαν σε δύο μεγάλες ομάδες, ανάλογα με την παρουσία ή όχι του γονότυπου 1b (Πίνακες 8,9). Αναλυτικότερα, 60 ασθενείς παρουσίαζαν γονότυπο 1b από τους οποίους 18 ήταν θετικοί για HBV-DNA στον ορό (30%; 95% CI: 18.4-41.6%), έναντι 52 ασθενών με γονότυπο non-1b από τους οποίους 9 ήταν οροθετικοί (17.3%; 95% CI: 7-27.5%) ( $P > 0.05$ ) (Πίνακας 9).

**Πίνακας 8.** Συσχέτιση της παρουσίας του HBV-DNA με το γονότυπο του HCV στους ασθενείς με χρόνια λοίμωξη από τον HCV

	HBV-DNA		P
	Θετικό	Αρνητικό	
Γονότυπος 1	18	41	NS
2	0	6	NS
3	5	28	NS
4	2	5	NS
Μεικτός	2	5	NS

NS, μη στατιστικά σημαντική διαφορά.

Επιπλέον, δε βρέθηκε συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων του HCV-RNA και της παρουσίας ή όχι HBV-DNA στον ορό των ασθενών (Πίνακας 9). Εξάλλου, όπως φαίνεται και στον Πίνακα 10 τα επίπεδα της ιαιμίας τόσο για τον HBV, όσο και για τον HCV δε διέφεραν ούτε όταν συσχετίστηκαν με το είδος του γονότυπου του HCV.

**Πίνακας 9.** Συσχέτιση της παρουσίας του HBV-DNA με τις ιολογικές παραμέτρους των ασθενών με χρόνια λοίμωξη από τον HCV.

	HBV-DNA		P
	Θετικό	Αρνητικό	
Γονότυπος 1b	18	42	NS
non-1b	9	43	NS
HCV-RNA ( $\times 10^5$ U/ml)	$4.1 \pm 4.4$ (n=28)	$3.6 \pm 3.4$ (n=85)	NS

Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως μέση τιμή  $\pm$  σταθερά απόκλιση.  $P > 0.05$  ( $\chi^2$  διόρθωση κατά Yates, Fisher's exact test, t-test, Mann-Whitney U test). NS, μη στατιστικά σημαντική διαφορά.

**Πίνακας 10.** Συσχέτιση των επιπέδων της ιαιμίας για τους ιούς HBV και HCV με το είδος του γονοτύπου του HCV

	Γονότυπος		P
	1b	non-1b	
HBV-DNA ( $\times 10^3$ U/ml)	$4.7 \pm 8.2$ (n=18)	$2.3 \pm 2.0$ (n=9)	NS
HCV-RNA ( $\times 10^5$ U/ml)	$4.4 \pm 3.7$ (n=49)	$4.2 \pm 3.6$ (n=44)	NS

Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως μέση τιμή  $\pm$  σταθερά απόκλιση.  $P > 0.05$  ( $\chi^2$  διόρθωση κατά Yates, Fisher's exact test, t-test, Mann-Whitney U test). NS, μη στατιστικά σημαντική διαφορά.

### 3.6. Συσχέτιση της παρουσίας λανθάνουσας ηπατίτιδας B με τα ιστολογικά δεδομένα των ασθενών

Στους 107 ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C, οι οποίοι υποβλήθηκαν σε βιοψία ήπατος, καμία συσχέτιση δε βρέθηκε μεταξύ της παρουσίας του HBV-DNA στον ορό και των ιστολογικών ευρημάτων, τόσο όσον αφορά στην ίνωση, όσο και στη δραστηριότητα της νόσου. Όπως φαίνεται στον Πίνακα 11,

53.6% (95% CI: 35-72%) των ασθενών με θετικό HBV-DNA παρουσίαζαν μέτρια/σοβαρή ίνωση στη βιοψία ήπατος έναντι 57% (95% CI: 46-68%) των ασθενών με αρνητικό HBV-DNA στον ορό (P > 0.05). Τα αντίστοιχα ποσοστά όσον αφορά στη μέτρια/σοβαρή φλεγμονώδη δραστηριότητα ήταν 53.6% για τους οροθετικούς ασθενείς (95% CI: 35-72%), έναντι 44.3% για τους οροαρνητικούς (95% CI: 33.3-55.2%) (P>0.05).

**Πίνακας 11.** Συσχέτιση της παρουσίας του HBV-DNA με τα ιστολογικά ευρήματα των ασθενών με χρόνια λοίμωξη από τον HCV.

	HBV-DNA		P
	Θετικό (n= 28)	Αρνητικό (n= 79)	
<i>Ίνωση</i>			
- Καμία ή ήπια (%) / μέτρια ή σοβαρή (%)	13 (46.4) / 15 (53.6)	33 (43.0) / 45 (57.0)	NS
<i>Δραστηριότητα</i>			
- Ελάχιστη ή ήπια (%) / μέτρια ή σοβαρή (%)	13 (46.4) / 15 (53.6)	44 (55.7) / 32 (44.3)	NS

NS, μη στατιστικά σημαντική διαφορά.

Επιπρόσθετα, ο βαθμός της ίνωσης δε σχετίστηκε με την παρουσία του HBV-DNA, ακόμα και όταν όλοι οι ασθενείς με φυσιολογικές τιμές αμινοτρανσφερασών ή κίρρωση συμπεριλήφθηκαν (ανεξάρτητα από την διενέργεια βιοψίας ήπατος) στις κατηγορίες καμία/ήπια ή μέτρια/σοβαρή ιστολογικά ίνωση, αντίστοιχα (Πίνακας 12).

Πρέπει να σημειωθεί ότι κατά τη διάρκεια του follow-up, 3 ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C ανέπτυξαν ηπατοκυτταρικό καρκίνο, από τους οποίους μόνο ένας είχε λανθάνουσα ηπατίτιδα B.

Όσον αφορά στους ασθενείς της ομάδας ελέγχου, όπως προαναφέρθηκε, δε βρέθηκε συσχέτιση μεταξύ της παρουσίας του HBV-DNA και της ανάπτυξης κίρρωσης (Πίνακας 5).

**Πίνακας 12.** Συσχέτιση της παρουσίας του HBV-DNA με την ίνωση στους ασθενείς με χρόνια λοίμωξη από τον HCV.

	HBV-DNA		P value
	Θετικό (n=43)	Αρνητικό (n=117)	
Ίνωση			
- καμία/ήπια (%)	22 (51.2)	57 (48.7)	NS
- μέτρια/σοβαρή (%)	21 (48.8)	60 (51.3)	NS

NS, μη στατιστικά σημαντική διαφορά.

### 3.7. Συσχέτιση της παρουσίας λανθάνουσας ηπατίτιδας B με την ανταπόκριση στη θεραπεία των ασθενών με χρόνια λοίμωξη από τον HCV

Από τους 51 ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C που τέθηκαν σε αντι-ική αγωγή με α-ιντερφερόνη (μόνη ή σε συνδυασμό με ριμπαβιρίνη), 14 (27.5%) ήταν θετικοί για την παρουσία HBV-DNA στον ορό. Η ανταπόκριση στη θεραπεία (βιοχημική, ιολογική και ιστολογική) αξιολογήθηκε τόσο στο τέλος της αγωγής (EOT, end of treatment), όσο και στους 6 μήνες μετά το τέλος της αγωγής (EOF, end of follow-up) σε όσους ασθενείς υπήρχαν διαθέσιμα στοιχεία. Όπως φαίνεται στον Πίνακα 13, οι ασθενείς με λανθάνουσα ηπατίτιδα B παρουσίαζαν μια τάση μικρότερης πρώιμης (EOT) και παρατεταμένης (EOF) ανταπόκρισης στη θεραπεία σε σχέση με τους ασθενείς με αρνητικό HBV-DNA (απουσία λανθάνουσας ηπατίτιδας B), αλλά η διαφορά



δεν ήταν στατιστικώς σημαντική ( $P=0.316$  και  $P=0.136$  αντίστοιχα). Αναλυτικά, η συνολική ανταπόκριση στην αντιική αγωγή στο τέλος της αγωγής, ήταν 19.4% (95% CI: 5.5-33.3) για τους HBV-DNA θετικούς ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C, έναντι 80.6% (95% CI: 66.7-94.5) για τους HBV-DNA αρνητικούς. Τα αντίστοιχα ποσοστά στο τέλος της παρακολούθησης ήταν 14.3% (95% CI: 0-29.3%), έναντι 85.7% (95% CI: 70.7-100).

**Πίνακας 13.** Συσχέτιση της παρουσίας του HBV-DNA με την ανταπόκριση στην αντιική αγωγή στους ασθενείς με χρόνια λοίμωξη από τον HCV.

Ανταπόκριση	HBV-DNA		P-value
	Θετικό	Αρνητικό	
EOT* (%)			
- Βιοχημική (n=44/51) <sup>^</sup>	11 (25)	33 (75)	0.376
- Ιολογική (n=34/48) <sup>^</sup>	6 (17.6)	28 (82.4)	0.258
- Ιστολογική (n=32/35) <sup>^</sup>	6 (18.8)	26 (81.3)	0.499
- Συνολική (n=31/49) <sup>^</sup>	6 (19.4)	25 (80.6)	0.316
EOF** (%)			
- Βιοχημική (n=33/43) <sup>^</sup>	7 (21.2)	26 (78.8)	0.110
- Ιολογική (n=20/28) <sup>^</sup>	3 (15.0)	17 (85)	0.606
- Συνολική (n=21/37) <sup>^</sup>	3 (14.3)	18 (85.7)	0.136

\*EOT, End of treatment (τέλος αγωγής), \*\*EOF, End of follow-up (6 μήνες μετά το τέλος της αγωγής), NS, μη στατιστικά σημαντική διαφορά.

<sup>^</sup>Στις παρενθέσεις αναγράφονται τα συνολικά ποσοστά ανταπόκρισης στην αγωγή, ανεξαρτήτως από την παρουσία ή όχι του HBV-DNA.

Όπως προαναφέρθηκε, 49 από τους συνολικά 196 HCV-ασθενείς που μελετήθηκαν παρουσίαζαν θετικό HBV-DNA στον ορό (λανθάνουσα ηπατίτιδα B). Σε 12 από τους 49 HBV-DNA θετικούς αυτούς ασθενείς, οι οποίοι έλαβαν αντιική αγωγή, πραγματοποιήθηκε περαιτέρω έλεγχος προσδιορίζοντας τα επίπεδα της ιαιμίας στο τέλος της αγωγής και στο τέλος του follow-up. Παρατηρήθηκε, λοιπόν, ότι 9 από τους 12 ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C και

λανθάνουσα ηπατίτιδα Β πριν την αγωγή, δεν παρουσίαζαν, πλέον, ανιχνεύσιμη ιαιμία (HBV-DNA) στο τέλος της αγωγής, ενώ οι υπόλοιποι 3 ασθενείς μείωσαν τα επίπεδα του HBV-DNA. Μάλιστα, ο ένας από τους 3 τελευταίους ασθενείς αρνητικοποίησε, εν τέλει, το HBV-DNA στο τέλος του follow-up. Πρέπει να σημειωθεί ότι 5 από τους 9 ασθενείς με χρόνια λοίμωξη από τον HCV χωρίς ανιχνεύσιμο HBV-DNA στο τέλος της αγωγής και ένας από τους 3 ασθενείς με μειωμένα επίπεδα HBV-DNA στο τέλος της παρακολούθησης, δεν παρουσίασαν ιολογική ανταπόκριση ως προς τη χρόνια ηπατίτιδα C.

#### 4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Τα αποτελέσματα της μελέτης μας δείχνουν για πρώτη φορά στον Ελλαδικό χώρο ότι το ένα τέταρτο των ασθενών με χρόνια ηπατίτιδα C (25%) έχουν ταυτόχρονα λανθάνουσα ηπατίτιδα B (ανιχνεύσιμο HBV-DNA στον ορό με τη μέθοδο της PCR). Η λανθάνουσα ιαιμία από τον HBV είναι σημαντικά συχνότερη σε ασθενείς με χρόνια λοίμωξη από τον HCV σε σχέση με ασθενείς με χρόνιες μη ιογενείς ηπατικές νόσους (13%) ( $P=0.025$ ) καθώς και με Έλληνες αιμοδότες (0%) με θετικούς HBV-δείκτες (αντι-HBc μόνο ή σε συνδυασμό αντι-HBe και/ή αντι-HBs σε χαμηλούς τίτλους) ( $P=0.000$ ). Η συχνότητα αυτή στους ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C βρίσκεται σε συμφωνία με τα αποτελέσματα άλλων μελετών προερχόμενες από περιοχές με μέτρια/υψηλή ενδημικότητα του HBV (14,16,23,35,38). Επιπρόσθετα, κάποιοι ερευνητές έδειξαν ότι το HBV-DNA μπορεί να ανιχνευθεί, ενίοτε, μόνο στον ηπατικό ιστό και όχι στον ορό, υπονοώντας ότι η πραγματική συχνότητα λανθάνουσας λοίμωξης από τον HBV μπορεί να είναι, ακόμα, μεγαλύτερη στους ασθενείς με χρόνια λοίμωξη από τον HCV (13,16,38,47,48). Παγκοσμίως, παρόλα αυτά, έχει αναφερθεί ένα μεγάλο εύρος διακύμανσης ως προς τη συχνότητα της λανθάνουσας ηπατίτιδας B στους ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C σε συχνότητα που ποικίλει από 0-95% (Πίνακας 10, Σελ. 105, Γενικό Μέρος). Οι σημαντικές αυτές διαφορές θα μπορούσαν να αποδοθούν τόσο στην διαφορετική ευαισθησία της μεθόδου ανίχνευσης που χρησιμοποιείται σε κάθε μελέτη, όσο και στον αριθμό των εξεταζόμενων ασθενών με χρόνια λοίμωξη από τον HCV καθώς και στην ποικίλη γεωγραφική ενδημικότητα που παρουσιάζει ο HBV. Για παράδειγμα οι Pontisso και συν (17) από την Ιταλία (χώρα ενδιάμεσης ενδημικότητας για τον

HBV) απέτυχε να ανιχνεύσει HBV-DNA στον ορό ή στο ήπαρ 20 HCV(+) / HBsAg (-) ασθενών, ενώ αντίθετα οι Uchida και συν (18) και οι Koike και συν (19) από την Ιαπωνία (χώρα υψηλής ενδημικότητας για τον HBV) ανέφεραν πολύ υψηλότερα ποσοστά (περίπου 90%). Μολονότι, λοιπόν, η ακριβής συχνότητα της λανθάνουσας ηπατίτιδας Β σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C είναι δύσκολο να εκτιμηθεί, αναμφίβολα, φαίνεται να είναι υψηλότερη σε σύγκριση με την αντίστοιχη συχνότητα σε ασθενείς με χρόνια ηπατική νόσο άλλης αιτιολογίας (16).

Σε συμφωνία με άλλους ερευνητές, τα επίπεδα της ιαιμίας (HBV-DNA) στους ασθενείς με χρόνια λοίμωξη από τον HCV και λανθάνουσα ηπατίτιδα Β βρέθηκαν πολύ χαμηλά. Πράγματι, στη λανθάνουσα λοίμωξη από τον HBV τα επίπεδα του HBV-DNA είναι συνήθως  $<10^4$  copies/ml (49), σημαντικά χαμηλότερα δηλαδή σε σύγκριση με την «κλασσική» χρόνια ηπατίτιδα Β με θετικό HBsAg (47,48). Μελέτες, μάλιστα, παρακολούθησης των ασθενών αυτών έχουν δείξει ότι η ιαιμία από τον HBV στον ορό των ίδιων ασθενών ενδέχεται να παρουσιάζει διακυμάνσεις (11,14). Επιπλέον, μελέτες ασθενών με χρόνια ηπατίτιδα C και ενεργό ή λανθάνουσα συν-λοίμωξη με τον HBV αποκάλυψαν μια αμοιβαία αλληλεπίδραση μεταξύ των ιών HBV και HCV (4,17,50-54). Η απουσία του HBsAg σε ασθενείς με λανθάνουσα ηπατίτιδα Β και χρόνια λοίμωξη από τον HCV πιθανόν να οφείλεται στην αναστολή του ιικού πολλαπλασιασμού του HBV από τον HCV και ιδιαίτερα από την πρωτεΐνη του πυρήνα του HCV (HCV core protein) (54-57), με μείωση της ενεργού δράσης του ενισχυτή 1 και 2 του HBV (ρυθμιστικό γονίδιο της μεταγραφής) (54). Συγκεκριμένα, μια πολυπεπτιδική αλληλουχία μεταξύ των αμινοξέων 101 και 102 του N-τελικού άκρου της πρωτεΐνης αυτής βρέθηκε να

σχετίζεται, ειδικότερα, με την ανασταλτική δράση του HCV επί του πολλαπλασιασμού του HBV (56,57), όπως επίσης και η φωσφορυλίωση της σερίνης στα αμινοξέα 99 και 116 της πρωτεΐνης του πυρήνα του HCV φαίνεται να παρουσιάζει, επίσης, ουσιαστικό ανασταλτικό ρόλο (56). Αντίθετα, in vivo μελέτες δεν ανέδειξαν συσχέτιση μεταξύ της πρωτεΐνης HCV-core και του πολλαπλασιασμού του HBV (2,52), υποδεικνύοντας ότι οι μηχανισμοί καταστολής του HBV παραμένουν ακόμα άγνωστοι.

Σε συμφωνία με όλες τις προηγούμενες μελέτες, καμία συσχέτιση δε βρέθηκε μεταξύ της παρουσίας λανθάνουσας ηπατίτιδας B με επιδημιολογικούς και δημογραφικούς παράγοντες ή την παρουσία συμπτωμάτων και εξωηπατικών εκδηλώσεων στους ασθενείς με χρόνια λοίμωξη από τον HCV (14,22,23,27,32-34,48). Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι καμία συσχέτιση δε βρέθηκε μεταξύ της παρουσίας HBV-DNA και του ιστορικού χρήσης ενδοφλέβιων τοξικών ουσιών, πολλαπλών μεταγγίσεων και χρόνια αιμοκάθαρσης, ομάδων ασθενών δηλαδή με υψηλό επιπολασμό χρόνιας λοίμωξης από τον HBV. Πρόσφατες μελέτες, πάντως, αναδεικνύουν υψηλή συχνότητα λανθάνουσας ηπατίτιδας B σε ασθενείς με χρόνια λοίμωξη από τον HCV με τους παραπάνω παράγοντες κινδύνου (25,58,59). Για παράδειγμα, οι Torbenson και συν (58) και οι Besisik και συν (59) μελετώντας 188 ασθενείς-χρήστες ενδοφλεβίων τοξικών ουσιών και 33 ασθενείς με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια τελικού σταδίου, αντίστοιχα ανέδειξαν λανθάνουσα ιαιμία από τον HBV σε ποσοστό 45% και 36%.

Το ένα τρίτο περίπου των ασθενών της μελέτης μας με χρόνια λοίμωξη από τον HCV παρουσίαζαν ορολογικούς δείκτες λοίμωξης από τον HBV (αντισώματα αντι-HBc, αντι-HBs). Σε συμφωνία με προηγούμενες μελέτες, η

ανίχνευση HBV-DNA στον ορό των Ελλήνων ασθενών με χρόνια λοίμωξη από τον HCV καθώς και στην ομάδα ελέγχου δε βρέθηκε να σχετίζεται με την παρουσία ορολογικών HBV-δεικτών (14,34). Συγκεκριμένα, η μελέτη αυτή δε μπορεί να προτείνει την παρουσία του αντισώματος αντι-HBc (μόνου ή σε συνδυασμό με άλλους ορολογικούς HBV-δείκτες) ως ενδεικτικού ορολογικού δείκτη λανθάνουσας ηπατίτιδας Β. Αντίθετα, κάποιοι ερευνητές υποστηρίζουν ότι η συχνότητα της λανθάνουσας λοίμωξης από τον HBV είναι σημαντικά μεγαλύτερη σε ασθενείς θετικούς για το αντίσωμα αντι-HBc (16,23,24,28,29,48), υποδεικνύοντας ότι η παρουσία του αντισώματος αντι-HBc μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως αξιόπιστος δείκτης λανθάνουσας ηπατίτιδας Β (28,35). Για παράδειγμα, οι Nirei και συν (23) ανέδειξαν ότι το 57.1% των ασθενών με χρόνια ηπατίτιδα C και θετικό HBV-DNA στον ορό παρουσίαζαν τουλάχιστον ένα θετικό ορολογικό HBV-δείκτη με υπεροχή του αντισώματος αντι-HBc (55%). Αντίστοιχα, στη μελέτη των Cacciola και συν (16) 46 από τους συνολικά 66 ασθενείς με χρόνια λοίμωξη από τον HCV και λανθάνουσα ηπατίτιδα Β ήταν θετικοί για το αντίσωμα αντι-HBc. Τέλος, οι Kao και συν (29) σε μια πρόσφατη μελέτη ανέφεραν ότι όλοι οι ασθενείς με λανθάνουσα λοίμωξη από τον HBV ήταν θετικοί για το αντίσωμα αντι-HBc (μόνο ή σε συνδυασμό με το αντίσωμα αντι-HBs).

Αξίζει να αναφερθεί, ότι οροθετικότητα για το HBV-DNA διαπιστώθηκε και σε σημαντικό ποσοστό των HCV/αντι-HBs θετικών Ελλήνων ασθενών (24.2%), υποδεικνύοντας την παρουσία υπολειμματικής ιαιμίας ακόμα και σε περιπτώσεις φυσικής ανοσίας κατά του HBV. Η παρατήρηση αυτή βρίσκεται σε συμφωνία με τα αποτελέσματα άλλων μελετών (14,15,18,21,23,29,31,34). Αναλυτικότερα, οι Kazemi-Shirazi και συν (14) παρατήρησαν ότι το 22.2% των

HCV/HBV-DNA θετικών ασθενών παρουσίαζαν το αντίσωμα αντι-HBs, ενώ το αντίστοιχο ποσοστό στη μελέτη των Giannini και συν (34) ήταν 25%. Εξίσου ενδιαφέρουσα είναι η παρατήρηση της παρουσίας λανθάνουσας ιαιμίας από τον HBV σε ασθενείς αρνητικούς για όλους τους ορολογικούς δείκτες προηγούμενης λοίμωξης από τον HBV (14,15,18,21,31,34). Όπως προαναφέρθηκε, το 53.1% των ασθενών με λανθάνουσα ηπατίτιδα Β στη μελέτη μας ήταν αρνητικοί για όλους τους δείκτες, ενώ τα αντίστοιχα ποσοστά σε πρόσφατες μελέτες των Nirei και συν (23) και Giannini και συν (34) ήταν 33.3% και 37.5%, αντίστοιχα.

Ο Torbenson και συν (38) συνοψίζοντας τα αποτελέσματα άλλων ερευνών σχετικών με την παρουσία λανθάνουσας ηπατίτιδας Β σε περιπτώσεις χρόνιας ηπατίτιδας C αναφέρουν ότι 35% αυτών των ασθενών με λανθάνουσα ιαιμία από τον HBV είναι θετικοί για το αντι-HBs, το 42% είναι θετικοί για το αντι-HBc και το 22% είναι αρνητικοί και για τα δύο αυτά αντισώματα. Πιθανόν, η διαφορετική συχνότητα των ορολογικών δεικτών στις διάφορες έρευνες να οφείλεται στη διαφορετική γεωγραφική ενδημικότητα της λοίμωξης από τον HBV και στα ιδιαίτερα δημογραφικά χαρακτηριστικά των υπό εξέταση ασθενών.

Τα αποτελέσματα της μελέτης μας δείχνουν ότι δε φαίνεται να υπάρχει σημαντική στατιστική συσχέτιση της ηπατικής βιοχημείας, του ιικού φορτίου (για τον HCV), του γονοτύπου του HCV, του κλινικού σταδίου, της φλεγμονώδους δραστηριότητας ή της ηπατικής ίνωσης με την παρουσία του HBV-DNA τόσο στους HCV-ασθενείς όσο και στους ασθενείς με διάφορα άλλα χρόνια μη ιογενή ηπατικά νοσήματα. Παρόλα αυτά, αν και υπάρχουν ενδείξεις ότι η λανθάνουσα ηπατίτιδα Β μπορεί να αποτελέσει αίτιο χρόνιας

ηπατίτιδας αγνώστου αιτιολογίας (8,13), δεν έχει διευκρινιστεί ακόμα αν μπορεί να επηρεάσει τα κλινικά χαρακτηριστικά και την εξέλιξη της σχετιζόμενης με τον HCV-ηπατικής νόσου.

Αναλυτικότερα, πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει μια πιθανή επιδείνωση της ηπατικής βιοχημείας στους ασθενείς αυτούς (15,26) η οποία όμως δεν επιβεβαιώθηκε από άλλους ερευνητές (14,23,27,33,34). Για παράδειγμα, οι Fukuda και συν (15) μελετώντας 65 ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C ανέδειξε υψηλότερες τιμές ALT στους ασθενείς με λανθάνουσα ηπατίτιδα B, το οποίο έρχεται σε αντίθεση με τα ευρήματα των Nirei και συν (23), Kazemi-Shirazi και συν (14), Giannini και συν (34) και Khattab και συν (33).

Η επίδραση της λανθάνουσας ηπατίτιδας B στα επίπεδα του HCV-RNA, επίσης, παραμένει ασαφής. Οι Fukuda και συν (15) ανέφεραν υψηλότερα επίπεδα HCV-RNA στους ασθενείς με θετικό HBV-DNA, αλλά τα αποτελέσματα τους ήταν στατιστικώς σημαντικά μόνο για το γονότυπο 1b. Αντίθετα, οι Kazemi-Shirazi και συν (14) ανέφεραν ότι ασθενείς με θετικό HBV-DNA στον ορό ήταν συχνότερα αρνητικοί για το HCV-RNA, υποδεικνύοντας πιθανή ανασταλτική δράση του HBV επί του HCV. Οι περισσότερες μελέτες, πάντως, όπως και η δικιά μας, δε βρίσκουν συσχέτιση των επιπέδων του HCV-RNA ή του γονοτύπου με την παρουσία ή όχι λανθάνουσας ηπατίτιδας B (16,23,34).

Άλλοι ερευνητές συσχέτισαν την παρουσία λανθάνουσας ιαιμίας από τον HBV με βαρύτερη ιστολογική εικόνα όσον αφορά είτε τη φλεγμονώδη δραστηριότητα είτε την ηπατική ίνωση και κίρρωση (10,15,16,21,28,35). Για παράδειγμα οι Cacciola και συν (16) σε μελέτη 200 ασθενών διαπίστωσαν ότι το 33% αυτών με λανθάνουσα ηπατίτιδα B και λοίμωξη από τον HCV



παρουσίαζαν, ιστολογικά, κίρρωση σε σύγκριση με το 19% των ασθενών που έπασχαν μόνο από χρόνια ηπατίτιδα C ( $p=0.04$ ). Επιπλέον, οι Fukuda και συν (15) διαπίστωσαν ότι οι 34 ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C και HBV-ιαιμία εκ του συνόλου των 65 ασθενών με χρόνια ηπατίτιδα C είχαν χειρότερη ιστολογική εικόνα σε σχέση με τους HBV-DNA αρνητικούς ασθενείς (χωρίς παράλα αυτά τα αποτελέσματά τους να είναι στατιστικώς σημαντικά). Σε μια παλαιότερη μελέτη των Villa και συν (21), 77.7% των ασθενών με κίρρωση λόγω χρόνιας λοίμωξης από τον HCV παρουσίαζαν λανθάνουσα ηπατίτιδα B, έναντι 10% των ασθενών με ιστολογικά ευρήματα χρόνιας ηπατίτιδας. Τέλος, οι Sagnelli και συν (28) και οι De Maria και συν (35) ταυτίζοντας σχετικά «αυθαίρετα» την παρουσία του αντισώματος αντι-HBc με την ύπαρξη λανθάνουσας ηπατίτιδας B διαπίστωσαν υψηλότερα ποσοστά κίρρωσης στους αντι-HBc θετικούς σε σχέση με τους αντι-HBc αρνητικούς ασθενείς με χρόνια λοίμωξη από τον HCV (72.7% έναντι 46.4% και 32% έναντι 21%, αντίστοιχα).

Αντίθετα, οι Hui και συν (22), προσφάτως, διαπίστωσαν ότι 19.4% των ασθενών με χρόνια λοίμωξη από τον HCV και λανθάνουσα ηπατίτιδα B είχαν αναπτύξει κίρρωση, σε σύγκριση με το 18.6% των ασθενών χωρίς λανθάνουσα ιαιμία από τον HBV ( $p=0.946$ ). Τα ευρήματα αυτά είχαν επιβεβαιωθεί σε προηγούμενες μελέτες (14,25,29,30,33,34), ενισχύοντας την άποψη ότι η λανθάνουσα ηπατίτιδα B δεν επιταχύνει την εξέλιξη προς κίρρωση στους ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C. Συγκεκριμένα, οι Da Silva και συν (30) διαπίστωσαν ότι 2 από τους 10 ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C (20%) και θετικό HBV-DNA και 6 από τους 49 ασθενείς (12%) με αρνητικό HBV-DNA παρουσίαζαν κίρρωση στη βιοψία ήπατος ( $P>0.05$ ). Επιπλέον, στη

μελέτη των Kao και συν (29), η παρουσία της λανθάνουσας ιαιμίας από τον HBV δεν σχετιζονταν με τη βαρύτητα της ηπατικής νόσου (14.5% των ασθενών με χρόνια ηπατίτιδα C, 8% των ασθενών με HCV-σχετιζόμενη κίρρωση και 22% των ασθενών με HCV-σχετιζόμενο ηπατοκυτταρικό καρκίνο παρουσίαζαν λανθάνουσα ηπατίτιδα B) ( $P>0.05$ ). Παρομοίως στις μελέτες των Kazemi-Shirazi και συν (14) και των Khattab και συν (33) ο βαθμός της ίνωσης και φλεγμονώδους δραστηριότητας δε διέφερε στους HCV-ασθενείς με ή χωρίς λανθάνουσα ηπατίτιδα B. Τέλος, οι Giannini και συν (34) διαπίστωσαν ότι 7.1% των ασθενών με χρόνια ηπατίτιδα C και 5.7% των ασθενών με HCV-σχετιζόμενη κίρρωση παρουσίαζαν λανθάνουσα ηπατίτιδα B. Αναλυτικότερα, 6 από τους 8 HCV-ασθενείς με λανθάνουσα ηπατίτιδα B (επί του συνόλου των 119 ασθενών με χρόνια ηπατίτιδα C που μελετήθηκαν) είχαν ιστολογικά ευρήματα χρόνιας ηπατίτιδας και οι υπόλοιποι 2 ασθενείς ευρήματα κίρρωσης (34).

Παρόλο που πρόσφατα δεδομένα αποκαλύπτουν την αυξημένη συχνότητα λανθάνουσας ηπατίτιδας B σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C και ηπατοκυτταρικό καρκίνο (39,60,61), η μελέτη μας δε μπορεί να υποστηρίξει περαιτέρω την παραπάνω συσχέτιση. Πρέπει όμως να σημειωθεί, ότι η διάρκεια παρακολούθησης των ασθενών ήταν σχετικά βραχεία, προκειμένου να εξαχθούν ασφαλή συμπεράσματα. Παγκοσμίως, ο επιπολασμός των αντισωμάτων αντι-HBc και/ή αντι-HBs στους ασθενείς με χρόνια λοίμωξη από τον HCV και ηπατοκυτταρικό καρκίνο ποικίλλει από 50-90%, ενώ η παρουσία του HBV-DNA στον ορό και στο ήπαρ ποικίλει από 0-18% και 15-80% αντίστοιχα (62-68). Ο ακριβής παθογενετικός ρόλος της λανθάνουσας λοίμωξης από τον HBV δεν έχει διευκρινιστεί ακόμα. Θεωρείται, πάντως, ότι οι

ασθενείς με λανθάνουσα ηπατίτιδα Β και χρόνια λοίμωξη από τον HCV αναπτύσσουν ταχύτερα ηπατοκυτταρικό καρκίνο (68) πριν ακόμα την ανάπτυξη κίρρωσης (66). Σε μια πρόσφατη μελέτη οι Matsuzaki και συν (69) μελετώντας 16 ασθενείς με ηπατοκυτταρικό καρκίνο διαπίστωσαν την παρουσία HCV-RNA σε δείγματα από καρκινικό και μη καρκινικό ηπατικό ιστό σε ποσοστό 87.5% και 75.5%, αντίστοιχα. Παρομοίως, HBV-DNA ανιχνεύθηκε στο 50% και στο 43.8% των δειγμάτων από καρκινικό και μη καρκινικό ιστό αντίστοιχα. Ταυτόχρονη ιαιμία (HBV-DNA και HCV-RNA) διαπιστώθηκε στο 43.8% των δειγμάτων από καρκινικό και μόνο στο 25% των δειγμάτων από μη καρκινικό ιστό. Τα ευρήματα αυτά ενισχύουν την άποψη ότι η ενσωμάτωση του HBV γενώματος στο ηπατοκύτταρο και λιγότερο ο ενεργός πολλαπλασιασμός του HCV μπορεί να συμβάλλει στην καρκινογένεση.

Όσον αφορά στην ανταπόκριση στην αντιική αγωγή, τα αποτελέσματα της μελέτης μας δείχνουν μια τάση καλύτερης ανταπόκρισης στη θεραπεία τόσο της πρώιμης όσο και της παρατεταμένης στους ασθενείς με χρόνια λοίμωξη από τον HCV και αρνητικό HBV-DNA στον ορό, χωρίς όμως τα αποτελέσματα να είναι στατιστικώς σημαντικά. Τα ευρήματα μας στη συγκεκριμένη περίπτωση, πιθανόν, να μην είναι αρκετά αξιόπιστα, λόγω του μικρού σχετικά αριθμού ασθενών που έλαβαν αντιική αγωγή. Η παρουσία, πάντως, HBV-DNA στον ορό των ασθενών με χρόνια λοίμωξη από τον HCV έχει ενοχοποιηθεί ως παράγοντας μειωμένης ανταπόκρισης στην αντιική αγωγή με α-ιντερφερόνη από ορισμένους (20,31,33), αλλά όχι όλους τους ερευνητές (23,25,29,30,32). Αναλυτικά, στη μελέτη των Khattab και συν (33) κανένας από τους 4 HCV-ασθενείς με λανθάνουσα ηπατίτιδα Β δεν παρουσίασε ανταπόκριση, ενώ στη μελέτη των Zignego και συν (31) 28% των

HCV-ασθενών με λανθάνουσα ηπατίτιδα Β παρουσίασαν βιοχημική ανταπόκριση, αλλά στη συνέχεια όλοι εμφάνισαν υποτροπή (relapsers). Οι Fukuda και συν (20) απέδειξαν ότι στους ασθενείς αυτούς παρατηρείται μειωμένη έκφραση του γονιδίου που είναι υπεύθυνο για την έκφραση της πρωτεΐνης-υποδοχέα της ιντερφερόνης στο ηπατοκύτταρο. Αντίθετα, οι Kao και συν (29) ανέδειξαν παρόμοια ποσοστά ανταπόκρισης στην αγωγή (38% στους HBV-DNA θετικούς έναντι 39% στους HBV-DNA αρνητικούς ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C). Τα αντίστοιχα ποσοστά στις μελέτες των Fabris και συν (25) και Nirei και συν (23) ήταν 40% έναντι 53% και 43% έναντι 55%, τα οποία, επίσης, δεν παρουσίαζαν στατιστικώς σημαντική διαφορά.

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον στη δική μας μελέτη παρουσιάζει η παρατήρηση ότι όλοι οι ασθενείς με χρόνια λοίμωξη από τον HCV και λανθάνουσα ηπατίτιδα Β, οι οποίοι έλαβαν αντι-ική αγωγή παρουσίασαν μείωση ή και εξάλειψη της ιαιμίας από τον HBV, ανεξάρτητα από την ανταπόκριση στην αγωγή όσον αφορά τη χρόνια ηπατίτιδα C. Τα ευρήματα αυτά έρχονται σε συμφωνία με την πρόσφατη μελέτη των Hasegawa και συν (32), οι οποίοι προσδιορίζοντας, επιπλέον, τα επίπεδα του HBV-DNA κατά τη διάρκεια της μακροχρόνιας παρακολούθησης των ασθενών, παρατήρησαν ότι όλοι οι ασθενείς παρουσίασαν, τελικά, υποτροπή της ιαιμίας από τον HBV. Αυτές οι μεταβολές, πάντως, της λανθάνουσας ιαιμίας από τον HBV αναδεικνύουν ότι η λανθάνουσα ηπατίτιδα Β παρουσιάζει ευαισθησία στη χορήγηση ιντερφερόνης, γεγονός που υποδηλώνει ότι το HBV-DNA στο ήπαρ βρίσκεται εκτός από την ενσωματωμένη του μορφή και με την επισωματική .

## Συμπερασματικά:

Η πρώτη αυτή μελέτη μεγάλου δείγματος Ελλήνων ασθενών με χρόνια ηπατίτιδα C ανέδειξε την παρουσία σε σημαντικό ποσοστό λανθάνουσας ηπατίτιδας B. Η συχνότητα αυτή ήταν πολύ μεγαλύτερη σε σχέση με τα ποσοστά λανθάνουσας ιαιμίας σε ασθενείς με χρόνια μη ιογενή ηπατικά νοσήματα και σε υγιείς αιμοδότες, χωρίς όμως να υπάρχει συσχέτισή της με κλινικά, επιδημιολογικά ή δημογραφικά δεδομένα. Η αναπαραγωγή του HBV φαίνεται να καταστέλλεται από τον HCV, αφού τα επίπεδα ιαιμίας που ανιχνεύθηκαν ήταν πολύ χαμηλά. Κανένας ορολογικός δείκτης λοίμωξης από τον HBV δε βρέθηκε να σχετίζεται με την παρουσία HBV-DNA τόσο στους HCV-ασθενείς όσο και στην ομάδα ελέγχου. Τα αποτελέσματα της μελέτης μας δείχνουν ότι δε φαίνεται να υπάρχει σημαντική στατιστική συσχέτιση της ηπατικής βιοχημείας, του ιικού φορτίου (για τον HCV), του γονοτύπου του HCV, του κλινικού σταδίου, της φλεγμονώδους δραστηριότητας ή της ηπατικής ίνωσης και της ανταπόκρισης στην αντιική αγωγή με την παρουσία του HBV-DNA τόσο στους HCV-ασθενείς όσο και στους ασθενείς με διάφορα άλλα μη ιογενή χρόνια ηπατικά νοσήματα. Επομένως, η λανθάνουσα ηπατίτιδα B δε φαίνεται να επηρεάζει την εξέλιξη της HCV-σχετιζόμενης ηπατικής νόσου Ελλήνων ασθενών από την Κεντρική Ελλάδα και δε φαίνεται να επιβαρύνει σημαντικά τόσο τα κλινικά χαρακτηριστικά όσο και την ιστολογική εικόνα των ασθενών αυτών. Εντούτοις, περαιτέρω προοπτικές μελέτες μακρύτερης διάρκειας χρειάζονται, ώστε να αποσαφηνιστεί με μεγάλη ακρίβεια ο ρόλος της λανθάνουσας λοίμωξης από τον HBV στη χρόνια ηπατίτιδα C.

## BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Lee DS, et al. HCV and HBV coexist in HBsAg-negative patients with HCV viraemia: possibility of coinfection in these patients must be considered in HBV-high endemic area. *J Gastroenterol Hepatol* 1997; 12: 855-61.
2. Zarski JP, et al. Characteristics of patients with dual infection by hepatitis B and C viruses. *J Hepatol* 1998; 28: 27-33.
3. Pontisso P, et al. Coinfection by hepatitis B virus and hepatitis C virus. *Antivir Ther* 1998; (Suppl 3): 137-42.
4. Sagnelli E, et al. Virologic and clinical expressions of reciprocal inhibitory effect of hepatitis B, C and delta viruses in patients with chronic hepatitis. *Hepatology* 2000; 32: 1106-10.
5. Villa E, et al. High doses of alpha-interferon are required in chronic hepatitis due to coinfection with hepatitis B and hepatitis C virus: long term results of a prospective randomized trial. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 2973-7.
6. Weltman MD, et al. Coinfection with hepatitis B and C or B, C and delta viruses results in severe chronic liver disease and responds poorly to interferon-alpha treatment. *J Viral Hepat* 1995; 2: 39-45.
7. Chiamonte M, et al. Rate of incidence of hepatocellular carcinoma in patients with compensated viral cirrhosis. *Cancer* 1999; 85: 2132-7.
8. Berasain C, et al. Pathological and virological findings in patients with persistent hypertransaminasaemia of unknown aetiology. *Gut* 2000; 47: 429-435.

9. Fukuda R, et al. Hepatitis B virus X gene mutation is associated with the majority of serologically «silent» non-B, non-C chronic hepatitis. *Microbiol Immunol* 1996; 40: 481-8.
10. Uchida T, et al. «Silent» hepatitis B virus mutants are responsible for non-A, non-B, non-C, non-D, non-E hepatitis. *Microbiol Immunol* 1994; 38: 281-45.
11. Zhang YY, et al Hepatitis B virus DNA in serum and liver is commonly found in Chinese patients with chronic liver disease despite the presence of antibodies to HBsAg. *Hepatology* 1993; 17; 538-44.
12. Shiota G, et al. Occult hepatitis B virus infection in HBsAg-negative hepatocellular carcinoma in a Japanese population: involvement of HBx and p53. *J Med Virol* 2000; 62: 151-58.
13. Chemin I, et al. High incidence of hepatitis B infections among chronic hepatitis cases of unknown aetiology. *J Hepatol* 2001; 34: 447-54.
14. Kazemi-Shirazi L, et al. Hepatitis B virus DNA in sera and liver tissue of HBsAg negative patients with chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2000; 33: 785-90.
15. Fukuda R, et al. Serologically silent hepatitis B virus coinfection in patients with hepatitis C virus-associated chronic liver disease: clinical and virological significance. *J Med Virol* 1999; 58: 201-7.
16. Cacciola I, et al. Occult hepatitis B virus infection in patients with chronic hepatitis C liver disease. *N Engl J Med* 1999; 341: 22-26.
17. Pontisso P, et al. Clinical and virological profiles in patients with multiple hepatitis virus infections. *Gastroenterology* 1993; 105; 1529-33.

18. Uchida T, et al. Hepatitis C virus is frequently coinfecting serum marker-negative hepatitis B virus; probable replication promotion of the former by the latter as demonstrated by in vitro cotransfection. *J Med Virol* 1997; 52: 399-405.
19. Koike K, et al. Hepatitis B virus DNA is frequently found in liver biopsy samples from hepatitis C virus-infected chronic hepatitis patients. *J Med Virol* 1998; 54: 249-55.
20. Fukuda R, 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: 220-7.
21. Villa E, et al. Evidence for hepatitis B virus infection in patients with chronic hepatitis C with and without serological markers of hepatitis B. *Dig Dis Sci* 1995; 40: 8-13.
22. Hui CK, et al. Fibrosis progression in chronic hepatitis C patients with occult hepatitis B co-infection. *J Clin Virol* 2006; 35:185-92.
23. Nirei K, et al. 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.
24. Jilg W, et al. Individuals with antibodies against hepatitis B core antigen as the only serological marker for hepatitis B infection: high percentage of carriers of hepatitis B and C virus. *J Hepatol* 1995; 23: 14-20.
25. Fabris P, et al. Occult hepatitis B virus infection does not affect liver histology or response to therapy with interferon alpha and ribavirin in



- intravenous drug users with chronic hepatitis C. *J Clin Virol*. 2004 ; 29: 160-6.
26. Stransky J, et al. Overt and hidden co-infection with hepatitis B and C viruses in chronic liver disease and porphyria cutanea tarda. *Acta Virol* 2000; 44: 23-28.
  27. Fujiwara K, et al. Lack of association between occult hepatitis B virus DNA viral load and aminotransferase levels in patients with hepatitis C virus-related chronic liver disease. *J Gastroenterol Hepatol* 2004; 19: 1343–1347.
  28. Sagnelli E, et al. HCV genotype and «silent» HBV coinfection: two main risk factors for a more severe liver disease. *J Med Virol* 2001; 64: 350-5.
  29. Kao JH, et al. Occult hepatitis B virus infection and clinical outcomes of patients with chronic hepatitis C. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 4068-71.
  30. Silva C, et al. The influence of occult infection with hepatitis B virus on liver histology and response to interferon treatment in chronic hepatitis C patients. *Braz J Inf Dis* 2004; 8: 431-9.
  31. Zignego AL, et al. Relevance of inapparent coinfection by hepatitis B virus in alpha interferon treated patients with hepatitis C virus chronic hepatitis. *J Med Virol* 1997; 51: 313-8.
  32. Hasegawa I, et al. Impact of occult hepatitis B virus infection on efficacy and prognosis of interferon- $\alpha$  therapy for patients with chronic hepatitis C. *Liver Int* 2005; 25: 247–253.
  33. Khattab E, et al. Analysis of HCV co-infection with occult hepatitis B virus in patients undergoing IFN therapy. *J Clin Virol* 2005; 33: 150–157.

34. Giannini E, 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: 12-8.
35. De Maria N, et al. The impact of previous HBV infection on the course of chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 3529-36.
36. Porchon C, 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: 184-9.
37. EASL International consensus conference on hepatitis B, 13-14 September 2002, Geneva, Switzerland, Consensus statement. *J Hepatol* 2003; 38: 533-40.
38. Torbenson M, et al. Occult hepatitis B. *Lancet Infect Dis* 2002; 2: 479-86.
39. Hu KQ, et al. Occult hepatitis B virus infection and its clinical implications. *J Viral Hepat* 2002; 9: 243-57.
40. EASL International Consensus Conference on Hepatitis C. Consensus Statement. *J Hepatol* 1999; 30: 956-961.
41. Obermayer-Sraub P, et al. Hepatitis C and D, retroviruses and autoimmune manifestations. *J Autoimmunity* 2001; 16: 275-285.
42. Dalekos GN, et al. Increased incidence of anti-cardiolipin antibodies in patients with hepatitis C is not associated with aetiopathogenetic link to anti-phospholipid syndrome. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2000; 12: 67-74.
43. Zachou K, et al. 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.

44. Liaskos C, et al. Prevalence and clinical significance of anticardiolipin antibodies in patients with type 1 autoimmune hepatitis. *J Autoimmun* 2005; 24: 251-60.
45. Zachou K, et al. Presence of high avidity anticardiolipin antibodies in patients with autoimmune cholestatic liver diseases. *Clin Immunol*. 2006; 119: 203-12.
46. Knodell's KG, et al. Formulation and application of a numeric scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic hepatitis. *Hepatology* 1981; 1:431-435.
47. Cabrerizo M, et al. Molecular analysis of hepatitis B virus DNA in serum and peripheral mononuclear cells from hepatitis B surface antigen-negative cases. *Hepatology* 2000; 32: 116-23.
48. Cacciola I, et al. Quantification of intrahepatic hepatitis B virus (HBV) DNA in patients with chronic HBV infection. *Hepatology* 2000; 31: 507-12.
49. Weinberger KM, et al. High genetic variability of the group-specific  $\alpha$ -determinant of hepatitis B virus surface antigen (HBsAg) and the corresponding fragment of the viral polymerase in chronic virus carriers lacking detectable HBsAg in serum. *J General Virol* 2000; 81: 1165-74.
50. Ohkawa K, et al. Long term follow up of hepatitis B virus and hepatitis C virus replicative levels in chronic hepatitis patients coinfecting with both viruses. *J Med Virol* 1995; 46: 258-64.
51. Sheen IS, et al. Role of hepatitis C virus infection in spontaneous hepatitis B surface antigen clearance during hepatitis B virus infection. *J Infect Dis* 1992; 165: 831-4.

52. Squadrito G, et al. Virological profiles in patients with chronic hepatitis C and overt or occult HBV infection. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 1528-23.
53. Jardi R, et al. Role of hepatitis B, C and D viruses in dual and triple infection: influence of viral genotypes and hepatitis B precore and basal core promoter mutations on viral replicative interference. *Hepatology* 2001; 34: 404-10.
54. Schuttler CG, et al. Suppression of hepatitis B virus enhancer 1 and 2 by hepatitis C virus core protein. *J Hepatol* 2002; 37: 855-62.
55. Shih CM, et al. Suppression of hepatitis B virus expression and replication by hepatitis C virus core protein in HuH-7 cells. *J Virol* 1993; 67: 5823-32.
56. Shih CM, et al. Modulation of the trans-suppression activity of hepatitis C virus core protein by phosphorylation. *J Virol* 1995; 69: 1160-71.
57. Chen SY, et al. Mechanisms for inhibition of hepatitis B virus gene expression and replication by hepatitis C virus core protein. *J Biol Chem* 2003; 278: 591-607.
58. Torbenson M, et al. High prevalence of occult hepatitis B in Baltimore injection drug users. *Hepatology* 2004; 39: 51-7.
59. Besisik F, et al. Occult HBV infection and YMDD variants in hemodialysis patients with chronic HCV infection. *J Hepatol* 2003; 38: 506-10.
60. Kubo S, et al. Previous or occult hepatitis B virus infection in hepatitis C virus-associated hepatocellular carcinoma without hepatic fibrosis. *Dig Dis Sci* 2001; 46: 2408-14.

61. Tamori A, et al. Sequencing of human-viral DNA junctions in hepatocellular carcinoma from patients with HCV and occult HBV infection. *J Med Virol* 2003; 69: 475-81.
62. Sheu JC, et al. Hepatitis C and B viruses in hepatitis B surface antigen-negative hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 1992; 103: 1322-7.
63. Paterlini P, et al. Persistence of hepatitis B and hepatitis C viral genomes in primary liver cancers from HBsAg-negative patients: a study of a low-endemic area. *Hepatology* 1993; 17: 20-9.
64. Enriquez J, et al. Demonstration of HCV-RNA and HBV-DNA in the serum of HBsAg negative patients with hepatocellular carcinoma. *Eur J Epidemiol* 1994; 10: 189-94.
65. Marusawa H, et al. High prevalence of anti-hepatitis B virus serological markers in patients with hepatitis C virus related chronic liver disease in Japan. *Gut* 1999; 45; 284-8.
66. Kubo S, et al. Clinical significance of prior hepatitis B virus infection in patients with hepatitis C virus-related hepatocellular carcinoma. *Cancer* 1999; 86: 793-8.
67. Shiratori Y, et al. Does dual infection by hepatitis B and C viruses play an important role in the pathogenesis of hepatocellular carcinoma in Japan? *Cancer* 1997; 80: 2060-7.
68. Kubo S, et al. Development of hepatocellular carcinoma in patients with HCV infection, with or without past HBV infection and relationship to age at the time of transfusion. *Vox Sang* 1998; 74: 129.

69. Matsuzaki Y, et al. HBV genome intergration and genetic instability in HBsAg-negative and anti-HCV-positive hepatocellular carcinoma in Japan. *Cancer Lett* 1997; 119: 53-61.

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΚΑΙ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Ο ιός της ηπατίτιδας Β (HBV) και ο ιός της ηπατίτιδας C (HCV) θεωρούνται οι πιο συχνές αιτίες χρόνιας ηπατικής νόσου παγκοσμίως. Η κύρια οδός μετάδοσης των δύο ιών γίνεται παρεντερικά και οι παράγοντες κινδύνου για την μετάδοση αυτών είναι παρόμοιοι. Έτσι, η συν-λοίμωξη από τον HCV και τον HBV δεν είναι σπάνια, ιδιαίτερα μάλιστα σε ενδημικές περιοχές. Η ενεργός συν-λοίμωξη από τον HBV και τον HCV έχει συνδεθεί, σε πολλές μελέτες, με βαρύτερη ηπατική νόσο, αυξημένη πιθανότητα ανάπτυξης ηπατοκυτταρικού καρκινώματος και αντίσταση στη θεραπεία με α-ιντερφερόνη.

Ως «λανθάνουσα» ηπατίτιδα Β ορίζεται η παρουσία HBV-DNA στον ορό ή στο ήπαρ ασθενών με αρνητικό HBsAg. Η συχνότητα και η κλινική σημασία της λανθάνουσας ηπατίτιδας Β σε ασθενείς με χρόνια λοίμωξη από τον HCV παραμένει άγνωστη στη χώρα μας. Επιπλέον, η κλινική σημασία της λανθάνουσας λοίμωξης από τον HBV στην εξέλιξη της χρόνιας ηπατίτιδας C παραμένει ασαφής.

Στόχοι της παρούσης εργασίας ήταν:

- Ο προσδιορισμός της συχνότητας της λανθάνουσας ηπατίτιδας από τον HBV σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C από την Κεντρική Ελλάδα.
- Η εκτίμηση της κλινικής σημασίας της λανθάνουσας ηπατίτιδας Β στην εξέλιξη της χρόνιας ηπατίτιδας C. Για το λόγο αυτό, η παρουσία του HBV-DNA συσχετίστηκε, επιπλέον, με επιδημιολογικά, κλινικά, εργαστηριακά, ιολογικά και ιστολογικά δεδομένα των ασθενών με χρόνια λοίμωξη από τον HCV, καθώς και με την ανταπόκριση στη

θεραπεία εκείνων των ασθενών που έλαβαν αντιική αγωγή με αιντερφερόνη.

Την ομάδα ελέγχου της μελέτης μας αποτέλεσαν 100 ασθενείς με διάφορα άλλα μη ιογενή ηπατικά νοσήματα καθώς και 282 υγιείς αιμοδότες.

Η συχνότητα ανεύρεσης λανθάνουσας ηπατίτιδας Β ήταν, στατιστικώς, σημαντικά μεγαλύτερη στους ασθενείς με χρόνια λοίμωξη από τον HCV τόσο σε σχέση με την ομάδα ελέγχου όσο και με τους υγιείς αιμοδότες. Σε συμφωνία με άλλους ερευνητές, τα επίπεδα της ιαιμίας του HBV στους ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C βρέθηκαν πολύ χαμηλά, υποδηλώνοντας πιθανό ανασταλτικό ρόλο του HCV επί του HBV, όπως έχει αναφερθεί, άλλωστε, στην ενεργό συν-λοίμωξη από τον HBV και τον HCV.

Στους ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C, η παρουσία του HBV-DNA δε συσχετιζόταν με την ηλικία, το φύλο, την πηγή και τη διάρκεια της λοίμωξης καθώς και άλλους δημογραφικούς ή επιδημιολογικούς παράγοντες (ιστορικό εγχειρήσεων στο παρελθόν, τατουάζ, ενέσεις με κοινόχρηστες σύριγγες, παραδοσιακές πρακτικές).

Επιπρόσθετα, η οροθετικότητα του HBV-DNA στους ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C και στην ομάδα ελέγχου δε σχετιζόταν με διάφορες κλινικές (όπως την παρουσία ή όχι συμπτωμάτων και εξωηπατικών εκδηλώσεων και το στάδιο της νόσου) και εργαστηριακές παραμέτρους. Παρομοίως, η παρουσία του HBV-DNA στους ασθενείς με χρόνια λοίμωξη από τον HCV δε σχετιζόταν με ιολογικές παραμέτρους (επίπεδα του HCV-RNA και γονότυπος του HCV).

Κανένας ορολογικός δείκτης λοίμωξης από τον HBV δε βρέθηκε να σχετίζεται με την παρουσία HBV-DNA τόσο στους ασθενείς με χρόνια HCV



λοίμωξη όσο και στην ομάδα ελέγχου. Στους 107 ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C που υπεβλήθησαν σε βιοψία ήπατος, η παρουσία του HBV-DNA δε σχετιζονταν με τη βαρύτητα των ιστολογικών δεδομένων.

Τέλος, δε βρέθηκε συσχέτιση μεταξύ της οροθετικότητας για HBV-DNA και της ανταπόκρισης στην θεραπεία (βιοχημικής, ιολογικής και ιστολογικής) τόσο της πρώιμης όσο και της παρατεταμένης (6 μήνες μετά το τέλος της αγωγής).

Συμπερασματικά, η πρώτη αυτή μελέτη μεγάλου δείγματος Ελλήνων ασθενών με χρόνια ηπατίτιδα C ανέδειξε την παρουσία σε σημαντικό ποσοστό λανθάνουσας ηπατίτιδας B. Η συχνότητα αυτή ήταν πολύ μεγαλύτερη σε σχέση με τα ποσοστά λανθάνουσας ιαιμίας σε ασθενείς με χρόνια μη ιογενή ηπατικά νοσήματα και σε υγιείς αιμοδότες. Η αναπαραγωγή του HBV φαίνεται να καταστέλλεται από τον HCV, αφού τα επίπεδα ιαιμίας που ανιχνεύθηκαν ήταν πολύ χαμηλά, χωρίς να μπορεί να αποκλειστεί και η αυτόματη κάθαρση του ιού. Κανένας ορολογικός δείκτης λοίμωξης από τον HBV δε βρέθηκε να σχετίζεται με την παρουσία HBV-DNA τόσο στους HCV-ασθενείς όσο και στην ομάδα ελέγχου. Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης δείχνουν ότι η λανθάνουσα HBV λοίμωξη δε φαίνεται να επηρεάζει την εξέλιξη της HCV-σχετιζόμενης ηπατικής νόσου και δεν επιβαρύνει σημαντικά τόσο τα κλινικά χαρακτηριστικά όσο και την ιστολογική εικόνα των ασθενών αυτών. Εντούτοις, περαιτέρω προοπτικές μελέτες μακρύτερης διάρκειας χρειάζονται, ώστε να αποσαφηνιστεί με μεγάλη ακρίβεια ο ρόλος της λανθάνουσας λοίμωξης από τον HBV στη χρόνια ηπατίτιδα C.

## SUMMARY AND CONCLUSIONS

Hepatitis B virus (HBV) and hepatitis C virus (HCV) infections are considered to be the most common causes of liver disease worldwide. Both viruses are transmitted, mainly, parenterally and they share similar risk factors for transmission. As a consequence the combined HBV and HCV infection is quite frequent, especially in HBV-endemic areas. Overt HBV and HCV coinfection has been reported to be associated with a more severe liver disease, increased frequency of hepatocellular carcinoma and resistance to  $\alpha$ -interferon ( $\alpha$ -IFN) therapy.

Occult HBV infection is characterised by undetectable serum HBsAg but detectable HBV-DNA in serum or liver. So far, data on the prevalence and clinical significance of occult HBV infection in patients with chronic hepatitis C are missing in our country. In addition, the clinical impact of occult HBV on HCV-related disease remains controversial.

The aims of the present study were:

- To determine the prevalence of occult HBV infection in a large sample of consecutive patients with chronic HCV infection from Central Greece.
- To explore the possible clinical impact of occult HBV infection on HCV-related disease. For this reason the presence or absence of HBV-DNA was associated with epidemiological, clinical, laboratory, virologic, histologic data and HBV serologic markers as well as with the response to antiviral therapy.

As control groups we investigated 100 patients with diverse non-viral chronic liver diseases (disease control group) and 282 blood donors (healthy control group).

The detection of HBV-DNA was significantly more frequent in patients with HCV infection compared with the disease control group, as well as with the healthy control group. In agreement with other reports we found low levels of HBV viremia in patients with HCV and occult HBV infection indicating a possible inhibitory effect of HCV on HBV as it has been reported for overt HBV and HCV co-infection.

HBV-DNA seropositivity was associated neither with age, sex, the source and the duration of HCV infection nor with certain epidemiological and demographic factors (operations, conduction of tattoos, traditional practices, etc.).

In addition, the detection of HBV-DNA both in HCV-infected patients and in the disease control group was not associated with several clinical (such as symptoms, disease stage, associated diseases) and laboratory parameters studied. Likewise, HBV-DNA seropositivity was not associated with virological parameters (HCV-RNA levels, HCV-genotype) in HCV patients.

Occult HBV infection was not found to be associated with each of the serologic markers of HBV infection both in HCV-infected patients and the disease control group. In the 107 HCV-infected patients who had undergone liver biopsy, HBV-DNA positivity was not associated with liver histology.

Finally, HBV-DNA seropositivity was not associated with the response to therapy (biochemical, virologic or histologic) either at the end of treatment or 6 months after completion of therapy.

In conclusion, we showed that a significant proportion of Greek patients with hepatitis C have occult HBV infection. The frequency of detectable HBV-DNA was significantly increased in patients with chronic HCV-related liver disease compared to those with non-HCV-related liver diseases and healthy controls. HBV replication in HCV cases with concurrent occult HBV infection is rather inhibited by the HCV, since low levels of HBV-DNA were detected. However, a spontaneous conversion/virus clearance cannot be excluded. From the clinical point of view, we demonstrated that no serologic marker of HBV infection should be used as a surrogate indicator of occult HBV infection in HCV-infected patients and in patients with non-viral hepatic diseases. Occult HBV infection does not seem to affect the clinical features and the histologic progression of liver disease in both Greek patients' groups. However, additional studies of long-term clinical and laboratory follow-up with repeatedly PCR investigations are rather needed in order to better clarify and understand the pathobiological basis and significance of occult hepatitis B.