

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

ΤΟΜΕΑΣ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΗ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ ΚΑΙ
ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ

ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ Γ. Ν. ΝΤΑΛΕΚΟΣ

**ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΙΑΙΜΙΑΣ ΑΠΟ ΤΟΝ ΙΟ
ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ Β (HBV) ΜΕ ΤΗΝ ΧΡΗΣΗ
ΠΡΑΓΜΑΤΙΚΟΥ ΧΡΟΝΟΥ PCR ΣΕ
ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΠΟΥ ΒΡΙΣΚΟΝΤΑΙ ΣΕ
ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΥΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ ΓΙΑ ΧΡΟΝΙΑ
ΝΕΦΡΙΚΗ ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑ**

ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ Δ. ΜΗΝΑ
ΜΟΡΙΑΚΗ ΒΙΟΛΟΓΟΣ, BSc, MSc, DIC

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΥΠΟΒΛΗΘΗΚΕ ΣΤΟ ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ
ΤΗΣ ΣΧΟΛΗΣ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΛΑΡΙΣΑ 2009

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

Κουκούλης Γεώργιος, Καθηγητής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Νταλέκος Γεώργιος, Καθηγητής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

(Επιβλέπων)

Επταμελής Εξεταστική Επιτροπή

Σταθάκης Νικόλαος, Καθηγητής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Κουκούλης Γεώργιος, Καθηγητής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Νταλέκος Γεώργιος, Καθηγητής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας (Επιβλέπων)

Στεφανίδης Ιωάννης, Αναπληρωτής Καθηγητής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Λιακόπουλος Βασίλειος, Επίκουρος Καθηγητής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Ρηγοπούλου Ειρήνη, Επίκουρη Καθηγήτρια Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Μακαρίτσης Κωνσταντίνος, Λέκτορας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ.....	7
---------------	---

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	9
--------------------	---

ΚΕΦΑΛΑΙΟ Α΄	10
--------------------------	----

ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ Β.....	10
------------------	----

1. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ.....	10
-----------------------	----

2. ΤΡΟΠΟΙ ΜΕΤΑΔΟΣΗΣ ΤΗΣ ΝΟΣΟΥ	13
-------------------------------------	----

3. Ο ΙΟΣ ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ Β (HBV)	19
---------------------------------------	----

3.1. Η ΔΟΜΗ	19
-------------------	----

3.2. ΜΕΤΑΛΛΑΓΕΣ ΤΟΥ HBV	23
-------------------------------	----

3.3. ΟΙ ΓΟΝΟΤΥΠΟΙ ΤΟΥ HBV	29
---------------------------------	----

4. ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΤΗΣ ΛΟΙΜΩΞΗΣ ΑΠΟ ΤΟΝ HBV.....	32
---	----

5. ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ Β.....	40
---	----

5.1. ΟΞΕΙΑ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ Β.....	40
-----------------------------	----

5.2. ΧΡΟΝΙΑ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ Β	41
-------------------------------	----

5.3. ΛΟΙΜΩΞΗ ΑΠΟ ΤΟΝ ΙΟ ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ D (HDV).....	45
---	----

6. ΠΡΟΦΥΛΑΞΗ ΑΠΟ ΤΟΝ HBV.....	47
-------------------------------	----

6.1. ΠΑΘΗΤΙΚΗ ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΣΗ.....	47
--------------------------------	----

6.2. ΕΝΕΡΓΗΤΙΚΗ ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΣΗ.....	48
----------------------------------	----

ΚΕΦΑΛΑΙΟ Β΄	50
--------------------------	----

ΛΑΝΘΑΝΟΥΣΑ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ Β.....	50
-----------------------------	----

1. ΟΡΙΣΜΟΣ	50
------------------	----

2. ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ ΛΑΝΘΑΝΟΥΣΑΣ ΛΟΙΜΩΞΗΣ ΑΠΟ ΤΟΝ HBV	52
--	----

3. ΚΛΙΝΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΛΑΝΘΑΝΟΥΣΑΣ HBV ΛΟΙΜΩΞΗΣ	58
---	----

3.1. ΛΑΝΘΑΝΟΥΣΑ HBV ΛΟΙΜΩΞΗ ΚΑΙ ΜΕΤΑΔΟΣΗ ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ Β	58
---	----

3.1.1. Μεταγγίσεις παραγώγων αίματος	58
--	----

3.1.2. Μεταμοσχεύσεις οργάνων και ανοσοκαταστολή	62
--	----

3.2. ΛΑΝΘΑΝΟΥΣΑ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ Β ΚΑΙ ΚΕΡΑΥΝΟΒΟΛΟΣ ΗΠΑΤΙΚΗ ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑ (ΚΗΑ)	64
--	----

3.3. ΛΑΝΘΑΝΟΥΣΑ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ Β ΚΑΙ ΧΡΟΝΙΑ ΗΠΑΤΙΚΗ ΝΟΣΟΣ	65
--	----

3.4. ΛΑΝΘΑΝΟΥΣΑ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ Β ΚΑΙ ΕΠΑΝΑΔΡΑΣΤΗΡΙΟΠΟΙΗΣΗ ΧΡΟΝΙΑΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ Β.....	68
3.5. ΛΑΝΘΑΝΟΥΣΑ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ Β ΚΑΙ ΗΠΑΤΟΚΥΤΤΑΡΙΚΟΣ ΚΑΡΚΙΝΟΣ ..	70
3.6. ΛΑΝΘΑΝΟΥΣΑ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ Β ΚΑΙ ΧΡΟΝΙΑ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ C	72
3.7. ΛΑΝΘΑΝΟΥΣΑ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ Β ΚΑΙ ΧΡΟΝΙΑ ΝΕΦΡΙΚΗ ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑ..	78
ΚΕΦΑΛΑΙΟ Γ'	79
ΧΡΟΝΙΑ ΝΕΦΡΙΚΗ ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑ	79
1. ΟΡΙΣΜΟΣ	79
2. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ.....	79
3. ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΑ.....	80
4. ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ ΤΗΣ ΧΡΟΝΙΑΣ ΝΕΦΡΙΚΗΣ ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑΣ.....	81
5. ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ.....	82
5.1. ΣΤΑΔΙΑ ΤΗΣ ΧΡΟΝΙΑΣ ΝΕΦΡΙΚΗΣ ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑΣ	82
5.2. ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΕΠΙΠΛΟΚΕΣ.....	84
5.3. ΟΥΡΑΙΜΙΚΟ ΣΥΝΔΡΟΜΟ	89
6. ΘΕΡΑΠΕΙΑ	93
6.1. ΣΥΝΤΗΡΗΤΙΚΗ ΑΓΩΓΗ	93
6.2. ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΝΕΦΡΙΚΗΣ ΥΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ	100
7. ΒΑΣΙΚΕΣ ΑΡΧΕΣ ΤΩΝ ΜΕΘΟΔΩΝ ΕΞΩΝΕΦΡΙΚΗΣ ΚΑΘΑΡΣΗΣ	102
7.1. ΑΙΜΟΚΑΘΑΡΣΗ.....	102
7.2. ΣΥΝΕΧΗΣ ΦΟΡΗΤΗ ΠΕΡΙΤΟΝΑΪΚΗ ΚΑΘΑΡΣΗ (ΣΦΠΚ)	103
7.3. ΑΙΜΟΔΙΗΘΗΣΗ.....	104
7.4. ΑΙΜΟΔΙΑΔΙΗΘΗΣΗ.....	104
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	105

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	147
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	148
2. ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	151
2.1. ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΠΟΥ ΒΡΙΣΚΟΝΤΑΙ ΣΕ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΥΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ ΓΙΑ ΧΡΟΝΙΑ ΝΕΦΡΙΚΗ ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑ	151
2.2. ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ HBV-DNA	154
2.3. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ.....	160
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	161
3.1. ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ ΤΟΥ HBV-DNA	161
3.2. ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΗΣ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣ ΤΗΣ HBV-DNA ΙΑΙΜΙΑΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΛΑΝΘΑΝΟΥΣΑΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ Β ΜΕ ΔΗΜΟΓΡΑΦΙΚΑ ΚΑΙ ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΤΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ	163
3.3. ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΗΣ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣ ΤΗΣ HBV-DNA ΙΑΙΜΙΑΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΛΑΝΘΑΝΟΥΣΑΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ Β ΜΕ ΟΡΟΛΟΓΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΤΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ (ΔΕΙΚΤΕΣ HBV ΛΟΙΜΩΞΗΣ, ΔΕΙΚΤΕΣ HCV, HEV, HDV, HAV, HTLV)	166
3.4. ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΗΣ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣ ΤΗΣ HBV-DNA ΙΑΙΜΙΑΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΛΑΝΘΑΝΟΥΣΑΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ Β ΜΕ ΤΙΣ ΒΙΟΧΗΜΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΥΣ ΤΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ.....	170
4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	171
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	176
ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΚΑΙ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	184
SUMMARY AND CONCLUSIONS.....	186

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Ο ιός της ηπατίτιδας Β (HBV) αποτελεί ένα από τα σημαντικότερα προβλήματα δημόσιας υγείας παγκοσμίως. Παρουσιάζει ευρεία γεωγραφική κατανομή και προκαλεί ευρύ φάσμα κλινικών εκδηλώσεων, από οξεία ή χρόνια ηπατίτιδα έως την ανάπτυξη κίρρωσης και ηπατοκυτταρικού καρκίνου. Πρόσφατες έρευνες οδήγησαν στην αποκάλυψη μιας νέας νοσολογικής οντότητας που ονομάζεται «λανθάνουσα ή σιωπηλή» 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 αντιγόνο επιφανείας του HBV (HBsAg). Παρόλα αυτά η συχνότητα και η κλινική σημασία της λανθάνουσας ηπατίτιδας Β παραμένουν ασαφείς. Σκοπός της μελέτης είναι ο προσδιορισμός της συχνότητας και της κλινικής σημασίας της «λανθάνουσας» (occult) λοίμωξης από τον HBV σε ένα μεγάλο δείγμα Ελλήνων ασθενών που πάσχουν από χρόνια νεφρική ανεπάρκεια και βρίσκονται σε θεραπεία υποκατάστασης, καθώς παρόμοια εκτενής πληροφορία δεν υπάρχει στην Ελληνική αλλά και την διεθνή βιβλιογραφία. Στην παρούσα μελέτη ελέγχθηκαν διαδοχικά δείγματα ασθενών που βρίσκονται σε θεραπεία υποκατάστασης για χρόνια νεφρική ανεπάρκεια με στόχο τον προσδιορισμό της ιαιμίας από τον HBV και την εκτίμηση της κλινικής σημασίας της. Πιο αναλυτικά, στο γενικό μέρος αναλύονται α) τα επιδημιολογικά δεδομένα της λοίμωξης από τον HBV, β) η γενετική οργάνωση του ιού, γ) η παθογένεια της λοίμωξης, δ) οι κλινικές εκδηλώσεις της λοίμωξης, ε) ο επιπολασμός της λανθάνουσας ηπατίτιδας Β, στ) η παθογένεια της λανθάνουσας ηπατίτιδας Β, ζ) η κλινική της σημασία, η) τα επιδημιολογικά δεδομένα της χρόνιας νεφρικής ανεπάρκειας, θ) η

αιτιολογία της, ι) η παθογένεια της, κ) οι κλινικές εκδηλώσεις της χρόνιας νεφρικής ανεπάρκειας και λ) η θεραπεία της. Στο ειδικό μέρος παρουσιάζεται ο επιπολασμός της λανθάνουσας ηπατίτιδας Β σε μεγάλη ομάδα ασθενών που βρίσκονται σε θεραπεία υποκατάστασης με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια.

Θα ήθελα να αναγνωρίσω τη βοήθεια όλων αυτών που είχαν σημαντική συνεισφορά στην εκπόνηση της διατριβής. Ευχαριστώ πολύ τον υπεύθυνο της διατριβής μου, τον 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. Να ευχαριστήσω τα μέλη της τριμελούς επιτροπής Καθηγητή κ. Ν. Σταθάκη και τον Καθηγητή κ. Γ. Κουκούλη για τις πολύτιμες παρατηρήσεις τους. Επίσης όλα τα μέλη της επταμελούς επιτροπής, ιδίως την Επίκουρο κ. Ε. Ρηγοπούλου για την βοήθεια της στην μορφοποίηση του τελικού κειμένου της δημοσίευσης και τον Αναπληρωτή κ. Ι. Στεφανίδη για τις γνώσεις νεφρολογίας. Σημαντική βοήθεια προσέφεραν οι ιατροί της Παθολογικής Κλινικής και του Εργαστηρίου, κ. Π. Παπαμιχάλης, κ. Α. Στέφος, κ. Ν. Γατσέλης, όπως και οι ιατροί του Ηπατολογικού Ιατρείου κ. Κ. Ζάχου, κ. Γ. Παπαδάμου, στην εκμάθηση ιατρικών όρων και στατιστικών μελετών. Την απόλυτη ευγνωμοσύνη μου στη γιατρό αλλά και πραγματική φίλη κ. Σ. Γεωργιάδου. Να ευχαριστήσω ιδιαίτερα την κ. Σ. Μάσιου για την εκπαίδευση μου στο μηχάνημα της Real Time PCR. Την κ. Σ. Γκούγκουρα για τις γνώσεις της που μοιράστηκε μαζί μου. Τελιώνοντας, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένεια μου και ιδιαίτερα τους γονείς μου, Δημήτρη και Μαρία, για την συμπαράστασή τους σε όλη την διάρκεια της προσπάθειας ολοκλήρωσης αυτού του έργου, καθώς και τον σύντροφο μου Γιάννη για την υπομονή του.

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ Α΄

ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ Β

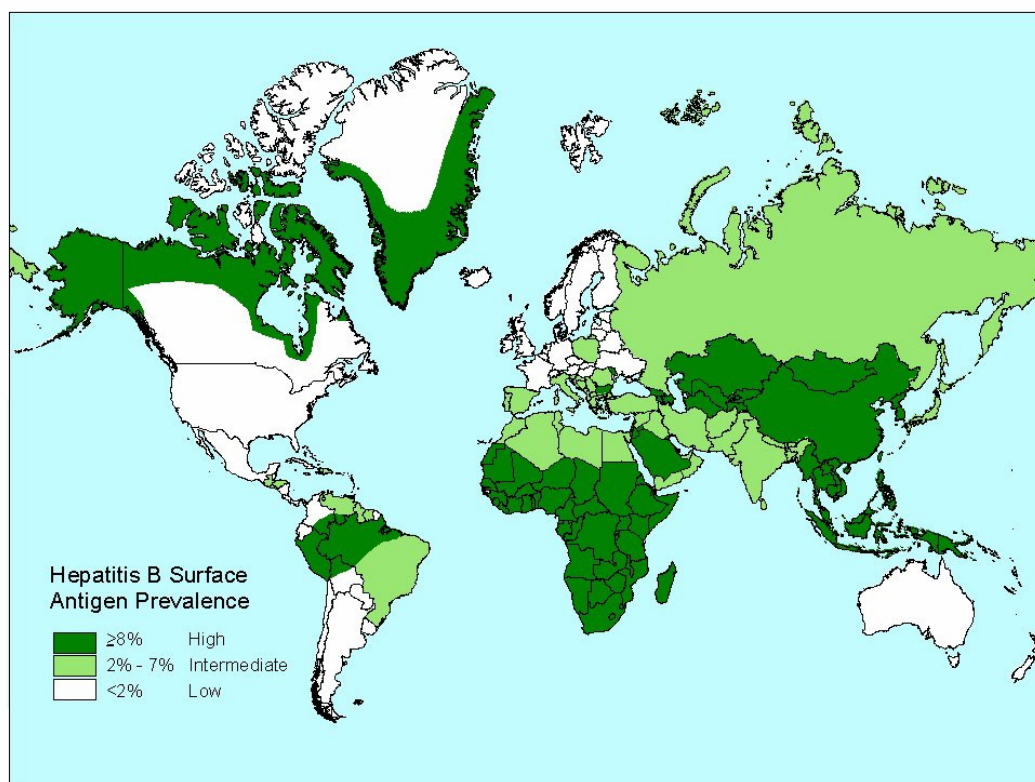
1. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ

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 (1). Ο HBV αποτελεί την κύρια αιτία οξείας ή χρόνιας ηπατίτιδας, κίρρωσης και ηπατοκυτταρικού καρκινώματος (2). Παγκοσμίως, οι 350 εκατομμύρια χρόνιοι φορείς έχουν 15-25% κίνδυνο θανάτου λόγω των μακροχρόνιων επιπλοκών της ηπατικής νόσου (3). Η λοίμωξη από τον HBV ευθύνεται για 500.000-1.200.000 θανάτους ανά έτος γεγονός που την κατατάσσει ως την 10^η πιο σημαντική αιτία θανάτου παγκοσμίως (4,5).

Ο επιπολασμός του HBV παρουσιάζει ευρεία γεωγραφική κατανομή. Ποσοστό 75% των χρόνιων φορέων της νόσου προέρχεται από την Ασία και τον Δυτικό Ειρηνικό (6). Η ενδημικότητα του ιού ανά τον κόσμο διακρίνεται σε υψηλή (επιπολασμός >8%), ενδιάμεση (επιπολασμός 2-7%) και χαμηλή (επιπολασμός <2%) (Εικόνα 1) (7). 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 (4). 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 (8).

Εικόνα 1. 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 (9-14). Σ' αυτό έχει συμβάλλει 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. (15). 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 (16-19). 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% (18). 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 (17). Στην ίδια γεωγραφική περιοχή βρέθηκε ότι οι αλκοολικοί με ή χωρίς αλκοολική ηπατοπάθεια αποτελούν ομάδα υψηλού κινδύνου (20). 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 (15).

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%) (21), 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 HBV 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. 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 HBV, ενώ σε περιοχές χαμηλής ενδημικότητας η μετάδοση είναι, πρωτίστως, οριζόντια (διαδερμικά ή μέσω σεξουαλικής επαφής) (2,6,22). Η σεξουαλική επαφή και η ενδοφλέβια χρήση τοξικών ουσιών είναι η πιο συχνή οδός μετάδοσης στην Ευρώπη και τη Βόρειο Αμερική (6). Παρόλα αυτά, πρέπει να σημειωθεί ότι στο 1/3 των ασθενών με οξεία ή χρόνια λοίμωξη από τον HBV δε βρίσκεται κάποιος παράγοντας κινδύνου σχετιζόμενος με τη μετάδοση του ιού (22).

Παρακάτω αναλύονται διεξοδικότερα οι τρόποι μετάδοσης της ηπατίτιδας B:

-Μετάγγιση αίματος και παραγώγων του

Η μετάδοση της ηπατίτιδας B, μέσω μετάγγισης ήταν παλαιότερα συνήθης, αλλά πλέον η βελτίωση των διαγνωστικών μεθόδων και ο ορολογικός έλεγχος έχει οδηγήσει σε σημαντική μείωση του κινδύνου μετα-μετάγγισης ηπατίτιδας B (23). 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 B 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 (24,25). 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 (26,27), ενώ για κάθε 100.000 ελέγχους αιμοδοτών ανευρίσκονται κατά μέσο όρο 78,6 περιπτώσεις ατόμων HBsAg θετικών (23).

- Διαδερμική μετάδοση

Η διαδερμική μετάδοση αποτελεί έμμεση μετάδοση του ιού μετά από επαφή με μολυσμένο αίμα ή άλλα βιολογικά υγρά ή με χρήση άλλων κοινό-χρηστων 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 (22,26,28-30). Οκτώ έως 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 (31). 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 (32). 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 (5).

- Σεξουαλική επαφή

Όπως προαναφέρθηκε, η σεξουαλική επαφή αποτελεί μια από τις συχνότερες οδούς μετάδοσης στην Ευρώπη και τη Βόρειο Αμερική (5). 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 (33). 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) (34).

- Κάθετη μετάδοση

Η κάθετη μετάδοση δεν είναι συνηθισμένος τρόπος διασποράς του ιού στις αναπτυγμένες χώρες, αντίθετα με ότι συμβαίνει στις υπό ανάπτυξη. Εντούτοις, ο τρόπος αυτός μετάδοσης του HBV αποτελεί το συνήθη τρόπο λοίμωξης στους Έλληνες ασθενείς που έχουν ηλικία μεγαλύτερη των 50 ετών (22). 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 (35,36). Περίπου το 90% αυτών των παιδιών θα αποκτήσει χρόνια λοίμωξη από τον HBV (35). Αντίθετα, η πιθανότητα κάθετης-περιγεννητικής μετάδοσης

από μητέρες HBeAg (-) κυμαίνεται στο 5-20% (35,36). 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 (26). Επιπλέον, η ενεργητική και παθητική ανοσοποίηση του νεογέννητου επιτυγχάνει τελικά την προφύλαξή του από τον HBV σε ποσοστό άνω του 90% των περιπτώσεων (36,37). Οι κύριοι παράγοντες κινδύνου για την σπάνια πιθανότητα της ενδομητρικής λοίμωξης του εμβρύου είναι το θετικό HBeAg της μητέρας, το ιστορικό επαπειλούμενης αποβολής στο 1^ο τρίμηνο της κύησης και η ύπαρξη του HBV στον πλακούντα, ειδικά στα ενδοθηλιακά κύτταρα των λαχνών (38). Το είδος του τοκετού δε φαίνεται να επηρεάζει 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 (39,40). Τέλος, πρέπει να σημειωθεί, ότι ένα σημαντικό ποσοστό χρόνιων φορέων της νόσου κατά την παιδική ηλικία οφείλεται στην ενδοοικογενειακή μετάδοση του HBV (41-43).

- Ενδονοσοκομειακή μετάδοση

Η μετάδοση του HBV μπορεί να συμβεί ενδονοσοκομειακά, είτε ιατρογενώς (44), είτε από ασθενή σε ασθενή (45,46), είτε από ασθενή στο προσωπικό μέσω μολυσμένων συσκευών (47) ή μετά από τυχαίο τρύπημα με βελόνα. Ο κίνδυνος μόλυνσης μετά από ένα τέτοιο τρύπημα εξαρτάται από

την παρουσία ή όχι του HBeAg (48), και κυμαίνεται από το 20% ως το 66%, αντίστοιχα (49). 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 (50). Σημαντική είναι και η διασπορά του ιού μέσω των μηχανημάτων αιμοδιύλισης στις μονάδες τεχνητού νεφρού (51,52). 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 (53). 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) (54,55).

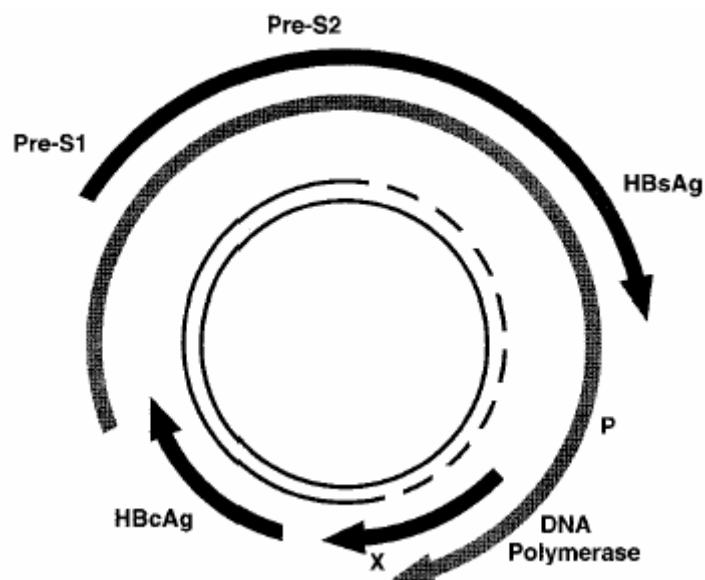
3. Ο ΙΟΣ ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ Β (HBV)

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 (56). 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 ελλιπής (Εικόνα 2) (57,58). 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 1).



Εικόνα 2. Δομή και οργάνωση του γονιδιώματος 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 (59). Συσχετίζονται επίσης χρονολογικά με την ιαιμία, αφού παρουσιάζονται νωρίς στη φυσική πορεία της οξείας λοίμωξης από τον HBV και η εξαφάνισή τους, με τη σύγχρονη παραγωγή αντισωμάτων έναντι των αντιγονικών επιτόπων τους, προαναγγέλλει τη λύση και την ίαση της νόσου.

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 (60,61). Η μη-δομική πρωτεΐνη e (212 αμινοξέα) όπως έχει διαπιστωθεί σε έρευνες, δεν είναι απαραίτητη για την αναπαραγωγή του ιού (62,63). Ίσως να βοηθά τον ιό να διαφεύγει από το ανοσολογικό σύστημα του ξενιστή δημιουργώντας λειτουργική καταστολή των βοηθητικών T-λεμφοκυττάρων (φάση της ανοσολογικής ανοχής) (64,65).

Πίνακας 1. 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 ιαιμία, 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 (66) του ηπατοκυττάρου, με την καθοδήγηση της πλούσιας σε αργινίνη περιοχή του καρβοξυλικού άκρου της (67). Εκφράζει τους επιτόπους HBcAg, χρησιμοποιείται στη δόμηση νέων ιικών σωματιδίων και είναι απαραίτητη για την αναπαραγωγή του ιού (68). 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 (69).

δ) Η DNA πολυμεράση του ιού. Κωδικογραφείται από το μεγαλύτερο πλαίσιο ανάγνωσης και περιλαμβάνει τα 2/3 σχεδόν της γονιδιακής ομολογίας βάσεων (70). Η πρωτεΐνη που κωδικογραφείται από το πλαίσιο αυτό έχει τους ακόλουθους λειτουργικούς τομείς. Στο αμινικό της άκρο είναι εντοπισμένη η τερματική πρωτεΐνη (71) 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 RNAση (72).

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 (73). 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 (74).

- Προπυρηνική περιοχή

Η κυρίαρχη μεταλλαγή στην προπυρηνική περιοχή του HBV είναι μια αντικατάσταση γουανίνης (G) από αδερίνη (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 (75). 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 (76). Στην Ελλάδα το 90% των χρόνιων λοιμώξεων από τον HBV οφείλονται στον προπυρηνικά μεταλλαγμένο ιό (22). 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 αδερίνη, ενώ η ύπαρξη

κυτιδίνης σε αυτή τη θέση λειτουργεί απαγορευτικά στους γονότυπους A και F (77). 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 χημική 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 (22). Αντίθετα στη Βορειοδυτική Ευρώπη και τις Η.Π.Α., οι μολύνσεις συμβαίνουν σε μεγαλύτερες ηλικίες (78).

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 c

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 (79). 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 Τ-κυτταροτοξικών λεμφοκυττάρων (80,81).

- 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 (82,83). 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 (84) 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. Πρόσφαταδείχθηκε ότι σημειακές μεταλλαγές στην X ακυρώνουν την ανασταλτική δράση της φυσιολογικής πρωτεΐνης και πιθανόν παίζουν ρόλο στην καρκινογένεση (85). Ελλείψεις τμημάτων της X έχουν παρατηρηθεί σε ευρύ φάσμα ασθενών και σχετίζονται με χαμηλά επίπεδα HBV-DNA (86-88). Είναι πιθανό ότι οι μεταλλαγές αυτές, καταστέλλοντας την αναπαραγωγή του HBV και χαμηλώνοντας τα επίπεδα ιαιμίας, 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 (89-91). 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 (92,93). 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 (94). Οι λοιμώξεις αυτές οφείλονται σε HBV με σημειακή μεταλλαγή στη θέση του νουκλεοτιδίου 587 (AGA-γουανίνη σε GGA-αδενίνη), που οδηγεί σε μετάφραση αργινίνης αντί γλυκίνης στη θέση του αμινοξέος 145 στη δεύτερη αγκύλη του επιτόπου «α» και τον καθιστά αόρατο από τα κυκλοφορούντα αντι-HBs και τα συνήθη μονοκλωνικά αντισώματα (94,95).

- 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) (96,97), 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 (98,99). 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 (100)

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

Ο ιός HBV διακρίνεται σε 8 γονότυπους A-G (100-102). 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 (100). 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+ (100,103). Υπάρχει χαρακτηριστική αντιστοιχία μεταξύ γονοτύπων και υποτύπων (Πίνακας 2) (102). Οι γονότυποι έχουν χαρακτηριστική γεωγραφική κατανομή (Εικόνα 3).

Εικόνα 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 έχειδειχθεί 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

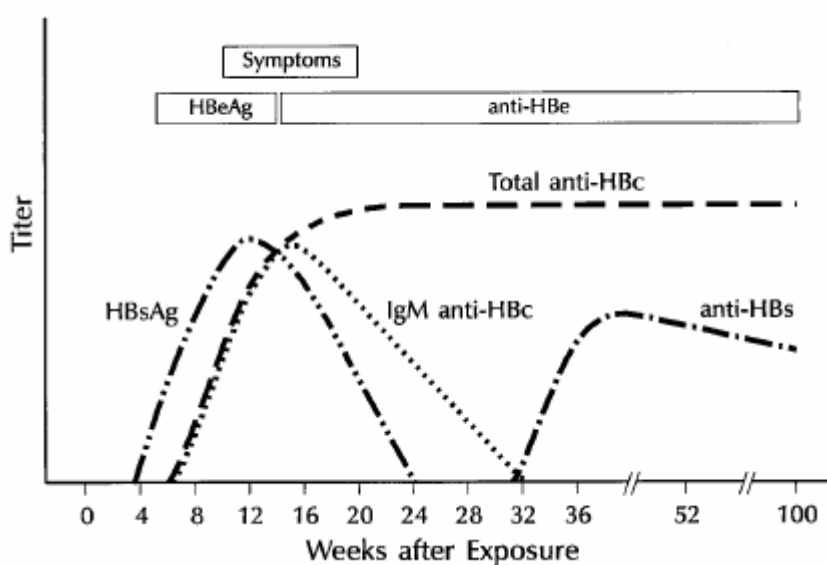
Πίνακας 2. Αντιστοιχία μεταξύ γονοτύπων και υποτύπων του HBV

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					

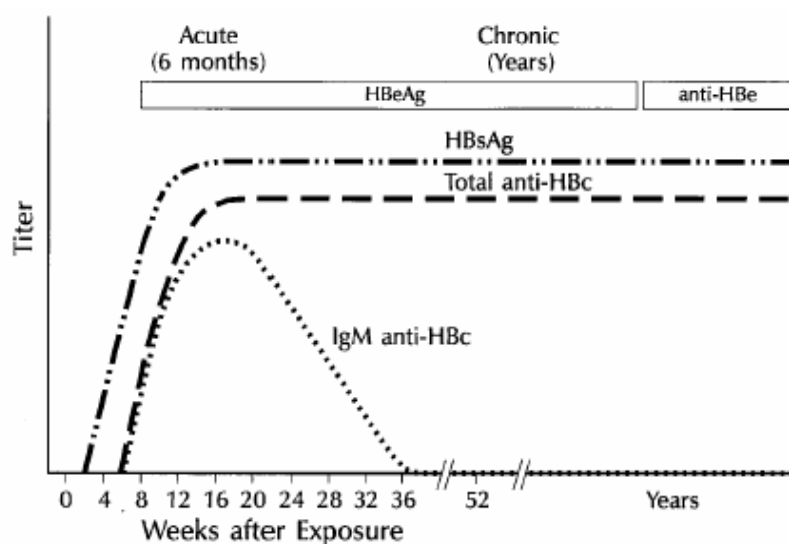
κυρίως στην κεραυνοβόλο ηπατίτιδα B το ποσοστό του γονοτύπου B ήταν σημαντικά αυξημένο (24% και 30% αντίστοιχα) (104). Στην χρόνια δε ηπατοπάθεια B η συχνότητα του γονοτύπου B ήταν μόνο 9%. Σε άλλη μελέτη από τη Σουηδία, διατυπώθηκε συσχέτιση του γονοτύπου A με τη χρόνια λοίμωξη από τον HBV και του γονοτύπου D με την οξεία αυτοπεριοριζόμενη ηπατίτιδα B (105). 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 (106). Ενδιαφέρον παρουσιάζουν, επίσης, τα αντικρουόμενα ευρήματα από διάφορες μελέτες όσον αφορά στη συσχέτιση των γονοτύπων με τη νεκροφλεγμονώδη δραστηριότητα (107), την ανάπτυξη ηπατοκυτταρικού καρκινώματος (108-110) και την ανταπόκριση στη θεραπεία με λαμβουδίνη (111,112).

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) (113,114) (Εικόνες 4, 5). Οι νεώτερες τεχνικές μέτρησης του HBV-DNA με μεθόδους όπως η PCR ή η τεχνική διακλαδιζόμενου DNA (bDNA) παρέχουν επιπλέον στον κλινικό ιατρό τη δυνατότητα προσδιορισμού ακόμα και ελάχιστης ποσότητας κυκλοφορούντων σωματιδίων του ιού (4). Οι παρακάτω ορολογικοί και ιολογικοί δείκτες χρησιμοποιούνται για την εκτίμηση των διαφόρων σταδίων της νόσου:



Εικόνα 4. Οι ορολογικοί δείκτες στην οξεία λοίμωξη από τον HBV.



Εικόνα 5. 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) (113). 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) (115). Η συγκέντρωση του HBsAg στο ορό κυμαίνεται μεταξύ 50 και 300 µg/ml (4). 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 κρυοσφαιριναιμίας).
- το αρνητικό αποτέλεσμα να οφείλεται σε πειραματικό ή μεθοδολογικό λάθος (π.χ. χαμηλή ευαισθησία της χρησιμοποιούμενης μεθόδου, αν και οι περισσότεροι ασθενείς παρουσιάζουν υψηλό τίτλο).
- το HBsAg να εκφράζεται, αλλά να μην εκκρίνεται ή να μην εκφράζεται καθόλου λόγω μεταλλαγών στην περιοχή του φακέλου του ιικού γονιδιώματος.
- να έχει γίνει ανοσολογική κάθαρση από τον ιό πριν από τον πρώτο ορολογικό έλεγχο.
- να πρόκειται για κεραυνοβόλο ηπατίτιδα 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 (113,114). 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 (116). 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 (113,114). 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 (5,76). 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 HBeAg. Η επικράτηση των αντι-HBe αντισωμάτων σε ασθενείς με χρόνια λοίμωξη από τον HBV συνοδεύεται στη μεγάλη πλειοψηφία των ασθενών με απουσία σημαντικής ηπατικής φλεγμονής και φυσιολογικές τιμές ALT και HBV-DNA (5,76). Σε ένα ποσοστό ασθενών που κυμαίνεται μεταξύ 15-30%, αναπτύσσεται χρόνια ηπατίτιδα παρουσία των αντι-HBe αντισωμάτων (HBeAg αρνητική χρόνια ηπατίτιδα B) (76). Η σταδιακή επικράτηση αναπαραγόμενων μεταλλαγμένων στελεχών που είτε δεν παράγουν ή παράγουν μειωμένες ποσότητες HBeAg, ενοχοποιούνται για αυτή τη μορφή χρόνιας ηπατικής φλεγμονής (76).

ε) Το HBcAg: 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-HBc (Ολικό και IgM): Ολικά αντισώματα (αντι-HBc) έναντι του πυρηνοκαψιδίου του ιού (HBcAg) εμφανίζονται σχεδόν ταυτόχρονα με το HBsAg κατά την οξεία λοίμωξη από τον HBV και παραμένουν συνήθως θετικά για την υπόλοιπη ζωή του ασθενούς, ανεξάρτητα από την έκβαση της αρχικής λοίμωξης (κάθαρση του ιού ή χρόνια λοίμωξη) (113,114). Η ανίχνευση αντι-HBc στον ορό αποτελεί ένα σημαντικό ορολογικό δείκτη για τη διάγνωση ενεργού ή παλαιάς λοίμωξης από τον HBV. Στα αρχικά στάδια της οξείας λοίμωξης, εμφανίζονται αντι-HBc αντισώματα κλάσης IgM (IgM αντι-HBc) τα οποία και παραμένουν σε υψηλούς τίτλους για 3-12 μήνες σε αυτοπεριοριζόμενη λοίμωξη (113,114). Κατά την περίοδο του «παραθύρου» (core window) η παρουσία IgM αντι-HBc αντισωμάτων σε υψηλούς τίτλους αποτελεί τη μόνη ορολογική ένδειξη πρόσφατης οξείας ηπατίτιδας B ενώ η

απουσία υψηλού τίτλου IgM αντι-HBc μάλλον αποκλείει την πιθανότητα οξείας ηπατίτιδας B. Στο φαινόμενο αυτό οφείλονται σήμερα οι περισσότερες οξείες μετά-μετάγγιση ηπατίτιδες B, 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 (76). 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 B οι τιμές του IgM αντι-HBc αυξομειώνονται ανάλογα με την ενεργότητα της νόσου, φθάνοντας σε ορισμένες περιπτώσεις τιμές ανάλογες με αυτές της οξείας ηπατίτιδας B (117,118).

ζ) Το HBV-DNA: Στην καθημερινή κλινική πρακτική τρεις είναι οι συνήθεις μέθοδοι που μπορεί να προσδιορισθεί (119,120): α) με υβριδισμό υγρής φάσης (π.χ. Genostics, Abbott Laboratories, Abbott Park, Chicago, IL και Digene Hydrid-Caprure, Digene Diagnostics, Beltaville, MD), β) με τη μέθοδο bDNA (π.χ. Versant™ HBV DNA, HBV Quantiplex™, Chiron Diagnostics, Emeryville, CA) και γ) με PCR ή με PCR πραγματικού χρόνου (π.χ. HBV Monitor™, Roche Molecular Diagnostics, Branchburg, NJ, πρωτόκολλα in-house PCR) (119,120).

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 (121,122).

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 (123-125). 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 (126). 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-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 (127).

Στη χρόνια λοίμωξη τα επίπεδα του HBV DNA αποτελούν σημαντικότατο δείκτη για την ενδεχόμενη απόφαση έναρξης της θεραπείας (σε συνδυασμό με άλλους κλινικοεργαστηριακούς δείκτες), στην παρακολούθηση των ασθενών που υποβάλλονται σε αντί-ιική 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

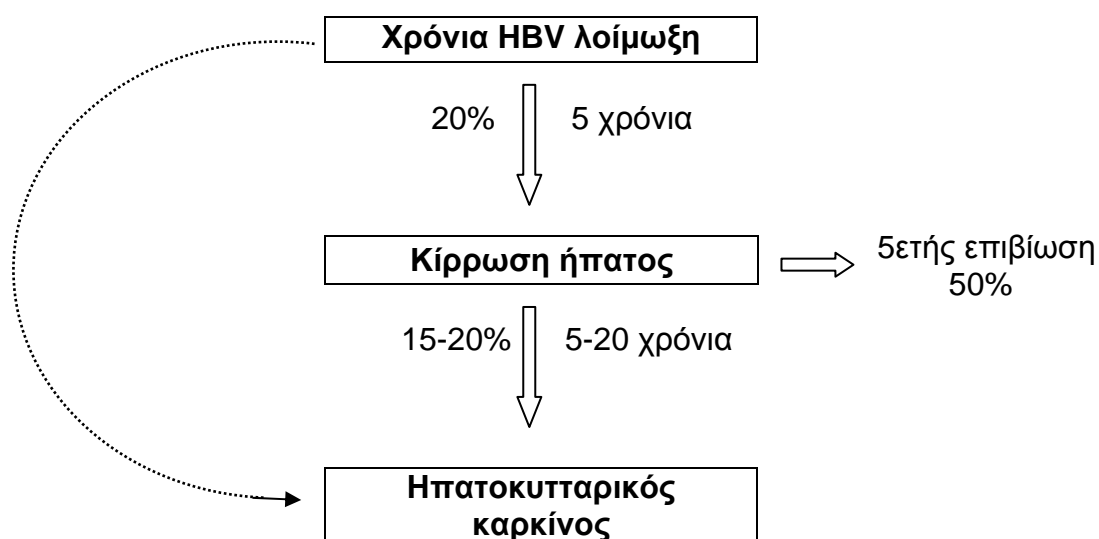
5.1. ΟΞΕΙΑ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ Β

Ο χρόνος επώασης από τη 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 κεραινοβόλος 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 (128). 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 κεραινοβόλο 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 (24).

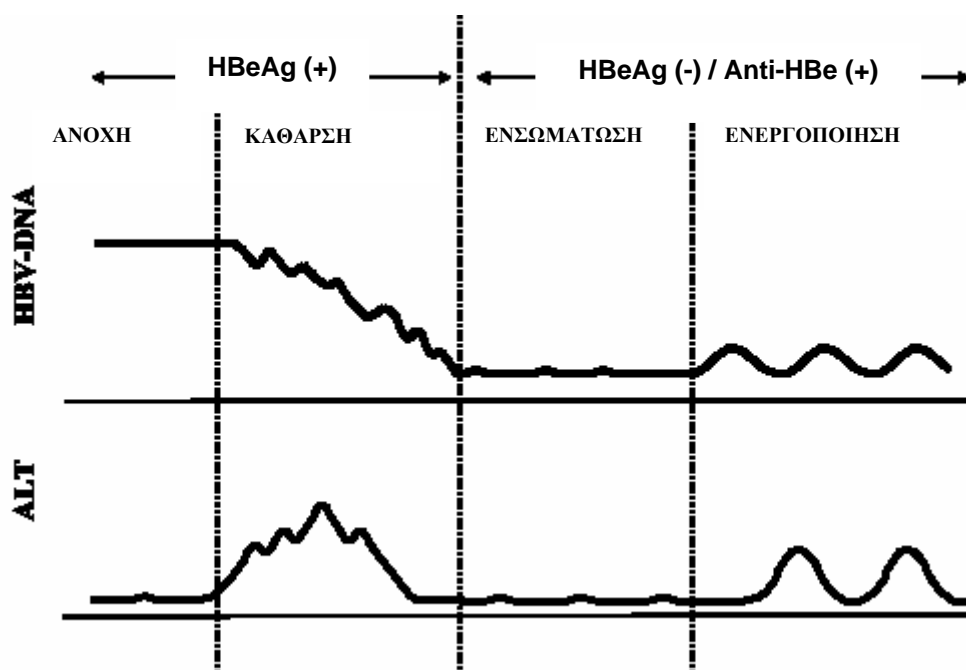
5.2. ΧΡΟΝΙΑ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ Β

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, της μεμβρανώδους σπειραματονεφρίτιδας ή της κρουσφαιριναιμίας (129). 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 (Εικόνα 6).



Εικόνα 6. 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 (Εικόνα 7).



Εικόνα 7. Φυσική ιστορία (φάσεις) της χρόνιας ηπατίτιδας Β.

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. 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 (5,130).

Η φάση της **ανοσολογικής κάθαρσης ή ορομετατροπής** χαρακτηρίζεται από την έντονη ανοσιακή απάντηση του ξενιστή έναντι του αναπαραγόμενου ιού στο ήπαρ (5,131). 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 (130,132). Η έντονη ανοσιακή απάντηση του ξενιστή συνοδεύεται από εξαφάνιση του HBeAg και εμφάνιση αντι-HBe αντισωμάτων σε ποσοστό 10-20% ανά έτος (ορομετατροπή) (131). 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 (2,5).

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 (130). 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 (130).

Η αντι-HBe θετική φάση μπορεί να διαρκέσει για πολλά έτη, χωρίς σημαντικό ιικό πολλαπλασιασμό ή ηπατική φλεγμονή (5,130). Μολονότι, θεωρείται, όμως, ανενεργή περίοδος, προσεκτική παρακολούθηση των ασθενών ανέδειξε ότι το 35-85% αυτών στις Μεσογειακές χώρες και στην Άπω Ανατολή έχουν αυξημένες αμινοτρανφεράσες, 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, προοδευτικά εξελισσόμενη ηπατοκυτταρική βλάβη με συχνή κατάληξη σε κίρρωση και ανάπτυξη ηπατοκυτταρικού καρκινώματος (133). 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.

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 μειονοτικούς πληθυσμούς (π.χ. οικονομικοί φυγάδες από τη Νότιο Αλβανία) (17,26).

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 B και D λοίμωξης στο 53% των περιπτώσεων κεραυνοβόλου ηπατίτιδας (134). Στην οξεία επι-λοίμωξη, η κλινική πορεία της οξείας ηπατίτιδας είναι συνήθως ήπια (σοβαρότερη στα HBeAg θετικά άτομα και ηπιότερη στα HBeAg 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 (26,135).

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 (136,137). 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 HBV

6.1. ΠΑΘΗΤΙΚΗ ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΣΗ

Η παθητική ανοσοποίηση επιτυγχάνεται με τη χορήγηση ειδικής κατά του HBV υπεράνοσης γ-σφαιρίνης (HBIG), η οποία περιέχει υψηλούς τίτλους αντι-HBs ($>1:100.000$), 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 HBIG συνιστάται (4,26,138-140): i) Σε νεογνά θετικών μητέρων. Χορηγείται μία δόση 0,05ml HBIG ενδομυϊκά εντός 12 ωρών από τη γέννηση. Ο εμβολιασμός πρέπει να αρχίσει εντός 24 ωρών από τη γέννηση. ii) Μετά από διαδερμική ή βλεννογική έκθεση σε HBsAg θετικά βιολογικά υγρά ή υλικά. Χορηγείται μία δόση 0,06 ml/kg HBIG ή 5 ml HBIG στους ενήλικες μέσα σε 24 ώρες από την έκθεση και άμεση έναρξη ταχείας σχήματος εμβολιασμού (0,1,2). iii) Μετά από σεξουαλική επαφή με HBsAg θετικό άτομο. Χορηγείται μία δόση (0,06 ml/kg HBIG) σε 14 το πολύ ημέρες από την έκθεση ακολουθούμενη από ταχύ σχήμα εμβολιασμού (0,1,2).

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

6.2. ΕΝΕΡΓΗΤΙΚΗ ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΣΗ

Η ενεργητική ανοσοποίηση επιτυγχάνεται με τον έγκαιρο και σωστό εμβολιασμό. Το πρώτο διαθέσιμο εμβόλιο κατά του HBV παρασκευάστηκε από κεκαθαρμένο πλάσμα φορέων το 1982 (26). Στις μέρες μας και κυρίως στις αναπτυγμένες χώρες, το εμβόλιο αυτό αντικαταστάθηκε από άλλα παραγόμενα με γενετικά ανασυνδυασμένο DNA (142). Τα εμβόλια αυτά είναι ασφαλή και προσφέρουν προφύλαξη στο 95% περίπου των περιπτώσεων (3,143). 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 (142).

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 (26). 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 (26).

Ο εμβολιασμός θεωρείται επιτυχής, όταν ανιχνεύεται τίτλος αντι-HBs >10 IU/L. Το 95% περίπου των εμβολιασμένων αναπτύσσουν τέτοιο προστατευτικό τίτλο (143). Μειωμένη ανοσολογική απάντηση έχει αναφερθεί στους καπνιστές, τους παχύσαρκους και στα άτομα με καρδιακά ή αναπνευστικά νοσήματα (144). Όπως είναι φυσικό ασθενείς με βαριά ανοσοανεπάρκεια (αιμοκαθαιρόμενοι, 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 (145-147). Αναμνηστικές δόσεις συνιστώνται σε ανοσοκατεσταλμένα άτομα, όταν ο τίτλος των αντι-HBs ανευρίσκεται κάτω από 10 IU/L κατά τον ετήσιο έλεγχο στον οποίο πρέπει να υπόκεινται (148). 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 Β΄

ΛΑΝΘΑΝΟΥΣΑ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ Β

1. ΟΡΙΣΜΟΣ

Η χρόνια ηπατίτιδα Β χαρακτηρίζεται, όπως είναι γνωστό, από την παρουσία στον ορό των ασθενών HBV-DNA και HBsAg (5,149). 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 (150-152). Το 1978 οι Hoofnagle και συν (153) ανέφεραν την ανάπτυξη μετα-μετάγγισης 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 (154,155).

Τα δεδομένα αυτά οδήγησαν στην αποκάλυψη μιας νέας νοσολογικής οντότητας που ονομάζεται «λανθάνουσα ή σιωπηλή» 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 (156).

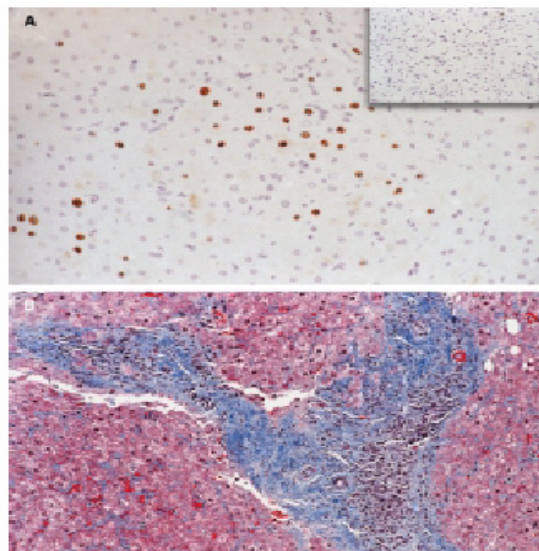
Όπως είναι γνωστό, η PCR είναι κατά προσέγγιση 10^4 περισσότερο ευαίσθητη στην ανίχνευση του HBV-DNA σε σύγκριση με τον άμεσο υβριδισμό (157). Η εφαρμογή, λοιπόν, της PCR ή της RLT-PCR βοήθησε στην απόκτηση πολύτιμων πληροφοριών για την λανθάνουσα ηπατίτιδα Β. Για παράδειγμα, «εμβολιασμός» χιμπατζήδων 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 (158). 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 (157,159-163). Στη λανθάνουσα λοίμωξη από τον HBV τα επίπεδα του HBV-DNA είναι συνήθως $<10^4$ copies/ml (164), σημαντικά χαμηλότερα δηλαδή σε σύγκριση με την χρόνια ηπατίτιδα Β με θετικό HBsAg (160,162). Μελέτες, μάλιστα, παρακολούθησης των ασθενών αυτών έχουν δείξει ότι η HBV-ιαιμία στον ορό των ίδιων ασθενών ενδέχεται να παρουσιάζει διακυμάνσεις (165,166). Η συχνότητα ανεύρεσης HBV-DNA στο ήπαρ είναι, συνήθως, μεγαλύτερη της αντίστοιχης στον ορό (160,162), 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 (167). Επιπλέον, οι περισσότερες μελέτες (165,168-170), αλλά όχι όλες (163), επιβεβαίωσαν την ανίχνευση των αντιγόνων HBsAg και HBcAg στο ήπαρ ασθενών με λανθάνουσα λοίμωξη από τον HBV (Εικόνα 8). 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 (covalently closed circular DNA, cccDNA), δείκτες δηλαδή ενεργού πολλαπλασιασμού του HBV (160,161). Οι μηχανισμοί, όμως, διατήρησης αυτής της χαμηλής

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



Εικόνα 8. 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.

Α) 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 (92,171-175). Πρέπει να σημειωθεί, όμως, ότι η πλειοψηφία των ασθενών με λανθάνουσα ηπατίτιδα Β φέρουν το φυσικό-άγριο στέλεχος του HBV (163). Μια παρόμοια υπερμεταβλητή περιοχή αναγνωρίστηκε και στο γονίδιο της HBV-DNA πολυμεράσης, η οποία αλληλεπικαλύπτεται με το γονίδιο S (164). Αδιευκρίνιστος παραμένει,

ακόμα, ο ρόλος των μεταλλαγών στην περιοχή pre-S1 και pre-S2 στην ανάπτυξη λανθάνουσας ηπατίτιδας B (176). 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 B (169,177,178).

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 B (179-181). Η ενσωμάτωση, όμως, μπορεί να προκαλέσει αναδιάταξη στην αλληλουχία του HBV-DNA και να οδηγήσει σε HBsAg-αρνητική χρόνια ηπατίτιδα B (181). Υψηλά ποσοστά ενσωμάτωσης έχουν παρατηρηθεί σε ασθενείς με ηπατοκυτταρικό καρκίνο και ηπατίτιδα B, συμπεριλαμβανομένου και της λανθάνουσας μορφής της νόσου (181,182). Παλιότεροι και νέοι ερευνητές επιβεβαίωσαν την ενσωμάτωση του HBV-DNA, σε ποσοστό > 50%, σε ασθενείς με λανθάνουσα ηπατίτιδα B και ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα και μάλιστα συχνότερα στον καρκινικό σε σχέση με τον παρακείμενο μη-καρκινικό ηπατικό ιστό (181,183-185). Είναι βέβαια άγνωστος, ακόμα, ο ρόλος της τελομεράσης και των μεταλλαγών στο γονίδιο P53 στην καρκινογένεση του ήπατος στους ασθενείς αυτούς (184-187).

Γ) «Μόλυνση» των PBMCs από τον HBV: Η «μόλυνση» των PBMCs από τον HBV κατά την οξεία και χρόνια ηπατίτιδα B έχει επιβεβαιωθεί σε διάφορες μελέτες (188-190). Η ανίχνευση του HBV-DNA στα PBMCs ασθενών με λανθάνουσα ηπατίτιδα B ενισχύει, όμως, την υπόθεση ότι τα κύτταρα αυτά παίζουν το ρόλο «δεξαμενής» για τον ιό (191). 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-ιικής αγωγής κάθαρση του HBsAg (192). Ο παθογενετικός ρόλος των PBMCs αποδείχθηκε πρόσφατα σε ασθενείς που υποβλήθηκαν σε μεταμόσχευση ήπατος (193,194). Μετά τη 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 (193).

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 (195-198). 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 (197). Το γεγονός αυτό αποδεικνύει την παρουσία HBV-DNA στον ορό των ασθενών αυτών, το οποίο θα μπορούσε να ερμηνευτεί ως λανθάνουσα λοίμωξη από τον HBV. Παρόλα αυτά άλλοι ερευνητές δεν επιβεβαίωσαν το ρόλο των ανοσοσυμπλεγμάτων στη διατήρηση της λανθάνουσας ιαιμίας (160).

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 (199). 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 αντισωμάτων και την παρουσία ειδικών κυτταροτοξικών Τ-λεμφοκυττάρων (196). 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 (200-206). Ασθενείς με οξεία HBV και HCV συν-λοίμωξη συνήθως παρουσιάζουν καθυστέρηση εμφάνισης, μειωμένα επίπεδα και μειωμένη διάρκεια οροθετικότητας του αντιγόνου επιφανείας HBsAg (176). Έρευνες σε ανθρώπους και ζώα με χρόνια B και C συν-λοίμωξη απέδειξαν επιπλέον, μειωμένα επίπεδα HBV ιαιμίας και αυξημένη κάθαρση του HBsAg (207). 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) (205,208-210), με μείωση της ενεργού δράσης του ενισχυτή 1 και 2 του HBV (ρυθμιστικό γονίδιο της μεταγραφής) (205). 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 (209,210), 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 (209).

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 (169,178,211), η οποία δεν ανιχνεύθηκε σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα B (211). *In-vivo* και *in-vitro* οι μεταλλαγές αυτές, πιθανόν, να προάγουν τον πολλαπλασιασμό του HCV (169,208).

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 (164). 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 (153). 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). Στις Η.Π.Α., για τον έλεγχο των δοτών, όπως προαναφέρθηκε, 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 (11,212-222). Όπως φαίνεται στον Πίνακα 3 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 (11,212-221). 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 (217,223). Αντίθετα σε περιοχές υψηλής ενδημικότητας (Ινδία, Ταϊβάν, Ιαπωνία κ.α.), HBV-DNA ανιχνεύεται στο 4-24%

Πίνακας 3. Συχνότητα ορολογικών δεικτών και HBV-DNA σε αιμοδότες και σε γενικό πληθυσμό.

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

n = αριθμός ατόμων που εξετάστηκαν

του πληθυσμού που βρίσκεται θετικός μόνο για το αντίσωμα αντι-HBc (224-227). Η δυνητική μολυσματικότητα των μονάδων αίματος θετικών για το αντίσωμα αντι-HBc έχει αποδειχθεί σε διάφορες μελέτες (153,228-231), αλλά όχι σε όλες (11,222). Παρόλα αυτά οι προηγούμενες μελέτες (αυστηρά βασιζόμενες σε ορολογικούς μόνο δείκτες) έδειξαν ότι ποσοστό < 4% των ασθενών, που έλαβαν αντι-HBc θετική μετάγγιση, ανέπτυξαν μετα-μετάγγιση ηπατίτιδα Β (153,228-230).

Πρακτικά, η παρουσία μόνο του αντισώματος αντι-HBc στον ορό έχει 3 ερμηνείες (232): 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 (216). 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 (218,233,234). 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 (235). Πράγματι, οι Mosley και συν (235) 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 ιαίμης, δε βρέθηκε συσχέτιση μεταξύ της οροθετικότητας για το HBV-DNA και της μολυσματικότητας. Επίσης οι Allain και οι συν (223) 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 (236). 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-ιαίμα. 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 (11,237,238).

3.1.2. Μεταμοσχεύσεις οργάνων και ανοσοκαταστολή

Η λοίμωξη από τον HBV μετά από μεταμόσχευση οργάνων ή μυελού των οστών αποτελεί έναν σημαντικό παράγοντα θνητότητας και θνησιμότητας (239-241). Η εμφάνιση de novo ηπατίτιδας B μπορεί να οφείλεται στην ενεργοποίηση προϋπάρχουσας λανθάνουσας λοίμωξης από τον HBV στο δότη ή στο δέκτη (242,243). Το γεγονός αυτό προκάλεσε έντονο προβληματισμό όσον αφορά αφενός στην ασφαλή χρήση μοσχευμάτων δοτών θετικών για το αντίσωμα αντι-HBc και αφετέρου στην ανάγκη χορήγησης προφυλακτικής αντιικής αγωγής στις περιπτώσεις αυτές (244,245). Οι ανοσοκατασταλμένοι ασθενείς είναι, άλλωστε, περισσότερο «ευαίσθητοι» στην ενεργοποίηση της λοίμωξης από τον HBV, αφού η ανοσοκατασταλτική αγωγή επηρεάζει τη λειτουργία των B και T λεμφοκυττάρων (246).

Η σημασία της λανθάνουσας ηπατίτιδας B ως πηγή λοίμωξης στις μεταμοσχεύσεις ήπατος έχει αποδειχθεί σε πολλές μελέτες (239,242,247,248). Μολονότι, το HBV-DNA δεν ανιχνεύεται πάντοτε στον ορό των ασθενών αυτών, ο έλεγχος του ηπατικού ιστού μπορεί να αποκαλύψει την παρουσία HBV-ιαιμίας (239,242,247,248). Ο έλεγχος της νουκλεοτιδικής αλληλουχίας αποκαλύπτει σε αυτές τις περιπτώσεις σημαντική ομολογία μεταξύ του δότη και του λήπτη (242). Μόλυνση του αλλομοσχεύματος μπορεί να παρατηρηθεί, όμως, και σε ασθενείς με προϋπάρχουσα λανθάνουσα ηπατίτιδα B. Όπως προαναφέρθηκε, τα μονοκύτταρα του περιφερικού αίματος μπορεί να παίξουν το ρόλο «δεξαμενής» για τον ιό, διατηρώντας τη δυνατότητα του ιικού πολλαπλασιασμού (160). Ο κίνδυνος μετάδοσης της ηπατίτιδας B από δότη με λανθάνουσα HBV-λοίμωξη εκτιμάται σε ποσοστό

25-94% (239,248,249), 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 (242). Σε μια πρόσφατη μελέτη, πάντως, οι Ghisetti και συν (250) 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 Β (250). Οι δυσμενείς επιπτώσεις από την επαναδραστηριοποίηση της λοίμωξης από τον HBV δικαιολογούν την προφυλακτική μακρόχρονη αντι-ιική αγωγή σε λήπτες μοσχεύματος με θετικό αντίσωμα αντι-HBc (251-255). Διάφορες μελέτες μάλιστα έχουν αποδείξει ότι τα μοσχεύματα αυτά μπορούν να χρησιμοποιηθούν με μεγαλύτερη ασφάλεια σε ασθενείς με ορολογικούς δείκτες προηγηθείσας ηπατίτιδας Β (256,257).

Αντίθετα, ο κίνδυνος μετάδοσης της ηπατίτιδας Β φαίνεται να είναι μικρότερος σε περιπτώσεις μεταμόσχευσης νεφρού από δότη με λανθάνουσα ηπατίτιδα Β (247). Λιγοστές μελέτες έχουν γίνει για την εκτίμηση της επαναδραστηριοποίησης της ηπατίτιδας Β σε ασθενείς θετικούς για το αντίσωμα αντι-HBc μετά από μεταμόσχευση νεφρού (Πίνακας 4) (258-263). Οι Blair και συν (258), ανέφεραν 2 περιπτώσεις επανενεργοποίησης του ιού μεταξύ 48 ασθενών που έλαβαν αλλομόσχευμα, ενώ οι Duhart και συν (259) 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 (258,260,262).

Πίνακας 4. 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 (264). 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 (265).

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

Οι ιογενείς ηπατίτιδες Α-Ε αποτελούν την πιο συχνή αιτία ΚΗΑ (266). Εκτιμάται ότι περίπου το 1% των περιπτώσεων λοίμωξης από τον HBV επιπλέκεται από ΚΗΑ, ενώ ποσοστό 20% παραμένει αδιευκρίνιστης αιτιολογίας (178). Ο παθογενετικός ρόλος της λανθάνουσας ηπατίτιδας Β στην εμφάνιση αυτού του συνδρόμου (ΚΗΑ) δεν έχει διευκρινιστεί (267-271). Είναι αξιοσημείωτο ότι HBV-DNA έχει ανευρεθεί στο 0-47% των ασθενών με ΚΗΑ και αρνητικό HBsAg (267-274). Η μεγάλη αυτή διακύμανση του ποσοστού στις διάφορες μελέτες οφείλεται, πιθανόν, στην ευρεία γεωγραφική

κατανομή της νόσου και στην ευαισθησία της χρησιμοποιούμενης μεθόδου (176). Πρόσφατα οι Aoki και συν (275) 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 (272,274). 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 (276).

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 (198) 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 (277) διαπίστωσαν βελτίωση της ηπατικής βιοχημείας και της ιστολογικής εικόνας με παραμονή ήπιας μόνο ηπατικής

φλεγμονής, κατά την μακροχρόνια παρακολούθηση 11 ασθενών που είχαν λάβει αντιική 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 (277-280), άλλες μελέτες υποδεικνύουν αυξημένη ανάπτυξη κίρρωσης και των επιπλοκών της (281,282). Αναλυτικότερα, οι Komori και συν (283), σε δείγμα 15 ασθενών, ανέδειξαν βελτίωση της ηπατικής ίνωσης με παραμονή ήπιας, μόνο, πυλαίας φλεγμονής. Παρομοίως, σε μελέτη των Liaw και συν (280), 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 (281). 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 οινόπνεύματος 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 (284). Οι Berasain και συν (170) 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 (168) από τη Γαλλία και οι Chan και συν από την Κίνα (285), μελετώντας 50 ασθενείς με κρυπτιγενή 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, μακροχρόνιες 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 ανοσοκατασταλτική αγωγή, στα πλαίσια νεοπλασίας ή λόγω κάποιου αυτοάνοσου νοσήματος έχουν υψηλό κίνδυνο επαναδραστηριοποίησης της νόσου (286-289). 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 η ανοσολογική απάντηση κατά του έντονα πολλαπλασιασμένου 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 (288,289). 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 (264,288).

Αυξημένη συχνότητα λανθάνουσας ηπατίτιδας Β έχει παρατηρηθεί σε ανοσοκατασταλμένους ασθενείς ή σε ασθενείς με αυτοάνοσα νοσήματα. 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%) (290). Πρόσφατα επίσης έχει δημοσιευθεί από την ομάδα μας η παρουσία λανθάνουσας ηπατίτιδας Β σε ασθενείς με αυτοάνοσα νοσήματα του ήπατος (αυτοάνοση ηπατίτιδα,

πρωτοπαθή χολική κίρρωση, πρωτοπαθή σκληρυντική χολαγγειίτιδα). Το γεγονός αυτό ενδεχομένως να έχει κλινική σημασία σε περιπτώσεις διακοπής της ανοσοκατασταλτικής αγωγής (291). Επαναδραστηριοποίηση της χρόνιας λοίμωξης από τον HBV, ή ακόμα και ΚΗΑ έχει αναφερθεί σε ασθενείς με λανθάνουσα ιαιμία κατά τη διάρκεια ανοσοκατασταλτικής αγωγής, αυτόλογη ή ετερόλογη μεταμόσχευση μυελού των οστών λόγω λεμφώματος, απλαστικής αναιμίας ή λευχαιμίας (276,292). 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 (288). 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 (250) αν και αυτό δεν είναι σε αρμονία με τις επίσημες οδηγίες για έναρξη αγωγής με νουκλεοσ(τ)ιδικά ανάλογα 2 εβδομάδες προ της ανοσοκαταστολής.

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 (293). Επαναδραστηριοποίηση του HBV έχει παρατηρηθεί στις περιπτώσεις αυτές μετά τη διακοπή της λαμβουδίνης ή λόγω της ανάπτυξης αντίστασης στην αγωγή (294-296). 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 (297). Σε μια πρόσφατη μελέτη οι Chamorro και συν (298) 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 (176). Ο επιπολασμός της λανθάνουσας ιαιμίας από τον HBV στους ασθενείς αυτούς παρουσιάζει μεγάλες διακυμάνσεις στις διάφορες μελέτες (5-80%) (182,299-303), ενώ η συχνότητα των αντισωμάτων αντι-HBc/αντι-HBs εκτιμάται σε ποσοστό 43% περίπου (182). Αυξημένος σχετικός κίνδυνος ανάπτυξης ηπατοκυτταρικού καρκίνου διαπιστώθηκε ακόμα και σε ασθενείς με θετικό μόνο το αντίσωμα αντι-HBs, σαν μοναδικό δείκτη προηγούμενης HBV λοίμωξης (304). Επιπλέον, πειράματα σε τρωκτικά-μοντέλα της χρόνιας λοίμωξης από τον HBV απέδειξαν τη συσχέτιση της

λανθάνουσας λοίμωξης με τον ηπατοκυτταρικό καρκίνο (305). 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 (306), αντίθετα με ότι συμβαίνει σε χώρες χαμηλής ενδημικότητας, όπως στις Η.Π.Α. (307). Το HBV-DNA στις περιπτώσεις αυτές έχει ανευρεθεί τόσο στον καρκινικό όσο και στον μη-καρκινικό ηπατικό ιστό (182,301,303), είτε ενσωματωμένο, είτε με την επισωματική του μορφή (182,300).

Ο ακριβής παθογενετικός μηχανισμός είναι άγνωστος. Οι Komori και συν (283) 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 (308) 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 (69,309,310). 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 (311-313).

Αξίζει 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 (184,185,314).

3.6. ΛΑΝΘΑΝΟΥΣΑ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ Β ΚΑΙ ΧΡΟΝΙΑ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ C

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 (315-317). 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 (206,316-320). 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%. 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 (200) 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 (211) και οι Koike και συν (321) 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. (327,339,340). Έτσι, οι Torbenson και συν

(339) καθώς και οι Besisik και συν (340) 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%. Στη μοναδική ελληνική μελέτη Georgiadou και συν (338) μελετώντας για την παρουσία occult HBV σε 540 άτομα (187 ασθενείς anti-HCV(+), 282 αιμοδότες, 71 ασθενείς με μη ιολογικές ηπατικές νόσους) ανέδειξαν ποσοστό 26.2% στους HCV(+) ασθενείς, 8.5% στους ασθενείς με μη ιολογικές ηπατικές νόσους και 0% στους αιμοδότες. 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 (177). Μελέτες, μάλιστα, παρακολούθησης των ασθενών αυτών έχουν δείξει ότι η HBV-ιαιμία στον ορό ασθενών με χρόνια ηπατίτιδα C ενδέχεται να παρουσιάζει διακυμάνσεις (166).

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 (200-206). 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 (176). Έρευνες σε ανθρώπους και ζώα με χρόνια B και C συν-λοίμωξη απέδειξαν επιπλέον, μειωμένα επίπεδα HBV ιαιμίας και αυξημένη κάθαρση του HBsAg (207). 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) (205,208-210), με μείωση της ενεργού δράσης του ενισχυτή 1 και 2 του HBV (ρυθμιστικό γονίδιο της μεταγραφής) (205). 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 (209,210), 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 (209).

Η επίδραση της λανθάνουσας ηπατίτιδας Β στα επίπεδα του HCV-RNA παραμένει ασαφής. Οι Fukuda και συν (322) 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 (166) 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 Β (177,325,336).

Διάφορες μελέτες αναφέρουν υψηλότερη συχνότητα λανθάνουσας ηπατίτιδας Β σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C και θετικό το αντίσωμα αντι-HBc (162,325,326,330,331). Ορισμένοι, μάλιστα, ερευνητές χρησιμοποιούν στις μελέτες τους την παρουσία του αντισώματος αντι-HBc ως αξιόπιστο δείκτη παρουσίας λανθάνουσας λοίμωξης από τον HBV (330,337). Οι

Torbenson και συν (341) 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 (166,169,211,323,325,333). Εξίσου ενδιαφέρουσα είναι η παρατήρηση της παρουσίας λανθάνουσας ιαιμίας από τον HBV σε ασθενείς που είναι αρνητικοί για όλους τους ορολογικούς δείκτες προηγθείσας λοίμωξης από τον HBV (166,169,211,323,333). Για το λόγο αυτό πρόσφατες μελέτες θεωρούν ότι κανένας ορολογικός δείκτης της ηπατίτιδας Β δε μπορεί να συσχετιστεί με την λανθάνουσα ηπατίτιδα Β (166,336). 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.

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 (169,328) η οποία όμως δεν επιβεβαιώθηκε από άλλους ερευνητές (166,325,329,335,336,338). 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 (169,177,211,331). Για παράδειγμα οι Cacciola και συν (177) 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 (324), 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 (166,327,331,332,334,336,338), 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 (322,333,335), αλλά όχι όλους τους ερευνητές (325,327,331,332,334). Οι Fukuda και συν (322) απέδειξαν ότι στους ασθενείς αυτούς παρατηρείται μειωμένη έκφραση του γονιδίου που είναι υπεύθυνοι για την έκφραση της πρωτεΐνης-υποδοχέα της ιντερφερόνης στο ηπατοκύτταρο γεγονός που μπορεί να εξηγεί τη μειωμένη ανταπόκριση στη θεραπεία στους ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C και λανθάνουσα ηπατίτιδα Β.

Όπως είναι γνωστό η ενεργός συν-λοίμωξη από τον HBV και τον HCV αυξάνει σημαντικά τον κίνδυνο ανάπτυξης ηπατοκυτταρικού καρκινώματος (342). Πρόσφατα δεδομένα αποκαλύπτουν την αυξημένη συχνότητα λανθάνουσας ηπατίτιδας Β σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C και ηπατοκυτταρικό καρκίνο (176). 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 (300,301,303,343-346). 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 σε μικρότερο χρονικό διάστημα (346) και πολλές φορές πριν ακόμα την ανάπτυξη κίρρωσης (344). Σε μια πρόσφατη μελέτη οι Matsuzaki και συν (184) 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.

3.7. ΛΑΝΘΑΝΟΥΣΑ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ Β ΚΑΙ ΧΡΟΝΙΑ ΝΕΦΡΙΚΗ ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑ

Η ηπατίτιδα Β (HBV) είναι μια βασική αιτία ηπατοπάθειας σε ασθενείς με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια τελικού σταδίου (ESRF) που βρίσκονται σε θεραπεία υποκατάστασης (HD). Η υιοθέτηση προληπτικών μέτρων και η ανάπτυξη ενός αποτελεσματικού εμβολίου για την ηπατίτιδα Β καθώς και η εφαρμογή αυστηρών γραμμών προληπτικών μέτρων έχουν συμβάλει στην προοδευτική μείωση της συχνότητας της ηπατίτιδας Β στους ασθενείς με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια. Παρόλα αυτά, η σχετικά χαμηλή δεκτικότητα και αντίδραση στο εμβόλιο της ηπατίτιδας Β μεταξύ των ασθενών που υποβάλλονται σε θεραπεία υποκατάστασης, προφανώς, συμβάλλει στη συνέχιση της μετάδοσης της νόσου, όπως και η ανάγκη ανανέωσης του εμβολίου ώστε να παραμείνουν σε προστατευτικά επίπεδα τα αντισώματα anti-HBs στον ορό (347-354).

Τα δεδομένα που έχουν καταγραφεί για την λανθάνουσα ηπατίτιδα Β στους πληθυσμούς των ασθενών με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια τελικού σταδίου που βρίσκονται σε θεραπεία υποκατάστασης είναι λιγοστά (355-361) καθώς οι περισσότερες μελέτες στρέφονται γύρω από την παρουσία της λανθάνουσας ηπατίτιδας Β σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C (βλέπε προηγούμενο Κεφάλαιο 3.6.). Η παρούσα μελέτη θα μας δώσει περισσότερες πληροφορίες για έναν σχετικά μεγάλο αριθμό αιμοκαθαρόμενων ασθενών ανεξάρτητα από την παρουσία ή όχι HCV λοίμωξης.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ Γ΄

ΧΡΟΝΙΑ ΝΕΦΡΙΚΗ ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑ

1. ΟΡΙΣΜΟΣ

Η χρόνια νεφρική ανεπάρκεια (Χ.Ν.Α.) είναι η επακόλουθη παθολογική κατάσταση μιας προοδευτικής και μη αναστρέψιμης καταστροφής νεφρώνων που έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση όλων των απεκκριτικών (σπειραματικών, σωληναριακών) και των ενδοκρινικών λειτουργιών των νεφρών, η οποία αναπτύσσεται βαθμιαία σε χρονικό διάστημα μηνών ή ετών (362).

2. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ

Η τακτική κεντρικής καταγραφής των ασθενών με Χ.Ν.Α. τελικού σταδίου (δηλαδή ασθενών σε αιμοκάθαρση, σε περιτοναϊκή κάθαρση ή με μεταμόσχευση νεφρού) που εφαρμόζεται τα τελευταία χρόνια στην Ευρώπη (αρχείο E.D.T.A.) και Η.Π.Α. (αρχείο U.S.R.D.S.) επιτρέπει με σχετική ακρίβεια την επιδημιολογική ανάλυση της Χ.Ν.Α.. Η ετήσια επίπτωση της νόσου ανέρχεται στις Η.Π.Α. στους 250 ασθενείς ανά 1.000.000 πληθυσμού και ο επιπολασμός περίπου στους 1.100 ασθενείς ανά 1.000.000 πληθυσμού (363,364,365).

Παρόλο που ο επιπολασμός στην Ευρώπη και στην Ελλάδα είναι μικρότερος από ότι στις Η.Π.Α. εντούτοις ο συνολικός αριθμός των ασθενών με Χ.Ν.Α. τελικού σταδίου αυξάνεται συνεχώς. Αυτή η αύξηση οφείλεται αφενός στην καλύτερη ποιότητα των θεραπειών υποκατάστασης και τη μεταμόσχευση με συνέπεια την μακροχρόνια επιβίωση των ασθενών και αφετέρου στη συχνή πλέον εφαρμογή τους και σε υπερήλικες (365,366).

3. ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΑ

Κάθε πάθηση που οδηγεί σε μη αναστρέψιμη καταστροφή νεφρικού παρεγχύματος προκαλεί χρόνια νεφρική ανεπάρκεια. Τα αίτια της χρόνιας νεφρικής ανεπάρκειας είναι επομένως ποικίλα και συμπεριλαμβάνουν ομάδες παθήσεως όπως οι σπειραματοπάθειες, διάμεσες νεφροπάθειες, συστηματικές παθήσεις, παθήσεις των αγγείων, αποφρακτική ουροπάθεια και συγγενείς νεφροπάθειες (362). Η διαβητική νεφροπάθεια έχει εξελιχθεί στην συχνότερη αιτία της χρόνιας νεφρικής ανεπάρκειας τελικού σταδίου ενώ πριν από την εποχή της ινσουλίνης ήταν η σπειραματονεφρίτιδα. Υπάρχει επίσης μια σχετικά μεγάλη ομάδα ασθενών που δεν μπορούν να καταταγούν αιτιολογικά επειδή παρουσιάζονται με προχωρημένη νεφρική ανεπάρκεια και ρικνούς νεφρούς οπότε δεν υπάρχει τρόπος να καθορισθεί η πρωτοπαθής νόσος (367,368)(Πίνακας 5).

Πίνακας 5. Οι παθήσεις που μπορούν να οδηγήσουν σε χρόνια νεφρική ανεπάρκεια (ΧΝΑ) τελικού σταδίου, καταγεγραμμένες κατά σειρά συχνότητας.

Αίτιο Χρόνιας Νεφρικής Ανεπάρκειας	Συχνότητα
Διαβητική Νεφροπάθεια	35%
Υπερτασική Νεφροπάθεια (Αγγειακός Νεφρός)	25%
Χρόνια Σπειραματονεφρίτιδα	10%
Αποφρακτική Ουροπάθεια, Χρόνια Πυελονεφρίτιδα	5%
Νεφροπάθεια από Αναλγητικά	5%
Πολυκυστικοί Νεφροί	5%
Άλλα Αίτια (π.χ. Πολλαπλούν Μυέλωμα, Αμυλοείδωση, ΣΕΛ)	15%

4. ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ ΤΗΣ ΧΡΟΝΙΑΣ ΝΕΦΡΙΚΗΣ ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑΣ

Ανεξάρτητα από την αιτιολογία της νεφρική βλάβης φαίνεται ότι υπάρχει ένας κοινός παθογενετικός μηχανισμός για την προοδευτική εξέλιξη της χρόνιας νεφρικής ανεπάρκειας προς το τελικό στάδιο.

Σε προχωρημένα στάδια έχει αποδειχθεί ότι οι μορφολογικές αλλοιώσεις αφορούν εξίσου όλα τα τμήματα του νεφρώνα (σπείραμα και σωληνάρια), τα αγγεία και το διάμεσο ιστό. Η νεφρική βλάβη οδηγεί επομένως σε καταστροφή ολόκληρου του νεφρώνα και σε προοδευτική μείωση του αριθμού των λειτουργούντων νεφρώνων (θεωρία του άθικτου νεφρώνα του Bricker, 1969, “intact nephron hypothesis”) (362). Οι εναπομείναντες μορφολογικά και λειτουργικά άθικτοι νεφρώνες λόγω του μειωμένου αριθμού τους υπερδιηθούνται αντιρροπιστικά. Είναι επίσης γνωστό ότι η υπερδιήθηση επιτείνεται από την αρτηριακή υπέρταση που σχεδόν πάντα συνοδεύει τη νεφρική πάθηση και από υπερβολική πρόσληψη λευκωμάτων. Η αντιρροπιστική υπερδιήθηση συνδέεται με αύξηση της ενδοσπειραματικής πίεσης και διήθηση πρωτεϊνών προς την κάψα του Bauman και το μεσάγγειο. Βαθμιαία προκαλείται υπερτροφία, ίνωση, σκλήρυνση (σπειραματοσκλήρυνση) και τελικά καταστροφή των νεφρώνων αυτών. Η αυξημένη διήθηση και συσσώρευση πρωτεϊνών στο μεσάγγειο στα πλαίσια της υπερδιήθησης θεωρείται αποφασιστικής σημασίας για την παθογένεια της προοδευτικής ίνωσης στο σπείραμα. Με τον παραπάνω μηχανισμό, δηλαδή της υπερδιήθησης με σταδιακή καταστροφή των νεφρώνων, η χρόνια νεφρική ανεπάρκεια οδηγείται βαθμιαία προς το τελικό στάδιο. Η εξέλιξη αυτή παρατηρείται ακόμη και σε περιπτώσεις που η αρχική πάθηση έχει υποχωρήσει ή βρίσκεται σε ύφεση. Η παραπάνω υπόθεση για την

προοδευτική εξέλιξη της χρόνιας νεφρικής ανεπάρκειας διατυπώθηκε από τον Brenner στη λεγόμενη θεωρία της υπερδιήθησης (“hyperfiltration hypothesis” του Brenner, 1982) (362,369).

5. ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ ΤΗΣ ΧΡΟΝΙΑΣ ΝΕΦΡΙΚΗΣ ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑΣ

5.1. ΤΑ ΣΤΑΔΙΑ ΤΗΣ ΧΡΟΝΙΑΣ ΝΕΦΡΙΚΗΣ ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑΣ

Στη χρόνια νεφρική ανεπάρκεια έχουν ορισθεί τέσσερα κλινικά στάδια της νόσου. Ανάλογα με τη βαρύτητα της νόσου διαφέρουν και τα συμπτώματα. Ο διαχωρισμός βασίζεται από το ύψος του ρυθμού σπειραματικής διήθησης (GFR, που συνήθως στην κλινική πράξη προσδιορίζεται ως κάθαρση κρεατινίνης), τη συγκέντρωση κρεατινίνης στον ορό, κυρίως όμως από τα κλινικά συμπτώματα. Αν και μοιάζει κάπως αυθαίρετος ο παρακάτω διαχωρισμός έχει ιδιαίτερη διαγνωστική, προγνωστική και προπάντων θεραπευτική σημασία.

Το **πρώτο στάδιο** είναι λανθάνον, δηλαδή σαν μόνη εκδήλωση παρατηρείται μείωση της GFR χωρίς αζωθαιμία (αύξηση κρεατινίνης ή ουρίας). Δεν παρουσιάζεται καμία κλινική εκδήλωση εκτός από τα κλινικοεργαστηριακά σημεία της υποκείμενης αιτιολογικής νόσου. Η GFR είναι μειωμένη ενώ η κρεατινίνη ορού είναι φυσιολογική. Ιδιαίτερα στο πρώιμο αυτό στάδιο ειδικές θεραπείες της υποκείμενης νόσου παρουσιάζουν τα μέγιστα ποσοστά επιτυχίας. Αργότερα και αφού καταστραφούν τα 50-70% των νεφρώνων αρχίζει να εμφανίζεται αύξηση της κρεατινίνης και της ουρίας (αζωθαιμία). Στο **δεύτερο στάδιο** της χρόνιας νεφρικής ανεπάρκειας είναι συχνή η παρουσία υπερτάσεως και αύξησης του όγκου ούρων 24ώρου (περίπου 3 λίτρα) η κρεατινίνη κυμαίνεται από 1-6 mg/dl. Ο ασθενής

εξακολουθεί στις περισσότερες περιπτώσεις να μην παραπονείται για κανένα σοβαρό ενόχλημα. Αργότερα είναι δυνατόν να παρουσιαστούν γενικά συμπτώματα όπως καταβολή, εύκολη κόπωση και ανορεξία. Η διάκριση αυτού του σταδίου από τα πιο προχωρημένα στάδια (τρίτο: προουραιμία και τέταρτο: ουραιμία) γίνεται αποκλειστικά με κλινικά κριτήρια. Όταν πρωτοεμφανιστούν κλινικά συμπτώματα ουραιμίας τότε μιλούμε για το **τρίτο στάδιο**. Με κατάλληλη συντηρητική θεραπευτική αντιμετώπιση τα ουραιμικά συμπτώματα είναι δυνατόν να υποχωρήσουν και ο ασθενής να επανέλθει στο δεύτερο στάδιο. Εάν στο τρίτο στάδιο μετά την εξάντληση όλων των συντηρητικών μεθόδων θεραπείας επανεμφανιστεί ή αν δεν υποχωρήσει καν η κλινική εικόνα της ουραιμίας τότε σημαίνει ότι ο ασθενής έχει μεταπέσει στην ουραιμία το **τέταρτο και τελικό στάδιο** της χρόνιας νεφρικής ανεπάρκειας. Στο στάδιο αυτό απαιτείται θεραπεία εξωνεφρικής κάθαρσης και συνήθως η κρεατινίνη στον όρο είναι >10mg/dl (367,369) (Πίνακας 6).

Πίνακας 6. Τα κλινικά στάδια της χρόνιας νεφρικής ανεπάρκειας (ΧΝΑ) σε αντιστοιχία με τις τιμές του ρυθμού σπειραματικής διήθησης (GFR) και της κρεατινίνης ορού.

Στάδια της ΧΝΑ	Κρεατινίνη (mg/dl)	GFR (ml/min)
1 ^ο Πλήρης Αντιρρόπηση	<1	>50
2 ^ο Αντιρροπούμενη Κατακράτηση	1-6	15-50
3 ^ο Πρότελικο Στάδιο, Προουραιμία	6-10	5-15
4 ^ο Τελικό Στάδιο, Ουραιμία	>10	<5

5.2. ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΕΠΙΠΛΟΚΕΣ

Η κλινική συμπτωματολογία στη χρόνια νεφρική ανεπάρκεια προκαλείται από: **1)** Την ανεπαρκή απεκκριτική λειτουργία των νεφρών με διαταραχές στην ομοιόσταση ύδατος (H_2O), ηλεκτρολυτών και την οξεοβασική ισορροπία, **2)** Διαταραχές στην παραγωγή και έκκριση ορμονών όπως η ερυθροποιητίνη και ο ενεργός μεταβολίτης της βιταμίνης D (1,25 διυδροξυχοληκαλσιφερόλη) και **3)** Σε προχωρημένα στάδια, την τοξική επίδραση στον οργανισμό των συσσωρευμένων προϊόντων του καταβολισμού των λευκωμάτων (το ουραιμικό σύνδρομο ή ουραιμία) (362).

Από τα αρχικά όμως στάδια της νόσου παρατηρείται σταδιακή μείωση της φυσιολογικής ικανότητας πύκνωσης και αραίωσης των ούρων ώστε τελικά να αποβάλλονται ούρα σχεδόν ισοσθενή προς το πλάσμα (EB 1010 g/l, ωσμωτικότητα 310 mosm/kg). Η διαταραχή της μέγιστης ικανότητας πύκνωσης ούρων οφείλεται σε αντίσταση στη δράση της ADH λόγω μείωσης των διαύλων ύδατος (υδατοπορίνη-2) στα κύρια κύτταρα των αθροιστικών σωληναρίων. Η διαταραχή της μέγιστης ικανότητας αραίωσης των ούρων από την άλλη μεριά οφείλεται στην ωσμωτική διούρηση, που προκαλείται από αύξηση της συγκέντρωσης των κατακρατημένων μικρομοριακών ουσιών (π.χ. ουρίας, κρεατινίνης) στο πλάσμα και το διήθημα του κάθε νεφρώνα. Παρά ταύτα το ισοζύγιο ύδατος διατηρείται ικανοποιητικά και παρουσιάζει διαταραχές κυρίως στα προχωρημένα στάδια της χρόνιας νεφρικής ανεπάρκειας. Καθημερινά αποβάλλονται στα ούρα περίπου 900 mosmol διαλυτών ουσιών που προέρχονται από το μεταβολισμό και αποτελούνται κυρίως από ουρία και άλατα Na^+ και K^+ . Οι φυσιολογικοί νεφροί επιτυγχάνουν μεγάλες διακυμάνσεις της ωσμωτικότητας (60-1200 mosm/kg) και του ειδικού

βάρους (EB: 1001-1035 g/l) των ούρων. Είναι σε θέση να αποβάλλουν το ωσμωτικό φορτίο είτε μέσα σε 750 ml ούρων με μέγιστη πύκνωση (1200 mosm/l) είτε σε 15 l ούρα με μέγιστη αραιώση (60 mosm/l). Αντίθετα οι νεφροί στη χρόνια νεφρική ανεπάρκεια (GFR 10 ml/min) δεν είναι σε θέση να πετύχουν αραιώση των ούρων κάτω από 250 mosm/l κατά μέσο όρο και η μέγιστη ικανότητα πύκνωσης ανέρχεται σε 310 mosm/l ούρων. Επομένως σε χρόνια νεφρική ανεπάρκεια για να αποβληθεί το συνολικό ημερήσιο ωσμωτικό φορτίο των 900 mosm/l απαιτούνται 2-4 l ούρων. Στα όρια αυτά πρέπει να κυμαίνεται και η ποσότητα προσλαμβανομένων υγρών για να διατηρηθεί το ισοζύγιο ύδατος και η λειτουργία της απέκκρισης.

Η κλινική σημασία των παραπάνω διαταραχών είναι προφανής. Ο περιορισμός της μέγιστης ικανότητας πύκνωσης και αραιώσης των ούρων οδηγεί σε αδυναμία αυξομείωσης του όγκου ούρων. Επομένως όταν η ημερήσια προσλαμβανόμενη ποσότητα υγρών διατηρείται σταθερή (περίπου 2-3 l) δεν εμφανίζονται εύκολα διαταραχές του ισοζυγίου ύδατος. Κατά πολύ μικρότερη ημερήσια πρόσληψη υγρών έχει σαν αποτέλεσμα αρνητικό ισοζύγιο και αφυδάτωση ενώ κατά πολύ μεγαλύτερη δημιουργεί υπερυδάτωση, οιδήματα και υπονατριαιμία από αραιώση. Επιπλέον η αδυναμία συμπύκνωσης και η ωσμωτική διούρηση συνοδεύεται συνήθως από πολυουρία και νυκτουρία. Μόνο σε έντονη μείωση του λειτουργικού νεφρικού ιστού (στο τελικό στάδιο) η ποσότητα των ούρων ελαττώνεται και οι ασθενείς γίνονται ολιγοανουρικοί. Σήμερα πλέον παρατηρείται ολιγοανουρία μόνο μετά την έναρξη της αιμοκάθαρσης.

Το ισοζύγιο Na^+ διατηρείται επαρκώς στη χρόνια νεφρική ανεπάρκεια ώστε μόνο σπάνια να παρατηρείται κατακράτηση. Η συγκέντρωση Na^+ στον

ορό παραμένει φυσιολογική ακόμη και σε προχωρημένα στάδια της νόσου. Αυτό επιτυγχάνεται, παρά τη μείωση του αριθμού των νεφρώνων, με αύξηση της κλασματικής απέκκρισης Na^+ (FENa , ισοδυναμεί με μείωση της επαναρρόφησης) ανά λειτουργούντα νεφρώνα. Η επαναρρόφηση Na^+ που σε φυσιολογική νεφρική λειτουργία φθάνει τα 99% του διηθούμενου Na^+ είναι δυνατόν να μειωθεί σε 70% στη χρόνια νεφρική ανεπάρκεια. Η λειτουργική αυτή προσαρμογή του νεφρώνα δεν είναι απεριόριστη. Η κλασματική απέκκριση Na^+ τόσο σε φυσιολογική νεφρική λειτουργία όσο και σε ασθενείς με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια, δεν είναι δυνατό να υπερβεί το 30% της διηθούμενης ποσότητας. Επομένως θετικό ισοζύγιο και αύξηση της ολικής ποσότητας Na^+ στον οργανισμό θα προκύψει μόνον όταν ο ρυθμός σπειραματικής διήθησης είναι τόσο χαμηλός ($<5\text{-}10\text{ ml/min}$) ή η πρόσληψη NaCl τόσο αυξημένη ώστε για να διατηρηθεί το ισοζύγιο να απαιτείται μεγαλύτερη από 30% κλασματική απέκκριση Na^+ (FENa).

Εξαίρεση στον κανόνα αποτελούν νεφροπάθειες με απώλεια νατρίου («salt losing nephropathies») στις οποίες εξαιτίας διαταραχών της σωληναριακής λειτουργίας μειώνεται η ικανότητα κατακράτησης Na^+ . Στις περιπτώσεις αυτές παρατηρείται μεγάλη απώλεια NaCl και υπονατριαιμία ακόμη και σε πρώιμα στάδια της χρόνιας νεφρικής ανεπάρκειας ($\text{GFR} > 20\text{ ml/min}$). Τέτοιες παθήσεις είναι π.χ. η χρόνια διάμεση νεφροπάθεια ή ο πολυκυστικός νεφρός.

Στη χρόνια νεφρική ανεπάρκεια το ισοζύγιο K^+ διατηρείται κυρίως εξαιτίας της αυξημένης έκκρισης K^+ ανά άθικτο νεφρώνα. Η υπερκαλιαιμία που είναι δυνητικά θανατηφόρα επιπλοκή (καρδιακή ανακοπή) παρατηρείται κυρίως όταν υπάρχει ολιγοανουρία δηλαδή στο τελικό στάδιο της χρόνιας

νεφρικής ανεπάρκειας. Παράλληλα με την αυξημένη νεφρική απέκκριση (ανά νεφρώνα) το έντερο των ασθενών με νεφρική ανεπάρκεια αποτελεί σημαντική οδό αποβολής K^+ και η δυσκοιλιότητα μπορεί να μειώσει την αποβολή του. Η ποσότητα του K^+ που αποβάλλεται με αυτό τον τρόπο αυξάνεται καθώς μειώνεται η νεφρική λειτουργία και φθάνει μέχρι και 50% της προσλαμβανόμενης ποσότητας σε ασθενείς της αιμοκάθαρσης. Για τους παραπάνω λόγους η συγκέντρωση K^+ στον όρο παραμένει φυσιολογική ακόμη και σε προχωρημένα στάδια της νόσου. Όσο δεν υπάρχει oligoανουρία, υπερκαλιαιμία παρατηρείται σε: **1)** Έντονα αυξημένη διαιτητική πρόσληψη ή ιατρογενή χορήγηση K^+ (π.χ. γεύμα πλούσιο σε φρούτα ή ορός με K^+ κυρίως όταν χορηγείται χωρίς στενή εργαστηριακή παρακολούθηση) **2)** Χορήγηση αναστολέων του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτενσίνης (Αμεα), καλιοσυντηρητικών διουρητικών (αμιλορίδη, τριαμερένη, σπιρονολακτόνη) ή υψηλών δόσεων κοτριμοξαζόλης **3)** Απελευθέρωση ενδοκυτταρίου K^+ στον εξωκυτταρίο χώρο και το αίμα (π.χ. αιματώματα, υπερκαταβολισμός και οξέωση) **4)** Υποαλδοστερονισμό (π.χ. υπορενιναιμικός υποαλδοστερονισμός σε πρώιμη διαβητική νεφροπάθεια) ή υπονατρίαμία με μείωση της επαναρρόφησης Na^+ στο άπω εσπειραμένο σωληνάριο η οποία συνοδεύεται από κατακράτηση K^+ .

Όταν η GFR μειωθεί < 40 ml/min, βαθμιαία αναπτύσσεται μια μεταβολική οξέωση, η ουραιμική οξέωση. Στην ουραιμική οξέωση παρατηρείται πτώση της συγκέντρωσης διττανθρακικών συνήθως στα 12-18 mEq/l και χαρακτηριστικά αύξηση του χάσματος ανιόντων: $Na^+ - (Cl^- + HCO_3^-) > 12$. Αιτία της ουραιμικής οξέωσης είναι η μείωση αμμωνιογένεσης που οδηγεί σε ελάττωση του απεκκρινόμενου H^+ στο άπω εσπειραμένο

σωληνάριο. Η μείωση της αμμωνιογένεσης οφείλεται στη ελάττωση του συνολικού αριθμού των λειτουργούντων νεφρώνων και όχι σε μειωμένη παραγωγή ανά νεφρώνα. Βαρύτερες μορφές οξέωσης ($\text{HCO}_3^- < 10 \text{ mmol/l}$) παρατηρούνται συνήθως όταν με τη χρόνια νεφρική ανεπάρκεια συνυπάρχει νεφρική σωληναριακή οξέωση στα πλαίσια σωληναριακής βλάβης.

Επίσης οι ασθενείς εμφανίζουν υπέρταση σε μεγάλη συχνότητα που φθάνει τα 80-95% σε προχωρημένα στάδια της νόσου. Η υπέρταση στη χρόνια νεφρική ανεπάρκεια οφείλεται κυρίως σε κατακράτηση Na^+ (συχνά χωρίς κλινικά εμφανή υπερυδάτωση και οίδημα) και σε μικρότερο βαθμό σε ενεργοποίηση του συστήματος ρενίνης-αγγειοτενσίνης-αλδοστερόνης. Επιδείνωση της υπέρτασης παρατηρείται επίσης συχνά μετά από τη χορήγηση ανθρώπινης ανασυνδιασμένης ερυθροποιητίνης (rHuEPO) για την θεραπεία της νεφρογενούς αναιμίας. Η νεφρογενής αναιμία είναι μια ορθόχρωμη, ορθοκυτταρική αναιμία που προκαλείται κυρίως από την μειωμένη παραγωγή ερυθροποιητίνης στους νεφρούς. Ένα ρόλο στην παθογένεια της αναιμίας παίζει και η ουραιμία.

Στη χρόνια νεφρική ανεπάρκεια παρατηρούνται διαταραχές στο ισοζύγιο φωσφόρου, ασβεστίου που συνοδεύονται από τον δευτεροπαθή υπερπαραθυρεοειδισμό. Σε πρώιμα ήδη στάδια έχουμε μείωση της νεφρικής απέκκρισης φωσφόρου και υπερφωσφαιταιμία. Η υπερφωσφαταιμία αναστέλλει την ενεργοποίηση της βιταμίνης D (1 υδροξυλίωση της καλσιδιόλης) από τους νεφρούς και μειώνει την παραγωγή καλσιτριόλης (1,25 διυδροξυχοληκασιφερόλη $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$). Σε έντονη μείωση του λειτουργικού νεφρικού ιστού η παραγωγή καλσιτριόλης μειώνεται περαιτέρω. Η έλλειψη καλσιτριόλης προκαλεί μειωμένη εντερική απορρόφηση και οστική

απελευθέρωση Ca^{++} και υπασβεστιαϊμία που με τη σειρά της διεγείρει την έκκριση παραθορμόνης (δευτεροπαθής υπερπαραθυρεοειδισμός). Τελευταία έχειδειχθεί ότι η υπερφωσφαταιμία μπορεί να διεγείρει και απευθείας την παραγωγή παραθορμόνης. Επομένως η υπερφωσφαταιμία και η έλλειψη καλσιτριόλης αποτελούν τους πρωτογενείς παράγοντες που προκαλούν το δευτεροπαθή υπερπαραθυρεοειδισμό. Οι παραπάνω διαταραχές προκαλούν τη νεφρική οστεοδυστροφία. Διαχωρίζουμε ιστολογικά τρεις μορφές οστικών αλλοιώσεων στα πλαίσια της νεφρικής οστεοδυστροφίας: την ινώδη οστεΐτιδα, την οστεομαλακία και την αδυναμική οστική νόσο (362,366-371).

5.3. ΟΥΡΑΙΜΙΚΟ ΣΥΝΔΡΟΜΟ

Ουραιμία ονομάζεται το κλινικό σύνδρομο που προκαλείται σε ασθενείς με οξεία ή χρόνια νεφρική ανεπάρκεια από τη δηλητηρίαση με ουραιμικές τοξίνες. Αποτελεί την κατάληξη της εξέλιξης που ξεκινάει από τον συμπτωματικό περιορισμό της νεφρικής λειτουργίας και διέρχεται τα στάδια της αντιρροπούμενης και της μη αντιρροπούμενης κατακράτησης. Η εξέλιξη αυτή προς την ουραιμία διαρκεί μερικές μέρες στην οξεία νεφρική ανεπάρκεια, μερικές μέρες ως εβδομάδες στην ταχέως εξελισσόμενη σπειραματονεφρίτιδα και μερικά χρόνια ή και δεκαετίες στη χρόνια νεφρική ανεπάρκεια. Το ουραιμικό σύνδρομο μπορεί να προσβάλλει όλα τα όργανα και τα συστήματα παρουσιάζοντας μεγάλο εύρος και ποικιλία συμπτωμάτων. Αυτά αφορούν το δέρμα, το κεντρικό και περιφερικό νευρικό σύστημα, το αίμα, το καρδιαγγειακό, τους πνεύμονες, το γαστρεντερικό σύστημα, τους ενδοκρινείς αδένες και το ερειστικό σύστημα. Στην αρχή είναι δυνατόν να παρατηρούνται κλινικές παραλλαγές της ουραιμίας επειδή εμφανίζεται μόνο μέρος από τα

ουραιμικά συμπτώματα. Μετά από ένα διάστημα (ημερών) όμως το ουραιμικό σύνδρομο παρουσιάζει πλήρη ανάπτυξη και τυπική ομοιομορφία στη συμπτωματολογία. Σήμερα στην εποχή της αιμοκάθαρσης πλήρης ανάπτυξη της ουραιμίας παρατηρείται πια πολύ σπάνια.

Η ουραιμία είναι μια μορφή συστηματικής δηλητηρίασης που οφείλεται σε νεφρική κατακράτηση ουσιών του καταβολισμού των λευκωμάτων, των λεγόμενων ουραιμικών τοξινών. Το γεγονός αυτό καταδεικνύεται έμμεσα από τα ουραιμικά συμπτώματα που: **1)** έχουν χαρακτήρες συστηματικής δηλητηρίασης ιδιαίτερα αυτά από το κεντρικό νευρικό σύστημα **2)** βελτιώνονται ή και εξαφανίζονται άμεσα μετά την απομάκρυνση μικρομοριακών ουσιών με την αιμοκάθαρση **3)** βελτιώνονται με δίαιτα πτωχή σε λευκώματα ενώ χειροτερεύουν με δίαιτα πλούσια σε λευκώματα. Πέρα από αυτές τις παρατηρήσεις δεν επικρατεί ακόμη συμφωνία για την ακριβή ταυτότητα των ουραιμικών τοξινών και δεν έχει επιτευχθεί συσχέτιση δεδομένων ουραιμικών συμπτωμάτων με τις διάφορες κατακρατούμενες ουσίες. Γενικώς για την ουραιμία ενοχοποιούνται προϊόντα του μεταβολισμού των πρωτεϊνών και των πυρηνικών οξέων που αποβάλλονται φυσιολογικά από τους νεφρούς. Αντίθετα τα λίπη και οι υδατάνθρακες καταβολίζονται σε H_2O και CO_2 που αποβάλλονται από τους πνεύμονες. Ορισμένες διαταραχές του ουραιμικού συνδρόμου φαίνεται να σχετίζονται με συγκεκριμένα αζωτούχα μικρομόρια. Τέτοια μόρια είναι τα προϊόντα του ηπατικού μεταβολισμού αργινίνης και ασπαρτικού οξέος, ιδιαίτερα το γουανιδινοσουλζινικό οξύ και τα παράγωγα του μεταβολισμού της κρεατινίνης από εντερικά βακτηρίδια (μεθυλογουανιδίνη και μεθυλαμίνες). Αντίθετα η ουρία και η κρεατινίνη αν και η συγκέντρωσή τους στο πλάσμα

χρησιμοποιείται σαν δείκτης της νεφρικής λειτουργίας δεν φαίνεται να παίζουν ρόλο στην πρόκληση ουραιμικών συμπτωμάτων.

Εκτός από τα μικρομόρια στην παθογένεια του ουραιμικού συνδρόμου έχουν ενοχοποιηθεί και ουσίες σχετικά μεγάλου μοριακού βάρους (300-5000 D). Ορισμένοι ασθενείς εμφανίζουν ουραιμικά συμπτώματα (κυρίως πολυνευροπάθεια) παρότι με την αιμοκάθαρση ελέγχονται οι τιμές μικρομοριακών αζωτούχων μεταβολιτών στο αίμα. Στην παρατήρηση αυτή στηρίχθηκε η διατύπωση της υπόθεσης των «μέσων μορίων» (middle molecule hypothesis) για την παθογένεια της ουραιμίας. Επειδή η μεμβράνη των φίλτρων αιμοκάθαρσης δεν επιτρέπει την διήθηση ουσιών με μοριακό βάρος όπως της ινσουλίνης (5000 D) υποστηρίχθηκε ότι οι ουραιμικές διαταραχές οφείλονται σε πλημμελή κάθαρση «μέσων μορίων». Ο μηχανισμός με τον οποίο τα παραπάνω συστατικά (ουραιμικές τοξίνες) προκαλούν τις λειτουργικές διαταραχές ή τις μορφολογικές βλάβες στα όργανα ουραιμικών οργανισμών παραμένει επίσης άγνωστος. Σύμφωνα με μια θεωρία στην ουραιμία προκαλείται βλάβη της διαμεμβρανικής μεταφοράς κατιόντων (Na^+/K^+), που έχει σαν συνέπεια μείωση του δυναμικού ηρεμίας και της ενδοκυττάριας συγκέντρωσης K^+ και αύξηση της ενδοκυττάριας τιμής Na^+ . Πράγματι, παρόμοιες αλλοιώσεις παρατηρήθηκαν σε ερυθροκύτταρα, λευκά αιμοσφαίρια και κύτταρα του κεντρικού νευρικού συστήματος και των ραβδωτών μυών σε ουραιμικά άτομα ή πειραματόζωα και αποδόθηκαν σε μειωμένη απόδοση του ενζύμου Na-K-ATPάση (δηλαδή της αντλίας Na^+/K^+ των κυτταρικών μεμβρανών). Τελικά οι σημερινές γνώσεις συνοψίζονται στο ότι η ουραιμία προκαλείται από μια ποικιλία μεταβολών του βιοχημικού

περιβάλλοντος του οργανισμού όπου κεντρικό ρόλο παίζουν προϊόντα και διαταραχές του μεταβολισμού των πρωτεϊνών (372-374).

6. ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Η **συντηρητική αγωγή** της χρόνιας νεφρικής ανεπάρκειας αφορά τα τρία πρώτα στάδια της νόσου ενώ το τελικό στάδιο της ουραιμίας υπάρχει ένδειξη για **θεραπεία εξωνεφρικής κάθαρσης** ή για **μεταμόσχευση νεφρού**. Γενικά ισχύει ότι στην αντιμετώπιση ασθενών με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια αντενδείκνυται η χρήση νεφροτοξικών φαρμάκων (π.χ. μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη, αμυνογλυκοσίδες) και ότι η δοσολογία όλων των φαρμάκων, ιδίως αυτών με νεφρική απέκκριση, θα πρέπει να προσαρμόζεται στη νεφρική λειτουργία.

6.1. ΣΥΝΤΗΡΗΤΙΚΗ ΑΓΩΓΗ

Η συντηρητική αγωγή συνίσταται σε ειδικές θεραπείες για την αντιμετώπιση της υποκείμενης νόσου, στη ρύθμιση των παραγόντων που επιταχύνουν τον ρυθμό εξέλιξης της νεφρικής ανεπάρκειας και τέλος στην πρόληψη ή αντιμετώπιση των επιπλοκών όπως υπερκαλιαιμία και οξέωση.

Ειδικές θεραπείες της υποκείμενης νόσου έχουν τα μέγιστα ποσοστά επιτυχίας κυρίως στο πρώτο ή σε ανερχόμενο δεύτερο στάδιο της χρόνιας νεφρικής ανεπάρκειας.

Η αγωγή για την πρόληψη της εξέλιξης της νόσου προς το τελικό στάδιο συμπεριλαμβάνει αφενός περιορισμό της πρόσληψης λευκωμάτων στη δίαιτα και αφετέρου μια συνεπή αντιμετώπιση της αρτηριακής υπέρτασης.

Ο περιορισμός της πρόσληψης λευκωμάτων έχει σαν πρώτο στόχο την μείωση της ποσότητας των ουραιμικών τοξινών που παράγονται από τον καταβολισμό των λευκωμάτων. Πρακτικά έχει σαν αποτέλεσμα τη μείωση της συγκέντρωσης της ουρίας στον ορό και την πρόληψη της εκδήλωσης του

ουραιμικού συνδρόμου, ιδιαίτερα στο τρίτο στάδιο της νεφρικής ανεπάρκειας. Αντίθετα δεν επηρεάζει την συγκέντρωση της κρεατινίνης. Τα προσλαμβανόμενα λευκώματα πρέπει να είναι υψηλής θρεπτικής αξίας (δηλ. κατά προτίμηση ζωικά) και η ποσότητα τους επαρκής ώστε να αποφεύγεται το αρνητικό ισοζύγιο αζώτου. Αυτό σημαίνει ότι παρά την μείωση η προσλαμβανόμενη ποσότητα λευκώματος δεν πρέπει να υστερεί των απωλειών. Κλινικές μελέτες έδειξαν ότι η ημερήσια πρόσληψη λευκωμάτων μπορεί να μειωθεί μέχρι 0.5 gr/kg ΒΣ. Αυστηρότερες δίαιτες, όπως η «σουηδική δίαιτα» (0.4 gr/kg ΒΣ) εφαρμόζονταν πολύ συχνά παλαιότερα όταν η πρόσβαση σε θεραπείες νεφρικής υποκατάστασης ήταν περιορισμένη. Στις περιπτώσεις αυτές θεωρείται απαραίτητη η ταυτόχρονη χορήγηση σκευασμάτων με απαραίτητα αμινοξέα ή κετοοξέα (20 g/d). Πέρα από την πρόληψη της ουραιμίας η ελαττωμένη πρόσληψη λευκωμάτων στη χρόνια νεφρική ανεπάρκεια περιορίζει και την υπερδιήθηση των λειτουργούντων νεφρώνων. Επειδή η μείωση της υπερδιήθησης φαίνεται ότι έχει ευεργετική επίδραση στην πορεία της νόσου η μείωση των λευκωμάτων στη δίαιτα του νεφροπαθούς εφαρμόζεται σήμερα σε πρώιμα στάδια, κυρίως σε ασθενείς με διαβητική νεφροπάθεια ή άλλες χρόνιες σπειραματοπάθειες.

Στόχος της αντιυπερτασικής αγωγής είναι τιμές αρτηριακής πίεσεως <120/80 mmHg. Η ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης σε ιδανικά επίπεδα έχει θετική επίδραση στην πορεία της χρόνιας νεφρικής ανεπάρκειας ανεξαρτήτως αιτιολογίας. Οι αναστολείς του μετατρεπτικού ενζύμου (Αμεα) ή του υποδοχέα-1 της αγγειοτενσίνης II (Αατ1) είναι η πλέον ενδεδειγμένη αντιυπερτασική αγωγή. Η αναστολή του συστήματος ρενίνης-αγγειοτενσίνης (π.χ. από τους Αμεα) έχει πλέον της αντιυπερτασικής και μια ειδική

νεφροπροστατευτική δράση. Στο σημείο αυτό τονίζουμε ότι οι Αμεα μπορεί να προκαλέσουν υπερκαλιαιμία και οξεία μείωση της GFR, κυρίως σε ασθενείς με νεφρική ανεπάρκεια. Για το λόγο αυτό κρεατινίνη >3.0 mg/dl στον ορό θεωρείται αντένδειξη για την χορήγηση Αμεα. Εκτός αυτού, πάντοτε κατά την έναρξη της αγωγής απαιτείται έλεγχος και στη συνέχεια στενή παρακολούθηση του K^+ και της κρεατινίνης στον ορό.

Η αυξημένη ημερήσια πρόσληψη υγρών (2-3 l/d) και διατήρηση της διούρησης σε υψηλά επίπεδα (2-2.5 l/d) είναι επίσης απαραίτητη στη χρόνια νεφρική ανεπάρκεια. Με αυτή την ποσότητα υγρών επιτυγχάνεται επαρκής νεφρικά απέκκριση και διατήρηση των ουραιμικών τοξινών (ουρίας) σε ανεκτά επίπεδα χωρίς να διαταράσσεται το ισοζύγιο H_2O . Σε μείωση της διούρησης χορηγούμε διουρητικά της αγκύλης (φουροσεμίδα) αφού βέβαια πρώτα έχουν αποκλειστεί άλλα αίτια μείωσης της διούρησης όπως αφυδάτωση, υπονατριαιμία, λήψη νεφροτοξικών φαρμάκων (π.χ. με στεροειδή αντιφλεγμονώδη). Οι απαιτούμενες δόσεις φουροσεμίδης μπορεί να είναι υψηλότερες από ότι σε φυσιολογική νεφρική λειτουργία (40-750 mg/d per os). Πριν την αύξηση της δόσεως της φουροσεμίδης στα υψηλά επίπεδα, όπως συνηθίζονταν παλαιότερα, προτιμούμε το συνδυασμό φουροσεμίδης με ένα θειαζιδικό διουρητικό. Αν και οι θειαζίνες σαν μονοθεραπεία δεν δρουν στη χρόνια νεφρική ανεπάρκεια, με τον συνδυασμό των δυο διουρητικών επιτυγχάνεται αύξηση της διούρησης με μικρότερες δόσεις διουρητικών της αγκύλης. Η αναστολή της επαναρρόφησης Na^+ σε διαδοχικά τμήματα του νεφρώνα επιτείνει τη νατριούρηση (διούρηση) με αποτέλεσμα να μειώνεται η αντίσταση στη φουροσεμίδα. Για το λόγο αυτό η παραπάνω αγωγή ονομάζεται «διαδοχική νεφρωνική αναστολή».

Η υπονατριαιμία, π.χ. στα πλαίσια νεφροπάθειας με απώλεια Na^+ , προκαλεί αντίσταση στη δράση της φουροσεμίδης, μείωση της διούρησης και επιδείνωση της νεφρικής λειτουργίας. Γίνεται επομένως κατανοητό ότι η μείωση της πρόσληψης NaCl («άναλος δίαιτα») δεν πρέπει να εφαρμόζεται αδιάκριτα σε ασθενείς με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια ακόμη και αν συνυπάρχει υπέρταση. Η ορθή θεραπευτική πρακτική είναι να καθορίζεται η περιεκτικότητα της δίαιτας σε NaCl μετά την μέτρηση της αποβαλλόμενης ποσότητας Na^+ στα ούρα. Παρότι δεν επικρατεί ακόμη συμφωνία, θεωρούμε ενδεδειγμένη μια πρώιμη αντιμετώπιση της μεταβολικής οξέωσης, δηλαδή από μια συγκέντρωση $\text{HCO}_3^- < 18 \text{ mmol/l}$ στον ορό. Η αγωγή αυτή επιδρά προληπτικά στη νεφρογενή μυϊκή ατροφία και την νεφρική οστεοδυστροφία. Στόχος είναι η διατήρηση των διττανθρακικών του ορού σε $18\text{-}20 \text{ meq/l}$ και η απαιτούμενη ημερήσια δόση NaHCO_3 ανέρχεται συνήθως σε 1 mmol/kg B.S. Συνήθως χορηγείται διττανθρακικό νάτριο (NaHCO_3) αλλά μπορεί να χρησιμοποιηθούν και τα άλατα ασβεστίου (CaCO_3). Κατά την χορήγηση NaHCO_3 πρέπει να λαμβάνεται υπόψη και το ισοζύγιο Na^+ αν και το Na^+ του NaHCO_3 κατακρατείται στον οργανισμό σε μικρότερο βαθμό από του NaCl . Όταν όμως χορηγούνται μεγάλες δόσεις (π.χ. στη νεφρική σωληναριακή οξέωση) είναι δυνατόν να προκληθεί συμπτωματική υπερνατριαιμία ή/και υπερφόρτωση του κυκλοφορικού.

Για την πρόληψη της υπερκαλιαιμίας στη χρόνια νεφρική ανεπάρκεια συνίσταται δίαιτα πτωχή σε κάλιο. Επιπλέον τα καλιοσυντηρητικά διουρητικά αντενδείκνυνται ενώ οι ανταγωνιστές του μετατρεπτικού ενζύμου αγγειοτενσίνης (Αμεα) όπως και υψηλές δόσεις κοτριμοξαζόλης μπορούν να οδηγήσουν σε υπερκαλιαιμία. Σε βαριά υπερκαλιαιμία ($>6.5 \text{ mmol/l}$) η

αντιμετώπιση πρέπει να είναι άμεση λόγω της επαπειλούμενης καρδιακής ανακοπής. Η συντηρητική θεραπεία της υπερκαλιαιμίας συνίσταται σε χορήγηση διαλύματος γλυκόζης με ινσουλίνη i.v. (1 l.u ινσουλίνης ανά 4g γλυκόζης), β-συμπαθομιμητικών καθώς και διττανθρακικών i.v. (αντιμετώπιση της οξέωσης). Παρότι η υπερκαλιαιμία και οι επιπτώσεις της στην καρδιά αντιμετωπίζονται συχνά ικανοποιητικά, οι παραπάνω μέθοδοι απλώς μετατοπίζουν το K^+ προς τον ενδοκυττάριο χώρο χωρίς να μειώνουν τα αποθέματά του στον οργανισμό. Αυτό επιτυγχάνεται μόνο με τη χορήγηση ιοντοανταλλακτικών ρητινών (από το στόμα ή εναλλακτικά από το ορθό) που ανταλλάσσουν Na^+ με το K^+ του εντερικού περιεχομένου. Επειδή οι ρητίνες προκαλούν δυσκοιλιότητα σε πολλούς είναι προσηφιλής η ταυτόχρονη χορήγηση ενός καθαρτικού π.χ. διαλύματος σορβιτόλης. Η χορήγηση γλυκονικού ή χλωριούχου ασβεστίου i.v. ενδείκνυται μόνο σε επαπειλούμενες καρδιακές αρρυθμίες. Όταν η συγκέντρωση K^+ ξεπερνά τα 7.0 mmol/l υπάρχει ένδειξη για επείγουσα αιμοκάθαρση. Με την αιμοκάθαρση σε αντιδιαστολή με τις άλλες μεθόδους εξωνεφρικής κάθαρσης επιτυγχάνεται η απαραίτητη ταχεία μείωση της συγκέντρωσης καλίου.

Τέλος όταν η υπερκαλιαιμία παρουσιάζεται σε ασθενείς με μετρίου βαθμού χρόνια νεφρική ανεπάρκεια ($GFR > 25$ ml/min) τότε είναι πολύ πιθανή η ύπαρξη υποαλδοστερισμού, π.χ. υπορενιναιμικού υποαλδοστερονισμού. Στον υπορενιναιμικό υποαλδοστερονισμό ενδείκνυται, εκτός των προαναφερθέντων, η χορήγηση ενός αλατοκορτικοειδούς (π.χ. 9-α-φλουοροκορτιζόνη) για την αποκατάσταση των επιπέδων του K^+ στα φυσιολογικά όρια.

Η νεφρογενής αναιμία αντιμετωπίζεται κατά κύριο λόγο με υποκατάσταση ερυθροποιητίνης. Χορηγούμε ανασυνδυασμένη ανθρώπινη ερυθροποιητίνη (rHuEPO) συνήθως τρεις φορές την εβδομάδα και η απαιτούμενη δόση κυμαίνεται μεταξύ 40 και 100 U/kg ΒΣ. Η άνοδος του αιματοκρίτη υπό αγωγή με rHuEPO συνοδεύεται από μια βελτίωση της πηκτικότητας (υπερπηκτικότητα) που από πολλούς θεωρείται υπεύθυνη για θρομβωτικά επεισόδια π.χ. θρόμβωση της φίστουλας. Μέχρι να απαντηθεί το ερώτημα της κλινικής σημασίας της υπερπηκτικότητας αποφεύγεται από τα περισσότερα κέντρα η νορμαλοποίηση του αιματοκρίτη και στόχος της θεραπείας παραμένει ακόμα μια αύξηση του αιματοκρίτη μέχρι 35%. Κατά τα άλλα η αγωγή rHuEPO δεν συνδέεται με βαριές ανεπιθύμητες ενέργειες παρότι μπορεί συχνά να προκαλεί ή να επιτείνει μια προϋπάρχουσα υπέρταση. Η πρόληψη της νεφρικής οστεοδυστροφίας συνίσταται στην αντιμετώπιση του δευτεροπαθούς υπερπαραθυρεοειδισμού που περιλαμβάνει: αντιμετώπιση της κατακράτησης του φωσφόρου και της υπερφωσφαταιμίας, ρύθμιση των επιπέδων του ασβεστίου του ορού, χορήγηση μεταβολιτών της βιταμίνης D και σε ορισμένες περιπτώσεις την παραθυρεοειδεκτομή.

Η δίαιτα πτωχή σε φώσφορο (δηλαδή με μείωση λευκώματος και αποφυγή προϊόντων γάλακτος) πρέπει να αρχίζει νωρίς διότι κατακράτηση φωσφόρου συμβαίνει ήδη σε πρώιμα στάδια νεφρικής ανεπάρκειας. Στόχος είναι διατήρηση των επιπέδων φωσφόρου στον ορό από 4.0-5.5 mg/dl που συνοδεύεται συνήθως από αύξηση του ασβεστίου και μείωση της παραθορμόνης στον ορό.

Σε πιο προχωρημένα στάδια απαιτείται προσθήκη στη διαίτα δεσμευτικών του φωσφόρου που λαμβάνονται κατά τη διάρκεια του γεύματος. Τέτοια σκευάσματα είναι το υδροξείδιο του Al, το ανθρακικό ασβέστιο, το οξείκό ασβέστιο και η σεβελαμέρη. Παρότι το υδροξείδιο του αργιλίου $[Al(OH)_3]$ είναι το ισχυρότερο η χορήγηση του πρέπει να είναι φειδωλή για αποφυγή συσσώρευσης αλουμινίου (Al) στον οργανισμό. Η χορήγηση αλάτων ασβεστίου πρέπει να αποφεύγεται στην υπερασβεστιαμία. Σε περιπτώσεις υπερασβεστιαμίας προτιμάται η σεβελαμέρη, ένα νέο κατιονικό πολυμερές, που δεν περιέχει ούτε ασβέστιο ούτε αλουμίνιο.

Από τους μεταβολίτες της βιταμίνης D, η $1,25(OH)_2D_3$ είναι η πιο αποτελεσματική στην αντιμετώπιση του δευτεροπαθούς υπερπαραθυρεοειδισμού. Αυξάνει τα επίπεδα ασβεστίου στο φυσιολογικό με πτώση των επιπέδων της παραθορμόνης και βελτίωση των ιστολογικών αλλοιώσεων. Για να αποφεύγεται η υπερφωσφαταιμία η ρύθμιση του φωσφόρου του ορού αποτελεί προϋπόθεση πριν την χορήγηση της $1,25(OH)_2D_3$. Αν προκληθεί υπερασβεστιαμία (και υπερφωσφαταιμία) πρέπει να διακόπτεται η χορήγηση του φαρμάκου. Παρόμοια είναι και η δράση της $1\alpha(OH)D_3$ που δρα αφού υδροξυλιωθεί στη θέση 25 και σχηματισθεί $1,25(OH)_2D_3$. Δεν υπάρχουν σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο αυτών σκευασμάτων στην κλινική πράξη.

Η παραθυρεοειδεκτομή έχει ένδειξη σε περιπτώσεις έκδηλου δευτεροπαθούς υπερπαραθυρεοειδισμού (υποπερισστικές απορροφήσεις, χαρακτηριστική ιστολογική εικόνα) που δεν ελέγχεται με την συντηρητική αγωγή ή παρουσιάζει επίμονη υπερασβεστιαμία που καθιστά αδύνατη τη χορήγηση της $1,25(OH)_2D_3$. Πρέπει να τονισθεί ότι η υπερασβεστιαμία μπορεί

να είναι εύρημα και της οστεομαλακίας στην οποία η παραθυρεοειδεκτομή είναι όχι μόνο περιττή αλλά επιβλαβής. Για αυτό πρέπει να προηγείται η κατηγορηματική διαπίστωση ότι ο ασθενής πάσχει από δευτεροπαθή υπερπαραθυρεοειδισμό (εργαστηριακά, απεικονιστικά και ιστολογικά). Άλλες ενδείξεις παραθυρεοειδεκτομής σε δευτεροπαθή υπερπαραθυρεοειδισμό είναι η ισχαιμική νέκρωση ιστών και ο επίμονος κνησμός. Η επέμβαση περιλαμβάνει την ανεύρεση των τεσσάρων παραθυρεοειδών αδένων και διενέργεια υφολικής παραθυρεοειδεκτομής κατά την οποία 100-200 mg παραθυρεοειδικού ιστού αφήνονται επί τόπου ή εμφυτεύονται, συνηθέστερα στο αντιβράχιο. Έτσι μια αφαίρεση του ιστού είναι εύκολη σε περίπτωση υποτροπής. Από πολλούς εφαρμόζεται και η ολική παραθυρεοειδεκτομή με μείωση των περιπτώσεων υποτροπής ενώ μόνο 10% παρουσιάζει μετεγχειρητικά υποπαραθυρεοειδισμού (375-378).

6.2. ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΝΕΦΡΙΚΗΣ ΥΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ

Απόλυτες ενδείξεις για εφαρμογή θεραπείας εξωνεφρικής κάθαρσης (θεραπεία νεφρικής υποκατάστασης) στη χρόνια νεφρική ανεπάρκεια είναι εκτός από την ουραιμία (εγκεφαλοπάθεια, νευροπάθεια, περικαρδίτιδα) επιπλοκές όπως η βαριά υπερκαλιαιμία ($K^+ > 7.0$ mmol/l) η υπερυδάτωση με πνευμονικό οίδημα ή η βαριά μεταβολική οξέωση, κυρίως όταν δεν είναι ανατάξιμες με συντηρητική αγωγή. Στην αντιμετώπιση της υπερκαλιαιμίας ειδικά απαιτείται αιμοκάθαρση διότι με τη μέθοδο αυτή επιτυγχάνεται η απαραίτητη ταχεία μείωση της συγκέντρωσης καλίου. Επειδή οι επιπλοκές μπορεί να βάλουν σε κίνδυνο την ζωή θεωρείται ότι η εισαγωγή στο πρόγραμμα χρόνιας νεφρικής υποκατάστασης πρέπει να γίνεται πριν από την

εμφάνισής τους. Τα κριτήρια εισαγωγής, που χρησιμοποιούνται ευρέως, είναι κρεατινίνη >10 mg/dl, ουρία >200 mg/dl και κάθαρση κρεατινίνης <5-10 ml/min (366,379) (Πίνακας 7).

Πίνακας 7. Ενδείξεις για την εφαρμογή αιμοκάθαρσης σε ασθενείς με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια.

Ενδείξεις για Θεραπεία Εξωνεφρικής Κάθαρσης

Ουραιμία

Μη Ρυθμιζόμενη Αρτηριακή Υπέρταση

Υπερκαλιαιμία >7 nmol/l

Υπερυδάτωση (Οιδήματα, Υπέρταση, Υγρός Πνεύμονας)

Βαριά Μεταβολική Οξέωση

Κρεατινίνη Ορού >10 mg/dl, Ουρία >200 mg/dl

7. ΒΑΣΙΚΕΣ ΑΡΧΕΣ ΤΩΝ ΜΕΘΟΔΩΝ ΕΞΩΝΕΦΡΙΚΗΣ ΚΑΘΑΡΣΗΣ

Οι κυριότερες σύγχρονες θεραπείες εξωνεφρικής κάθαρσης είναι: **1)** η αιμοκάθαρση, **2)** η συνεχής φορητή περιτοναϊκή κάθαρση (ΣΦΠΚ), **3)** η αιμοδιήθηση και **4)** η αιμοδιαδιήθηση. Ο σκοπός κάθε μιας από τις παραπάνω θεραπείες είναι: **1)** η απομάκρυνση των ουραιμικών τοξινών για την πρόληψη της ουραιμίας, **2)** η χορήγηση ρυθμιστικού (διττανθρακικών ή οξέικου) για την αντιμετώπιση της μεταβολικής οξέωσης και **3)** η απομάκρυνση των κατακρατημένων υγρών για την αντιμετώπιση της υπερυδάτωσης.

7.1. ΑΙΜΟΚΑΘΑΡΣΗ

Στην αιμοκάθαρση η ανταλλαγή ουσιών, που λαμβάνει χώρα μέσα στο φίλτρο, στηρίζεται στις φυσικές αρχές της ώσμωσης και της διάχυσης. Το αίμα και το διάλυμα αιμοκάθαρσης (ισότονο, ισοϊοντικό καθαρό διάλυμα) ρέουν διαμέσου του φίλτρου εκατέρωθεν μιας ημιδιαπερατής μεμβράνης. Η απομάκρυνση των ουραιμικών τοξινών και η πρόσληψη ρυθμιστικών ουσιών (π.χ. διττανθρακικού) γίνεται δια μέσου της ημιδιαπερατής μεμβράνης με διάχυση από το αίμα προς το διάλυμα αιμοκάθαρσης και αντίστροφα. Η υψηλή διαφορά συγκέντρωσης που απαιτείται για την αποτελεσματική διάχυση διατηρείται μηχανικά μέσου του υψηλού ρυθμού ροής με αντίθετη φορά του αίματος (>200 ml/min) και του διαλύματος (400-500 ml/min) μέσα στο φίλτρο. Η απομάκρυνση των υγρών στην αιμοκάθαρση γίνεται με υπερδιήθηση, δηλαδή με διαπίδυση νερού μαζί με τις διαλυμένες ουσίες του πλάσματος από το ενδαγγειακό χώρο προς το διάλυμα. Η υπερδιήθηση επιτυγχάνεται με δημιουργία μιας διαφοράς υδροστατικής πίεσης μεταξύ αίματος και διαλύματος (διαμεμβρανική πίεση). Η διαμεμβρανική πίεση

ρυθμίζεται μηχανικά, συνήθως με τη δημιουργία αρνητικής πίεσης στο χώρο του διαλύματος, ανάλογα με την απαιτούμενη υπερδιήθηση (366,370).

7.2. ΣΥΝΕΧΗΣ ΦΟΡΗΤΗ ΠΕΡΙΤΟΝΑΪΚΗ ΚΑΘΑΡΣΗ

Στη συνεχή φορητή περιτοναϊκή κάθαρση η ανταλλαγή ουσιών στηρίζεται όπως και στην αιμοκάθαρση στις φυσικές αρχές της ώσμωσης και της διάχυσης. Το διάλυμα περιτοναϊκής κάθαρσης εισάγεται στην περιτοναϊκή κοιλότητα μέσω ενός μόνιμα τοποθετημένου κοιλιακού καθετήρα. Η ανταλλαγή ουσιών γίνεται με διάχυση μεταξύ αίματος και διαλύματος, όπου το ρόλο της ημιδιαπερατής μεμβράνης παίζει το περιτόναιο. Μετά την ολοκλήρωση της ανταλλαγής ουσιών το παλαιό διάλυμα αντικαθίσταται με νέο έτσι ώστε στην περιτοναϊκή κοιλότητα να βρίσκεται συνεχώς διάλυμα περιτοναϊκής κάθαρσης. Η απομάκρυνση νερού («υπερδιήθηση») στην περιτοναϊκή κάθαρση βασίζεται στην ώσμωση. Με έγχυση υπέρτονου διαλύματος γλυκόζης στην περιτοναϊκή κοιλότητα δημιουργείται ωσμωτική διαφορά με αποτέλεσμα την διάχυση νερού από το αίμα προς το περιτοναϊκό διάλυμα. Η συχνότητα και η διάρκεια χορήγησης υπέρτονου διαλύματος καθορίζεται ανάλογα με την απαιτούμενη υπερδιήθηση (380).

7.3. ΑΙΜΟΔΙΗΘΗΣΗ

Στην αιμοδιήθηση οι ουραιμικές ουσίες απομακρύνονται αποκλειστικά με το μηχανισμό της μεταφοράς (convection). Στη μέθοδο αυτή δεν χρησιμοποιείται διάλυμα αιμοκάθαρσης. Παράγεται απλώς ένα υπερδιήθημα σε μεγάλες ποσότητες, το οποίο συμπαρασύρει και απομακρύνει από το αίμα ανάλογο ποσό διαλυμένων ουσιών. Το υπερδιήθημα αντικαθίσταται με παράλληλη χορήγηση υγρού ισότονου προς το πλάσμα (υγρό υποκατάστασης). Η παραγωγή επαρκούς ποσότητας υπερδιηθήματος στο διαθέσιμο χρόνο (32 l σε 4-6 h) επιτυγχάνεται με την εφαρμογή αυξημένης διαμεμβρανικής υδροστατικής πίεσης σε συνδυασμό με τη χρήση μεμβρανών υψηλής διαπερότητας. Η διαπερατότητα της μεμβράνης καθορίζει επίσης και το μέγεθος (M.B.) των ουσιών που απομακρύνονται με το υπερδιήθημα. Για την μεταβολική οξέωση χορηγείται συνήθως διττανθρακικό, που περιέχεται στο υγρό υποκατάστασης (371,379).

7.4. ΑΙΜΟΔΙΑΔΙΗΘΗΣΗ

Η αιμοδιαδιήθηση, όπως μαρτυράει και η ονομασία της, είναι μέθοδος εξωνεφρικής κάθαρσης η οποία συνδυάζει τα χαρακτηριστικά της αιμοκάθαρσης και της αιμοδιήθησης. Η ποσότητα υπερδιηθήματος στην αιμοκάθαρση είναι μικρότερη από αυτήν που παράγεται στην αμιγή αιμοδιήθηση. Η απομάκρυνση των ουραιμικών ουσιών βασίζεται ταυτόχρονα στη μεταφορά με το υπερδιήθημα και στη διάχυση προς το διάλυμα αιμοκάθαρσης (371,379).

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. 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>.
2. Lok AS. Chronic hepatitis B. N Engl J Med 2002; 346: 1682-3.
3. Margolis HS, et al. Prevention of hepatitis B virus transmission by immunization: an economic analysis of current recommendations. JAMA 1995; 264: 1201-8.
4. Mahoney FJ. Update on diagnosis, management and prevention of hepatitis B virus infection. Clin Microbiol Rev 1999; 12: 351-66.
5. Lee WM. Hepatitis B virus infection. N Engl J Med 1997; 337: 1733-45.
6. Gust ID. Epidemiology of hepatitis B infection in the Western Pacific and South East Asia. Gut 1996; 38: 18-23.
7. World Health Organization. Hepatitis B Vaccines. WHO Web Site. 2003.
<http://www.who.int/vaccines/en/hepatitisb.shtml>.
8. Kane MR. WHO Estimates of HBV Carriers Worldwide (Personal Communication, March 13, 1997).
9. 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.
10. 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.
11. 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.

12. 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.
13. Βενιζέλος Μ, και συν. Επιπολασμός HBsAg σε γενικό και νοσοκομειακό πληθυσμό της κεντρικής Ελλάδας: Πρόδρομα αποτελέσματα με τη χρήση ταχείας μεθόδου ανοσοαποτυπώματος. 7^ο Πανελλήνιο Ηπατολογικό Συνέδριο, 29 Μαρτίου-1 Απριλίου 2001, Αθήνα.
14. 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.
15. Tsiantoulas D, et al. Hepatitis B in 2001: Changes in Epidemiology in Public Health. Ημερίδα Ηπατίτιδας Β και C . Ιανουάριος 2001. 7-12.
16. Skliros EA, et al. High prevalence of HBV infection markers in refugees from eastern countries. *Ital J Gastroenterol Hepatol* 1999; 31: 84-5.
17. 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.
18. Roussos A, et al. Prevalence of hepatitis B and C markers among refugees in Athens. *World J Gastroenterol*. 2003; 9: 993-5.
19. Malamitsi-Puchner A, et al. Prevalence study of different hepatitis markers among pregnant Albanian refugees in Greece. *Eur J Epidemiol* 1996; 12: 297-301.
20. 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.

21. Stamouli M, et al. Decline of hepatitis B infection in Greece. *Eur J Epidemiol* 1999; 15: 447-9.
22. Stefos A, et al. Descriptive epidemiology of chronic hepatitis B by using data from a hepatitis registry in Central Greece. *Eur J Intern Med* 2009, 20: 35-43.
23. 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.
24. Harrison TJ. Genetic variation in hepatitis B virus. *E J Gastroenterol Hepatol* 1996; 8: 306-311.
25. 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.
26. Schiss ER, et al. Schiff's Diseases of the Liver. 8th Edition, 1999; 1: 757-792.
27. 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.
28. Nishioka Sde A, et al. Tattoos as risk factors for transfusion-transmitted diseases. *Int J Infect Dis* 2001; 5: 27-34.
29. Limentani AE, et al. An outbreak of hepatitis B from tattooing. *Lancet* 1979; 2: 86-88.
30. Kent GB, et al. A large outbreak of acupuncture – associated hepatitis B. *Am J Epidemiol* 1988; 127: 591-598.

31. 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.
32. Balogun MA, et al. Acute hepatitis B infection in England and Wales: 1985-1996. *Epidemiol Infect* 1999; 122: 125-31.
33. Hou J, et al. Epidemiology and prevention of hepatitis B Virus infection. *Int J Med Sci* 2005; 2: 50–57.
34. 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.
35. 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.
36. 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.
37. 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.
38. 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.

39. Beasley RP, et al. Evidence against breast-feeding as a mechanism for vertical transmission of hepatitis B. *Lancet* 1975; 2: 740-741.
40. Hill JB, et al. Risk of hepatitis B transmission in breast-fed infants of chronic hepatitis B carriers. *Obstet Gynecol* 2002; 99: 1049-1052.
41. Zervou EK, et al. Intrafamilial spread of hepatitis B virus infection in Greece. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2005; 17: 911-5.
42. Doganci T, et al. Horizontal transmission of hepatitis B virus in children with chronic hepatitis B. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 418-20.
43. 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.
44. 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.
45. 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.
46. Hutin YJ, et al. An outbreak of hospital acquired hepatitis B virus infection among patient receiving chronic haemodialysis. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1999; 20: 731-735.
47. Dienstag JL, et al. Occupational exposure to hepatitis B virus in hospital personnel: infection or immunization. *Am J Epidemiol* 1982; 115: 26-39.
48. Gerberding JL. The infected health care provider. *N Engl J Med* 1996; 334: 594-595.
49. Gitlin N. Hepatitis B: diagnosis, prevention and treatment. *Clinical Chemistry* 1997; 43: 1500-1506.

50. Bond WW, et al. Survival of hepatitis B virus after drying and storage for 1 week. *Lancet* 1981; 1: 550-1.
51. Quale JM, et al. Déjà vu: nosocomial hepatitis B virus transmission and finger stick monitoring. *Am J Med* 1998; 105: 296-301.
52. Centers for Disease Control and Prevention. Outbreaks of hepatitis B virus infection among haemodialysis patients – California, Nebraska and Texas. 1994 *MMWR* 1996; 45: 285-289.
53. 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.
54. Centers for Disease Control and Prevention, Recommendations for preventing transmission of infections among chronic haemodialysis patients. *MMWR* 2001; 50: 1-43.
55. 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
56. Wei Y, et al. Molecular biology of hepatitis B virus. *Clin Liver Dis* 1999; 3: 189-219.
57. Nassal M, et al. Hepatitis B virus replication- an update. *J Viral Hepat* 1996; 3: 217-26.
58. Ganem D. Hepadnaviridae and their replication: In: Fields BN, Knipe DM, Howley PM (eds), "Virology". Philadelphia, Lippincott-Raven: 2703-37.

59. Gerlich W, et al. Functions of hepatitis B virus protein proteins and molecular targets for protective immunity. Marcel Dekker, Inc, New York 1993.
60. 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.
61. 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. Proc Natl Acad Sci 1986; 83: 1578-82.
62. 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.
63. 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.
64. 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.
65. Thomas HC, et al. Virus-host interaction in chronic hepatitis B virus infection. Semin Liver Dis 1988; 8: 342-349.
66. 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.
67. 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.

68. 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.
69. Rossner MT. Review: hepatitis B virus X-gene product: a promiscuous transcriptional activator. *J Med Virol* 1992; 36: 101-17.
70. Kaplan PM, et al. DNA polymerase associated with human hepatitis B antigen. *J Virol* 1973; 12: 995-1005.
71. 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.
72. Radziwill G, et al. Mutational analysis of the hepatitis B virus P gene product: domain structure and R-Nase H activity. *J Virol* 1990; 64: 613-620.
73. Guther S, et al. Naturally occurring hepatitis B virus genomes bearing hallmarks of retroviral GA hypermutation. *Virology* 1997; 235: 104-8.
74. Hunt CM, et al. Clinical relevance of hepatitis B virus mutation. *Hepatology* 2000; 31: 1037-44.
75. 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.
76. Hadziyannis SJ. Hepatitis B e antigen negative chronic hepatitis B: from clinical recognition to pathogenesis and treatment. *Vir Hep Rev* 1995; 1: 7-36.
77. 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.

78. 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.
79. 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.
80. Liang TJ, et al. A hepatitis B virus mutant associated with an epidemic of fulminant hepatitis. *N Engl J Med* 1991; 324: 1705-1709.
81. 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.
82. 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.
83. 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.
84. Kekule AS, et al. Hepatitis B virus transactivator HBx uses a tumor promoter signaling pathway. *Nature* 1993; 361: 742-45.
85. 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.

86. 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.
87. Feitelson MA, et al. X region deletion mutants associated with surface antigen positive hepatitis B virus infections. *Gastroenterology* 1995; 108: 1810-1819.
88. Ushida T, et al. Mutations of the X region of hepatitis B virus and their clinical implications. *Pathol Int* 1997; 47: 183-193.
89. 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.
90. Gerkin G, et al. Hepatitis B defective virus with rearrangement in the preS gene during chronic HBV infection. *Virology* 1991; 183: 555-565.
91. 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.
92. Trautwein C, et al. Hepatitis B virus mutation in the pre-S genome before and after liver transplantation. *Hepatology* 1996; 24: 482-8.
93. Carman WF, et al. Hepatitis B virus envelope variation after transplantation with and without hepatitis B immune globulin prophylaxis. *Hepatology* 1996; 24: 489-493.
94. Carman WF, et al. Vaccine-induced escape mutant of hepatitis B virus. *Lancet* 1990; i: 325-329.

95. 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.
96. Tripples GA, et al. Mutation in HBV RNA-dependent DNA polymerase confers resistance to lamivudine in vivo. *Hepatology* 1996; 24: 714-717.
97. 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.
98. 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.
99. Dimou E, et al. Efficacy of long term lamivudine therapy in HBeAg negative chronic hepatitis B. *J Hepatol* 2000; 32: 98.
100. 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.
101. Stuyver L, et al. A new genotype of hepatitis B virus: complete genome and phylogenetic relatedness. *J Gen Virol* 2000; 81: 67-74.
102. 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.
103. 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.

104. Sakai T, et al. Hepatitis B genotypes in patients with hepatitis B infection. *J Hepatol* 2001; 35: 829-30.
105. Mayerat C, et al. Does hepatitis B virus (HBV) genotype influence the clinical outcome of HBV infection? *J Viral Hepat* 1999; 6: 299-304.
106. 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.
107. 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.
108. 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.
109. Kao JH, et al. Hepatitis B genotypes correlate with clinical outcomes in patients with chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 2000; 118: 554-9.
110. Fujie H, et al. Hepatitis B virus genotypes and hepatocellular carcinoma in Japan. *Gastroenterology* 2001; 120: 1564-5.
111. Zollner B, et al. 20-fold increase in risk of lamivudine resistance in hepatitis B virus subtype adw. *Lancet* 2001; 357: 934-5.
112. Kao JH, et al. Hepatitis B viral genotypes and lamivudine resistance. *J Hepatol* 2002; 36:303-4.
113. Hoofnagle et al. Serologic diagnosis of acute and chronic viral hepatitis. *Serum Liver Dis* 1991; 11: 73-83.

114. Hadziyannis SJ, et al. Liver Diseases: Diagnosis and management. New York: Churchill Livingstone; 2000; Viral Hepatitis: Clinical features. 79-107.
115. Seeger C, et al. Hepatitis B virus biology. Microbiol Mol Biol Rev 2000; 64: 51-68.
116. 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.
117. Hadziyannis SJ, et al. Clinical significance of quantitative anti-HBc IgM assay in acute and chronic HBV infection. Hepatogastroenterology 1993; 40: 588-92.
118. Maruyama T, et al. Distinguishing between acute and symptomatic chronic hepatitis B virus infection. Gastroenterology 1994; 106: 1006-15.
119. 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.
120. Pawlotsky JM. Hepatitis B virus (HBV) DNA assays (methods and practical use) and viral kinetics. J Hepatol 2003; 39: 31-35.
121. 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.
122. Michalak TI, et al. Hepatitis B virus persistence after recovery from acute viral hepatitis. J Clin Invest 1994; 93: 230-239.

123. 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.
124. Butterworth L, et al. Comparison of four methods for quantitative measurement of hepatitis B viral DNA. *J Hepatol* 1996; 24: 686-691.
125. Krajden M, et al. Multi-measurement method comparison of three commercial hepatitis B virus DNA quantification assays. *J Viral Hepat* 1998; 5: 415-422.
126. 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.
127. 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.
128. 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.
129. 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.
130. 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.

131. 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.
132. 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.
133. 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
134. Τασσόπουλος Ν, και συν. Κύρια χαρακτηριστικά και μορφές κεραυνοβόλου ηπατίτιδας στην Ελλάδα. *Ιατρική* 1983; 44: 233-9.
135. 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.
136. Dalekos DN, et al. Interferon-alpha treatment of children with chronic hepatitis D virus infection: the Greek experience. *Hepatogastroenterology* 2000; 47: 1072-6.
137. Farci P, et al. Long-term benefit of interferon alpha therapy of chronic hepatitis D: regression of advanced hepatic fibrosis. *Gastroenterology* 2004, 126: 1740-9.
138. 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.
139. 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.
140. 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.
141. Dienstag JL. Passive-active immunoprophylaxis after percutaneous exposure to hepatitis B virus (Editorial). *Hepatology* 1989; 10: 385-387.
142. Kane M. Global program for control of hepatitis B infection. *Vaccine* 1995; 13: 47-49.
143. 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.
144. 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.
145. Bloom BS, et al. A reappraisal of hepatitis B virus vaccination strategies using cost-effectiveness analysis. *Ann Intern Med* 1993; 118: 298-306.
146. 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.

147. 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.
148. European Consensus Group on Hepatitis B Immunity. Are booster immunisations needed for lifelong hepatitis B immunity? *Lancet* 2000; 355: 561-565.
149. Chan HLY, et al. Hepatitis B in adults. A clinical perspective. *Clin Liver Dis* 1999; 3: 291-307.
150. Feitelson M, et al. Pathogenesis of post-transfusion viral hepatitis in children with beta-thalassemia. *Hepatology* 1994; 19: 558-68.
151. 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.
152. Yuki N, et al. Long-term histologic and virologic outcomes of acute self-limited hepatitis B. *Hepatology* 2003; 37: 1172-9.
153. 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.
154. 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.
155. Tanaka Y, et al. Persistence of hepatitis B virus DNA after serological clearance of hepatitis B virus. *Liver* 1990; 10: 6-10.

156. EASL International consensus conference on hepatitis B, 13-14 September 2002, Geneva, Switzerland, Consensus statement. *J Hepatol* 2003; 38: 533-40.
157. 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.
158. Thiers V, et al. Transmission of hepatitis B from hepatitis B-seronegative subjects. *Lancet* 1988; 2: 1273-6.
159. Kato J, et al.. A molecular analysis of viral persistence in surface antigen-negative chronic hepatitis B. *Hepatology* 1996; 23: 389-95.
160. 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.
161. 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.
162. Cacciola I, et al. Quantification of intrahepatic hepatitis B virus (HBV) DNA in patients with chronic HBV infection. *Hepatology* 2000; 31: 507-12.
163. Marusawa H, et al. Latent hepatitis B virus infection in healthy individual with antibodies to hepatitis B core antigen. *Hepatology* 2000; 31: 488-95.
164. Weinberger KM, et al. High genetic variability of the group-specific α -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 Gen Virol* 2000; 81: 1165-74.

165. 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.
166. 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.
167. 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.
168. Chemin I, et al. High incidence of hepatitis B infections among chronic hepatitis cases of unknown aetiology. *J Hepatol* 2001; 34: 447-54.
169. 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.
170. Berasain C, et al. Pathological and virological findings in patients with persistent hypertransaminasaemia of unknown aetiology. *Gut* 2000; 47: 429-435.
171. Carman WF. The clinical significance of surface antigen variants of hepatitis B virus. *J Viral Hepat* 1997; 4: 11-20.
172. 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.

173. 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.
174. Gerken G, et al. Hepatitis B defective virus with rearrangements in the preS gene during chronic HBV infection. *Virology* 1991; 183: 555-65.
175. Melegari M, et al. Properties of hepatitis B virus pre-S1 deletion mutants. *Virology* 1994; 199: 292-300.
176. Hu KQ. Occult hepatitis B virus infection and its clinical implications. *J Viral Hepat* 2002; 9: 243-57.
177. 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.
178. 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.
179. 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.
180. 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.
181. 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.

182. 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.
183. 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.
184. 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.
185. 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.
186. 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.
187. 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.
188. 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.
189. Davidson F, et al. Leukocyte hepatitis B virus DNA in acute and chronic hepatitis B virus infection. *J Med Virol* 1987; 22: 379-85.

190. 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.
191. 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.
192. 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.
193. 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.
194. 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.
195. Machalak TI, et al. Hepatitis B virus persistence after recovery from acute viral hepatitis. *J Clin Invest* 1994; 93: 230-9.
196. 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.
197. Yotsuyanagi H, et al. Persistent viremia after recovery from self-limited acute hepatitis B. *Hepatology* 1998; 27: 1377-82.

198. 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.
199. Chang KM, et al. Immunopathogenesis of hepatitis B virus infection. *Clin Liver Dis* 1999; 3: 221-39.
200. Pontisso P, et al. Clinical and virological profiles in patients with multiple hepatitis virus infections. *Gastroenterology* 1993; 105: 1529-33.
201. 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.
202. 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.
203. 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.
204. 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.
205. 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.
206. Sagnelli E, et al. Virologic and clinical expression of reciprocal inhibitory effect of hepatitis B, C and delta viruses in patents with chronic hepatitis. *Hepatology* 2000; 32: 1106-10.

207. Liaw YF. Role of hepatitis C virus in dual and triple hepatitis virus infection. *Hepatology* 1995; 22: 1101-8.
208. 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.
209. Shih CM, et al. Modulation of the trans-suppression activity of hepatitis C virus core protein by phosphorylation. *J Virol* 1995; 69: 1160-71.
210. 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; 27: 591-607.
211. 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.
212. 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.
213. Jilg W, et al. Prevalence of markers of hepatitis B in the adult German population. *J Med Virol* 2001; 63: 96-102.
214. 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.
215. 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.

216. Allain JP, et al. The risk of hepatitis B virus infection by transfusion in Kumasi, Ghana. *Blood* 2003; 101: 2419-25.
217. 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.
218. 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.
219. 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.
220. 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.
221. 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.
222. 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.
223. 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.
224. 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.

225. 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.
226. Iizuka H, et al. Correlation between anti-HBc titers and HBV-DNA in blood units without detectable HBsAg. *Vox Sang* 1992; 63: 107-11.
227. 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.
228. Lander JJ, et al. Anticore antibody screening of transfused blood. *Vox Sang* 1978; 34: 77-80.
229. 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.
230. 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.
231. 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.
232. Grob P, et al. Serological pattern "anti-HBc alone": report on a workshop. *J Med Virol* 2000; 62: 450-5.
233. 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.
234. Schiffman RB, et al. Significance of isolated hepatitis B core antibody in blood donors. *Arch Intern Med* 1993; 153: 2261-6.

235. 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.
236. Saraswat S, et al. Post-transfusion hepatitis type B following multiple transfusions of HBsAg-negative blood. *J Hepatol* 1996; 25: 639-43.
237. Allain JP. Occult hepatitis B virus infection: implications in transfusion. *Vox Sang* 2004; 86: 83-91.
238. Allain JP. Occult hepatitis B virus infection. *Transfus Clin Biol* 2004; 11: 18-25.
239. 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.
240. Crespo J, et al. Severe clinical course of de novo hepatitis B infection after liver transplantation. *Liver Transpl Surg* 1999; 5: 275-83.
241. 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.
242. Chazouilleres O, et al. Occult hepatitis B virus as a cause of infection in liver transplant recipients. *Lancet* 1994; 343: 142-146.
243. Roche B, et al. De novo and apparent de novo hepatitis B virus infection after liver transplantation. *J Hepatol* 1997; 26: 517-26.
244. 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.
245. Villamil I, et al. Truly de novo hepatitis B after liver transplantation. *Am J Gastroenterol* 2004; 767-8.
 246. Milich DR. T- and B-cell recognition of hepatitis B viral antigens. *Immunol Today* 1988; 9: 380.
 247. Wachs ME, et al. The risk of transmission of hepatitis B from HBsAg (-), HBcAg (+), HBIgM (-) organ donors. *Transplantation* 1995; 59: 230-4.
 248. 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.
 249. 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.
 250. Ghisetti V, et al. Occult hepatitis B virus infection in HBsAg negative patients undergoing liver transplantation: Clinical significance. *Liver Transpl* 2004; 10: 356-62.
 251. Rizzetto M. Transmission of hepatitis B infection from hepatitis B core antibody-positive livers: background and prevention. *Liver Transpl* 2001; 7: 518-20.
 252. Todo S, et al. Orthotopic liver transplantation for patients with hepatitis B virus-related liver disease. *Hepatology* 1991; 13: 619-26.
 253. 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.

254. Samuel D, et al. Liver transplantation in European patients with hepatitis B surface antigen. *New Engl J Med* 1993; 329: 1842-7.
255. 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.
256. Munoz SJ. Use of hepatitis B core antibody-positive donors for liver transplantation. *Liver Transpl* 2002; 8: 82-7.
257. 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.
258. 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.
259. Duhart JR, et al. Retrospective evaluation of the risk of hepatitis B virus reactivation after transplantation. *Transpl Infect Dis* 2003; 5: 126-31.
260. Grotz W, et al. Occurrence and management of hepatitis B virus reactivation following kidney transplantation. *Clin Nephrol* 1998; 49: 385-8.
261. Kidd-Ljunggren K, et al. Reappearance of hepatitis B 10 years after kidney transplantation. *N Engl J Med* 1999; 341: 127-8.
262. Larghi A, et al. Hepatitis B virus reactivation after kidney transplantation and new onset lymphoma. *J Clin Gastroenterol* 2003; 36: 276-80.
263. Mascellin P, et al. Redevelopment of hepatitis B surface antigen after renal transplantation. *Gastroenterology* 1991; 100: 1432-4.

264. Strasser SI, et al. Hepatitis viruses and hematopoietic cell transplantation. A guide to patient and donor management. *Blood* 1999; 93: 1127-36.
265. 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.
266. Schiodt FV, et al. Viral hepatitis-related acute liver failure. *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 448-453.
267. 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.
268. Wright TL, et al. Hepatitis B virus and apparent fulminant non-A, non-B hepatitis. *Lancet* 1992; 339: 952-5.
269. 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.
270. 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.
271. Sallie R, et al. Occult HBV in NANB fulminant hepatitis. *Lancet* 1993; 341:123.
272. 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.

273. 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.
274. Teo EK, et al. Hepatitis B infection in patients with acute liver failure in the United States. *Hepatology* 2001; 33: 972-6.
275. 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.
276. 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.
277. 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.
278. 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.
279. 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.
280. 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.

281. 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.
282. Adachi H, et al. Clearance of HBsAg in seven patients with chronic hepatitis B. *Hepatology* 1992; 16: 1334-1337.
283. 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.
284. Chaundhuri V, et al. Hepatitis B virus in seronegative samples. *Antiviral Ther* 2000; 5 (Suppl. 1): B21.
285. 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.
286. Lau JY, et al. Treatment of HBV reactivation after withdrawal of immunosuppression. *Lancet* 1991; 337: 802.
287. Hoofnagle JH, et al. Reactivation of chronic hepatitis B virus infection by cancer chemotherapy. *Ann Intern Med* 1982; 96: 447-9.
288. 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.
289. Alexopoulos CG, et al. Prevalence of hepatitis B virus marker positivity and evolution of hepatitis B virus profile, during chemotherapy, in patients with solid tumors. *Br J Cancer* 1999; 81: 69-74.
290. 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.

291. Georgiadou SP, et al. Occult hepatitis B virus in patients with autoimmune liver diseases. *Liver Int* 2009, 29: 434-42.
292. 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.
293. Rutsgi V, et al. Hepatitis B infection in the acquired immunodeficiency syndrome. *Ann Intern Med* 1984; 101: 795-7.
294. 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.
295. 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.
296. 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.
297. 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.
298. 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.

299. 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.
300. Sheu JC, et al. Hepatitis C and B viruses in hepatitis B surface antigen-negative hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 1992; 103: 1322-7.
301. 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.
302. 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.
303. 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.
304. 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.
305. 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.
306. 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.

307. 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.
308. 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.
309. Henkler F, et al. Hepatitis B virus transcriptional activators: mechanisms and possible role in oncogenesis. *J Viral Hepat* 1996; 3: 109-21.
310. 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.
311. Kim CM, et al. HBx gene of hepatitis B virus induces liver cancer in transgenic mice. *Nature* 1991; 351: 317-320.
312. 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.
313. Wang XW, et al. Molecular pathogenesis of human hepatocellular carcinoma. *Toxicology* 2002; 181-182: 43-47.
314. 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.
315. 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.

316. Zarski JP, et al. Characteristics of patients with dual infection by hepatitis B and C viruses. *J Hepatol* 1998; 28: 27-33.
317. Pontisso P, et al. Coinfection by hepatitis B virus and hepatitis C virus. *Antivir Ther* 1998; (Suppl 3): 137-42.
318. 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.
319. 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.
320. Chiaramonte M, et al. Rate of incidence of hepatocellular carcinoma in patients with compensated viral cirrhosis. *Cancer* 1999; 85: 2132-7.
321. 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.
322. 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.
323. 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.
324. Hui CK, et al. Fibrosis progression in chronic hepatitis C patients with occult hepatitis B co-infection. *J Clin Virol* 2006; 35: 185-92.

325. 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. *Intervirol* 2000; 43: 95-101.
326. 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.
327. 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.
328. 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.
329. 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.
330. 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.
331. 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.
332. 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.

333. 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.
334. Hasegawa I, et al. Impact of occult hepatitis B virus infection on efficacy and prognosis of interferon- α therapy for patients with chronic hepatitis C. *Liver Int* 2005; 25: 247–253.
335. 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.
336. 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.
337. 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.
338. Georgiadou SP, et al. Occult hepatitis B virus infection in Greek patients with chronic hepatitis C and in patients with diverse nonviral hepatic diseases. *J Viral Hepat.* 2004, 11: 358-65.
339. Torbenson M, et al. High prevalence of occult hepatitis B in Baltimore injection drug users. *Hepatology* 2004; 39: 51-7.
340. Besisik F, et al. Occult HBV infection and YMDD variants in haemodialysis patients with chronic HCV infection. *J Hepatol.* 2003; 38: 506-10.
341. Torbenson M, et al. Occult hepatitis B. *Lancet Infect Dis* 2002; 2: 479-86.

342. 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.
343. 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.
344. 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.
345. 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.
346. 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.
347. Wong PN, et al. Hepatitis B virus infection in dialysis patients. *J Gastroenterol Hepatol* 2005; 20: 1641-51.
348. Fabrizi F, et al. Hepatitis B virus infection in haemodialysis: Recent discoveries. *J Nephrol* 2002; 15: 463-8.
349. Lopez Alcorocho JM, et al. Prevalence of hepatitis B, hepatitis C, GB virus C/hepatitis G and TT viruses in haemodialysis patients. *J Med Virol* 2001; 63: 103-7.
350. Reddy GA, et al. Prevalence of HBV and HCV dual infection in patients on haemodialysis. *Indian J Med Microbiol* 2005; 23: 41-3.

351. Almawi WY, et al. Seroprevalence of hepatitis C virus and hepatitis B virus among dialysis patients in Bahrain and Saudi Arabia. *Transplant Procs* 2004; 36: 1824-6.
352. Chandra M, et al. Prevalence of hepatitis B and hepatitis C virus infections in Indian patients with chronic renal failure. *Intervirology* 2004; 47: 374-6.
353. Vladutiu DS, et al. Infections with hepatitis B and C viruses in patients on maintenance dialysis in Romania and in former communist countries: yellow spots on a blank map? *J Viral Hepat* 2000; 7: 313-9.
354. Moutinho RS, et al. Low HBV-DNA levels in end-stage renal disease patients with HBeAg-negative chronic hepatitis B. *J Med Virol* 2006; 78: 1284-8.
355. Minuk G, et al. Occult hepatitis B virus infection in a North American haemodialysis patient population. *Hepatology* 2004; 40: 1072-7.
356. Yakaryilmaz F, et al. Prevalence of occult hepatitis B and hepatitis C virus infections in Turkish haemodialysis patients. *Ren Fail* 2006; 28: 729-35.
357. Fabrizi F, et al. Occult hepatitis B virus infection in dialysis patients: a multicenter survey. *Aliment Pharmacol Ther* 2005; 21: 1341-7.
358. Goral V, et al. Prevalence of occult HBV infection in haemodialysis patients with chronic HCV. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 3420-4.
359. Basisik F, et al. Occult HBV infection and YMDD variants in haemodialysis patients with chronic HCV infection. *J Hepatol* 2003; 38: 506-10.

360. Siagris D, et al. Occult hepatitis B virus infection in haemodialysis patients with chronic HCV infection. *J Nephrol* 2006; 19: 327-33.
361. Kanbay M, et al. Is hepatitis C virus positivity a contributing factor to occult hepatitis B virus infection in haemodialysis patients? *Dig Dis Sci* 2006; 51: 1962-6.
362. Jacobson HR, Chronic renal failure: pathophysiology. *Lancet* 1991; 338: 419-423.
363. Coresh J, et al. Prevalence of chronic kidney disease in the United States. *JAMA* 2007; 298: 2038-2047.
364. Causes of death. USRDS. United States Renal Data System *Am J Kidney Dis* 1997; 30: 107-117.
365. Incidence and prevalence of ESRD. USRDS. United States Renal Data System *Am J Kidney Dis* 1997; 30: 40-53.
366. Hakim RM, Lazarus JM, Initiation of dialysis. *J Am Soc Nephrol* 1995; 6: 1319-1328.
367. Conolly JO, Woolfson RG. A critique of clinical guidelines for detection of individuals with chronic kidney disease. *Nephron Clin Pract* 2009; 111: 69-73.
368. John R, et al. Unreferred chronic kidney disease: a longitudinal study. *Am J Kidney Dis* 2004; 43: 825-835.
369. Radbill B, et al. Rationale and strategies for early detection and management of diabetic kidney disease. *Mayo Clinic Proc* 2008; 83: 1373-1381.
370. Bellomo R, et al. Acute renal failure – definition, outcome measures, animal models, fluid therapy and information technology needs: the

Second International Consensus Conference of the Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI) group. Crit Care 2004; 8: 204-212.

371. Klahr S. Chronic renal failure: management. The Lancet 1991; 338: 423-427.
372. Vanholder R, et al. Uremic toxins: do we know enough to explain uremia? Blood Purif 2008; 26: 77-81.
373. Warnock DG, Uremic acidosis [clinical conference]. Kidney Int 1988; 34: 278-287.
374. Lefevre A, et al. Optimal correction of acidosis changes progression of dialysis osteodystrophy. Kidney Int 1989; 36: 1112-1118.
375. Gansevoort RT, et al. Antiproteinuric effect of blood-pressure-lowering agents: a meta-analysis of comparative trials. Nephrol Dial Transplant 1995; 10:1963-1974.
376. Lewis EJ, et al. The effect of angiotensin-converting-enzyme inhibition on diabetic nephropathy. The Collaborative Study Group N E J M 1993; 329: 1456-1462.
377. Locatelli F, et al. The management of chronic renal insufficiency in the conservative phase. Nephrol Dial Transplant 2000; 15: 1529-1534.
378. Zeller K, et al. Effect of restricting dietary protein on the progression of renal failure in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. N E J M 1991; 324: 78-84.
379. Leung A, Yan WW. Renal replacement therapy in critically ill patients. Hong Kong Med J 2009; 15: 122-9.
380. Oreopoulos D, et al. Peritoneal Dialysis (past, present, and future). Ir J Kidney Dis 2008; 2: 171-182.

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

**ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΙΑΙΜΙΑΣ ΑΠΟ ΤΟΝ ΙΟ
ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ Β (HBV) ΜΕ ΤΗΝ ΧΡΗΣΗ
ΠΡΑΓΜΑΤΙΚΟΥ ΧΡΟΝΟΥ PCR ΣΕ
ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΠΟΥ ΒΡΙΣΚΟΝΤΑΙ ΣΕ
ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΥΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ ΓΙΑ ΧΡΟΝΙΑ
ΝΕΦΡΙΚΗ ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑ**

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο HBV δεν είναι κυτταροπαθογόνος και ανήκει στους hepadna ιούς, φέρει ένα εξωτερικό περίβλημα το οποίο αποτελείται από το επιφανειακό αντιγόνο του HBV (HBsAg) και ένα εσωτερικό πυρηνοκαψίδιο, που εκφράζει το πυρηνικό αντιγόνο του HBV (HBcAg) και το αντιγόνο e (HBeAg), και περιέχει το μερικά διπλής έλικας DNA του ιού και την DNA πολυμεράση.

Παγκοσμίως συμβαίνουν 2.000.000 θάνατοι/έτος που οφείλονται περισσότερο στις μακροχρόνιες επιπλοκές της χρόνιας ηπατίτιδας Β (κίρρωση, πυλαία υπέρταση, ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα) παρά στις πρώιμες επιπλοκές της οξείας ηπατίτιδας Β. Ο HBV αποτελεί την δεύτερη μετά το κάπνισμα αιτία καρκινογένεσης (80% των ηπατοκυτταρικών καρκινωμάτων σχετίζονται με τον HBV). Η χώρα μας παρουσιάζει ενδιάμεση ενδημικότητα λοίμωξης από τον HBV: συχνότητα HBsAg 2-7% και συχνότητα δεικτών προηγούμενης λοίμωξης (anti-HBs και anti-HBc 20-50%).

Η χρόνια νεφρική ανεπάρκεια είναι η επακόλουθη παθολογική κατάσταση μιας προοδευτικής και μη αναστρέψιμης καταστροφής νεφρώνων που έχει σαν αποτέλεσμα τη μείωση όλων των απεκκριτικών (σπειραματικών, σωληναριακών) και των ενδοκρινικών λειτουργιών των νεφρών, η οποία αναπτύσσεται βαθμιαία σε χρονικό διάστημα μηνών ή ετών. Ασθενείς τελικού σταδίου που βρίσκονται σε θεραπεία υποκατάστασης με αιμοδιάλυση αποτελούν ομάδα υψηλού κινδύνου για έκθεση σε ιούς μεταδιδόμενους μέσω του αίματος. Πράγματι, λοιμώξεις από τον HBV και τον HCV είναι αρκετά συχνές σε ασθενείς με τελικού σταδίου χρόνια νεφρική ανεπάρκεια (1-4). Η αποδοχή των αυστηρών μέτρων στις μονάδες τεχνητού νεφρού κατά των λοιμώξεων από τους ιούς των ιογενών ηπατιτίδων σε συνδυασμό με τη

μειωμένη ανάγκη μεταγγίσεων μετά την έναρξη χρήσης της ερυθροποιητίνης και την ανάπτυξη ενός αποτελεσματικού εμβολίου κατά του HBV οδήγησαν στην σημαντική μείωση των λοιμώξεων από τον HBV και HCV στους νεφροπαθείς τελικού σταδίου (2,4). Εντούτοις, σχετικά μικρός βαθμός αποτελεσματικότητας του εμβολίου κατά του HBV στην ομάδα αυτή των ασθενών μπορεί να ευθύνεται για την διαιώνιση του προβλήματος σε αυτούς τους ασθενείς (5,6). Από την άλλη μεριά 3 μελέτες από διαφορετικές περιοχές της χώρας μας έδειξαν την παρουσία αυξημένου επιπολασμού αντισωμάτων κατά του ιού της ηπατίτιδας Ε (αντί-HEV) (7-10). Οι μελέτες αυτές υποδεικνύουν ότι η κόπρανο-στοματική οδός μπορεί να μην αποτελεί τη μοναδική οδό μετάδοσης του HEV στους νεφροπαθείς. Παρόμοια ευρήματα δημοσιεύθηκαν επίσης σε ομάδες ασθενών που είχαν υποβληθεί σε εγχειρήσεις ανοικτής καρδιάς (11).

Στους ασθενείς με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια σε θεραπεία υποκατάστασης η διάγνωση της ηπατικής νόσου βασισμένη μόνο στις βιοχημικές δοκιμασίες είναι δύσκολη, καθώς τα επίπεδα των τρανσαμινασών είναι μειωμένα σε αυτούς τους ασθενείς (12). Γι'αυτό ο προσδιορισμός του HBV-DNA έχειδειχθεί ότι αποτελεί την πιο ικανοποιητική μέθοδο για εκτίμηση της ιολογικής δραστηριότητας σε HBV ασθενείς που βρίσκονται σε θεραπεία υποκατάστασης για χρόνια νεφρική ανεπάρκεια (2). Επιπλέον, διάφορες μελέτες χρησιμοποιώντας ευαίσθητες τεχνικές 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 (13). 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 (14).

Τα δεδομένα αυτά οδήγησαν στην αποκάλυψη μιας νέας νοσολογικής οντότητας που ονομάζεται «λανθάνουσα ή σιωπηλή» 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. Η εφαρμογή της RLT-PCR βοήθησε στην απόκτηση πολύτιμων πληροφοριών για την λανθάνουσα ηπατίτιδα Β. 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».

Λανθάνουσα λοίμωξη από τον HBV έχει αναφερθεί σε ασθενείς με χρόνια λοίμωξη από τον HCV (15-21), ηπατοκυτταρικό καρκίνο (22) και κρυψιγενή ή αυτοάνοσα ηπατικά νοσήματα (23-26). Αντίστοιχη πληροφορία λανθάνουσας HBV λοίμωξης σε νεφροπαθείς είναι περιορισμένη (27-33), καθώς στις περισσότερες από αυτές τις μελέτες έχει συσχετιστεί με συνυπάρχουσα HCV λοίμωξη (30-33). Γι'αυτούς τους λόγους, διενεργήσαμε για πρώτη φορά μια μεγάλη μελέτη στη Θεσσαλία – μια περιοχή με ενδιάμεσο επιπολασμό της HBV λοίμωξης (34) – ελέγχοντας όλους τους ασθενείς με τελικού σταδίου χρόνια νεφρική ανεπάρκεια που βρίσκονταν σε θεραπεία υποκατάστασης τη δεδομένη στιγμή με σκοπό: α) να προσδιορίσουμε την παρουσία HBV-DNA σε όλους τους 366 διαδοχικούς ασθενείς της μελέτης με ή χωρίς χρόνια HBV λοίμωξη και β) να εκτιμήσουμε τον επιπολασμό της

λανθάνουσας ιαιμίας από τον HBV σε αυτή την ομάδα των Ελλήνων ασθενών. Επιπλέον, η πιθανή κλινική επίπτωση της HBV-DNA οροθετικότητας (είτε στο πλαίσιο χρόνιας HBV λοίμωξης, είτε στο πλαίσιο λανθάνουσας λοίμωξης) εκτιμήθηκε σε σχέση με διάφορους επιδημιολογικούς, κλινικούς, εργαστηριακούς και ορολογικούς HBV, HCV και HEV δείκτες μεταξύ HBV-DNA θετικών και HBV-DNA αρνητικών ασθενείς.

2. ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1. ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΠΟΥ ΒΡΙΣΚΟΝΤΑΙ ΣΕ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΥΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ ΓΙΑ ΧΡΟΝΙΑ ΝΕΦΡΙΚΗ ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑ

Η Θεσσαλία είναι μια από της δεκατρείς περιφέρειες της Ελλάδας και καταλαμβάνει ο μεγαλύτερο μέρος της Κεντρικής Ελλάδας. Οι νομαρχίες της Λάρισας (πρωτεύουσα Λάρισα), της Μαγνησίας (πρωτεύουσα Βόλος), των Τρικάλων (πρωτεύουσα Τρίκαλα) και της Καρδίτσας (πρωτεύουσα Καρδίτσα) αποτελούν την περιφέρεια Θεσσαλίας (34,35). Ο πληθυσμός είναι περίπου 800.000 άνθρωποι που αντιστοιχεί στο 7.5% του εθνικού πληθυσμού και το 0.22% του πληθυσμού της Ευρωπαϊκής Ένωσης. Τριακόσιοι εξήντα έξι διαδοχικοί ασθενείς (243 άνδρες και 123 γυναίκες, με μέση ηλικία 60.5 έτη, εύρος 17-85 έτη) με καλά τεκμηριωμένη χρόνια νεφρική ανεπάρκεια τελικού σταδίου που βρίσκονται σε θεραπεία υποκατάστασης, εξετάστηκαν με την χρήση πραγματικού χρόνου PCR, για την παρουσία στον ορό τους HBV-DNA. Οι ασθενείς αυτοί αποτελούσαν το συνολικό αριθμό των ασθενών σε χρόνια αιμοκάθαρση στην περιφέρεια Θεσσαλίας τη δεδομένη χρονική στιγμή. Τα δείγματα συγκεντρώθηκαν από 366 ασθενείς υπό αιμοκάθαρση από πέντε διαφορετικά κέντρα, 60 ασθενείς από την Λάρισα, 119 από τον Βόλο, 56 από

τα Τρίκαλα, 61 από την Καρδίτσα και 70 από ιδιωτική κλινική στη Λάρισα. Η μέση διάρκεια της θεραπείας υποκατάστασης ήταν 49.2 ± 48.2 μήνες (μέση τιμή \pm σταθερή απόκλιση, mean \pm SD). Το είδος της θεραπείας υποκατάστασης είναι 352 ασθενείς με αιμοκάθαρση (αιμοδιάλυση) και 14 με περιτοναϊκή κάθαρση (Πίνακας 1). Οι ασθενείς παρακολουθούνταν από τις πέντε Μονάδες Τεχνητού Νεφρού στην Θεσσαλία, στην Κεντρική Ελλάδα. Η αιτιολογία της νεφρικής ανεπάρκειας ήταν η εξής: διαβητική νεφροπάθεια (16.7%), ιδιοπαθής σπειραματονεφρίτιδα (14.5%), νεφροσκλήρυνση (9.3%), αποφρακτική ουροπάθεια (9.3%), πολυκυστικοί νεφροί (7.7%), συστηματικές παθήσεις (3.3%), διάμεση νεφροπάθεια (1.6%), άλλα αίτια (3.3%) και άγνωστη (34.3%).

Πίνακας 1. Χαρακτηριστικά των 366 ασθενών της μελέτης

	ESRF ασθενείς (n=366)
Φύλο (Α/Γ)	243 / 123
Ηλικία (μέση/εύρος, έτη)	60.5 / 17-85
Διάρκεια θεραπείας υποκατάστασης (μέση/εύρος, μήνες)	49.2 \pm 48.2
Είδος θεραπείας υποκατάστασης (αιμοκάθαρση/περιτοναϊκή κάθαρση)	352 / 14
Ιστορικό ηπατίτιδας (ναι/όχι)	51 / 315
Διάρκεια θεραπείας με ερυθροποιητίνη (μέση/εύρος, μήνες)	46.2 \pm 35.8

A=άντρας, Γ=γυναίκα. Τα δεδομένα δόθηκαν ως μέση τιμή \pm σταθερή απόκλιση (as mean \pm standard deviation) (SD). Η διάρκεια θεραπείας υποκατάστασης υπολογίστηκε από την ημέρα που ξεκίνησε η θεραπεία έως την ημέρα που έγινε η συλλογή του δείγματος.

Στη στατιστική ανάλυση συμπεριλήφθησαν ορισμένοι επιδημιολογικοί και δημογραφικοί παράγοντες όπως: η ηλικία, το φύλο, το είδος και η διάρκεια της θεραπείας υποκατάστασης, η αιτιολογία της νεφρικής ανεπάρκειας, το

ιστορικό ηπατιτίδων, η διάρκεια χρήσης ερυθροποιητίνης, οι μεταγγίσεις πριν ή μετά το 1991 και ο αριθμός μεταγγίσεων/φιαλών, η τοξικομανία, το κέντρο στο οποίο γίνεται η θεραπεία υποκατάστασης και συσχετιστήκαν με την παρουσία του HBV-DNA.

Οι ορολογικοί δείκτες της HBV λοίμωξης προσδιορίστηκαν με τρίτης γενιάς ανοσοενζυμική μέθοδο (Abbott GmbH, Wiesbaden-Delkenheim, Germany). Επιπλέον, προσδιορίστηκαν οι ορολογικοί δείκτες των ηπατιτίδων A, C, D και E καθώς και του ανθρώπινου T-λεμφοτρόπου ιού (HTLV-I/II) σχεδόν στο σύνολο των ασθενών. Το αντίσωμα anti-HCV ελέγχθηκε με τρίτης γενιάς ELISA (HCV 3.0 ELISA Ortho, Raritan, NJ) σύμφωνα με τις οδηγίες του δημιουργού. Δύο εμπορικά διαθέσιμες ELISAs χρησιμοποιήθηκαν για την ανίχνευση των anti-HEV IgG αντισωμάτων (Abbott Diagnostika, Wiesbaden-Delkenheim, Germany and Genelabs Diagnostics, Singapore Science Park, Singapore) (10). Αυτές οι εξετάσεις περιλάμβαναν δυο ανασυνδυασμένα αντιγόνα, τα οποία προέρχονται από τις δομικές περιοχές του HEV γονιδιώματος (10). Κάθε ELISA πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή. Μόνο επαναλαμβανόμενα θετικά δείγματα για κάθε εξέταση έγιναν δεκτά ως θετικά για την παρουσία του anti-HEV IgG. Σύμφωνα με τα παραπάνω κριτήρια αρχικώς ενεργά δείγματα που βγήκαν ανενεργά σε επαναλαμβανόμενη εξέταση θεωρήθηκαν ως αρνητικά.

Οι τιμές της ασπαρτικής αμινοτρανσφεράσης (AST) και της αλανινοαμινοτρανσφεράσης (ALT), προσδιορίστηκαν με αυτοματοποιημένες τεχνικές. Όλοι οι ασθενείς κατόπιν πληροφόρησής τους δέχτηκαν να συμμετάσχουν στην έρευνα. Η Τοπική Επιτροπή Ηθικής του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας ενέκρινε το πρωτόκολλο της έρευνας.

2.2. ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ HBV-DNA

Η ανίχνευση του HBV-DNA πραγματοποιήθηκε με εμπορικά διαθέσιμη μέθοδο πραγματικού χρόνου PCR (Cobas TaqMan HBV Test, Roche) σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή. Εν συντομία το Cobas TaqMan HBV Test, για χρήση με το High Pure System (HPS) είναι μια in vitro εξέταση ενίσχυσης νουκλεϊκού οξέος για την ποσοτικοποίηση του DNA του ιού της ηπατίτιδας Β (HBV) στο ανθρώπινο πλάσμα και στον ορό αίματος χρησιμοποιώντας το High Pure System Viral Nucleic Acid Kit για χειροκίνητη προετοιμασία δείγματος και τον Cobas TaqMan 48 Αναλυτή για αυτόματη ενίσχυση και ανίχνευση. Η εξέταση μπορεί να ποσοτικοποιήσει HBV-DNA σε εύρος 6 έως 110.000.000 HBV-DNA IU/ml (συντελεστής μετατροπής 5.82 HBVDNA αντίγραφα). Για τον προσδιορισμό μεγαλύτερων συγκεντρώσεων HBV-DNA απαιτείται αραίωση των προς μέτρηση δειγμάτων.

Το Cobas TaqMan HBV Test βασίζεται σε τρεις κύριες διαδικασίες: i) χειροκίνητη προετοιμασία δείγματος για την λήψη HBV DNA, ii) αυτοματοποιημένη ενίσχυση με PCR του DNA στόχου με τη χρήση ειδικών για το HBV συμπληρωματικών εκκινητών iii) ανίχνευση διασπώμενων διπλά επισημασμένων με φθορίζουσα χρωστική ολιγονουκλεοτιδίων ιχνηθετών ανίχνευσης που επιτρέπουν την ποσοτικοποίηση του ενισχυμένου προϊόντος (κλώνος-amplicon) του HBV στόχου και του DNA προτύπου ποσοτικοποίησης HBV, που υποβάλλεται σε επεξεργασία, ενίσχυση και ανίχνευση παράλληλα με το δείγμα. Το αντιδραστήριο κυρίου μίγματος περιέχει ζεύγη εκκινητών και ιχνηθέτες ειδικούς για HBV DNA και το DNA του προτύπου ποσοτικοποίησης HBV.

Το κύριο μίγμα έχει αναπτυχθεί για τη διασφάλιση της ισοδύναμης ποσοτικοποίησης όλων των γονοτύπων από Α έως G του HBV. Η ανίχνευση του ενισχυμένου DNA εκτελείται με τη χρήση ολιγονουκλεοτιδικών διπλά επισημασμένων ιχνηθετών, ειδικών για το στόχο και για το πρότυπο ποσοτικοποίησης, που επιτρέπουν τον ανεξάρτητο εντοπισμό του κλώνου (amplicon) του HBV και του κλώνου (amplicon) του προτύπου ποσοτικοποίησης του 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 και την ανίχνευση μαζί με τον HBV στόχο. Ο Cobas TaqMan 48 αναλυτής υπολογίζει τα επίπεδα HBV-DNA στα δείγματα εξέτασης συγκρίνοντας το σήμα HBV στόχου με το σήμα προτύπου ποσοτικοποίησης HBV για κάθε δείγμα και ορό ελέγχου. Το πρότυπο ποσοτικοποίησης HBV αντισταθμίζει τα αποτελέσματα της αναστολής και ελέγχει τις διαδικασίες προετοιμασίας και ενίσχυσης έτσι ώστε να επιτραπεί ο ακριβής ποσοτικός προσδιορισμός του HBV DNA σε κάθε δείγμα.

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

Προετοιμασία δείγματος: Το Cobas TaqMan HBV Test υποβάλει σε επεξεργασία τα δείγματα πλάσματος και ορού και απομονώνει το HBV DNA μέσω γενικής χειροκίνητης προετοιμασίας δείγματος με βάση το νουκλεϊκό οξύ που δεσμεύεται σε ίνες υάλου. Πραγματοποιείται λύση των σωματιδίων του ιού HBV μέσω επώασης σε υψηλή θερμοκρασία με πρωτεάση και χαοτροπικό ρυθμιστικό διάλυμα λύσης/δέσμευσης που απελευθερώνει τα νουκλεϊκά οξέα και προστατεύει το απελευθερωμένο HBVDNA από DNases σε πλάσμα και ορό. Σε κάθε δείγμα εισάγεται ένας γνωστός αριθμός μορίων DNA του προτύπου ποσοτικοποίησης HBV με το αντιδραστήριο λύσης. Στη συνέχεια, προστίθεται ισοπροπανόλη στο μίγμα λύσης, το οποίο υποβάλλεται σε φυγοκέντρωση μέσω στήλης με ένθετο φίλτρο ινών υάλου. Κατά την διάρκεια της φυγοκέντρωσης, το HBV DNA και το DNA του προτύπου ποσοτικοποίησης HBV δεσμεύονται στην επιφάνεια του φίλτρου ινών υάλου. Οι μη δεσμευμένες ουσίες, όπως άλατα, πρωτεΐνες και άλλες κυτταρικά υπολείμματα, απομακρύνονται με τη φυγοκέντρωση. Τα νουκλεϊκά οξέα που απορροφώνται, πλένονται και εκλούονται με υδατικό διάλυμα. Τα αναλώσιμα υλικά επιτρέπουν την παράλληλη επεξεργασία 12 δειγμάτων ή πολλαπλασίων τους. Το επεξεργασμένο δείγμα που περιέχει HBV DNA και DNA του προτύπου ποσοτικοποίησης HBV προστίθεται στο μίγμα ενίσχυσης/ανίχνευσης. Το HBV DNA-στόχος και το DNA του προτύπου ποσοτικοποίησης HBV ενισχύονται στη συνέχεια και ανιχνεύονται στον Cobas TaqMan 48 αναλυτή με χρήση των αντιδραστηρίων ενίσχυσης και ανίχνευσης που παρέχονται στο kit 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 εκκινητών και ιχνηθέτη είναι αποφασιστικής σημασίας για τη δυνατότητα της εξέτασης να ανιχνεύσει όλους 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 TaqMan HBV Test χρησιμοποιεί εκκινητές ενίσχυσης PCR που καθορίζουν μια αλληλουχία εντός της προπυρηνικής/πυρηνικής περιοχής υψηλής διατήρησης του γονιδιώματος HBV. *β) Ενίσχυση στόχου:* Τα επεξεργασμένα δείγματα προστίθενται στο μείγμα ενίσχυσης σε σωληνάρια ενίσχυσης (K-tubes) στα οποία πραγματοποιείται ενίσχυση της PCR. Ο θερμοκυκλοποιητής του Cobas TaqMan 48 αναλυτή 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 και του DNA του προτύπου ποσοτικοποίησης HBV. Καθώς το μείγμα ψύχεται, οι εκκινητές υβριδίζονται στο DNA-στόχο. Η θερμοσταθερή Z05 DNA πολυμεράση *Thermus specie* (Z05), με την παρουσία μαγνησίου και πλεονάσματος τριφωσφορικών δεοξυνουκλεοζιτών (dNTPs), στους οποίους περιλαμβάνονται η δεοξαδενοσίνη, η δεοξγουανοσίνη, η δεοξκυτιδίνη και δεοξουριδίνη (αντί της θυμιδίνης), επεκτείνει τους υβριδισμένους εκκινητές κατά μήκος των προτύπων στόχων για τη δημιουργία ενός μορίου δίκλωνου DNA που ονομάζεται κλώνος (amplicon). Ο Cobas TaqMan 48 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 μίγματος. 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. Επίσης κάθε μη ειδικό προϊόν που σχηματίζεται από την αρχική ενεργοποίηση του κυρίου μίγματος με μαγγάνιο καταστρέφεται από το ένζυμο AmpErase και έτσι βελτιώνεται η ευαισθησία και η ειδικότητα. 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» η αλυσίδα DNA του κλώνου (amplicon) διασπάται στη θέση της δεοξουριδίνης, καθιστώντας το DNA μη ενισχύσιμο. 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 που σχηματίζεται κατά την ενίσχυση.

Αντίδραση Ανίχνευσης: Το Cobas TaqMan HBV Test χρησιμοποιεί τεχνολογία PCR σε πραγματικό χρόνο. Η χρήση ιχνηθετών με διπλή φθορίζουσα επισήμανση επιτρέπει την ανίχνευση της συσσώρευσης προϊόντων PCR σε πραγματικό χρόνο παρακολουθώντας την ένταση εκπομπής των φθορίζουσών χρωστικών αναφοράς που απελευθερώνονται κατά την διαδικασία της ενίσχυσης. Οι ιχνηθέτες αποτελούνται από ολιγονουκλεοτίδια ειδικά για το HBV και το πρότυπο ποσοτικοποίησης HBV επισημασμένα με χρωστική αναφοράς και χρωστική παρεμποδιστή. Στο Cobas TaqMan HBV Test οι ιχνηθέτες του HBV και του προτύπου ποσοτικοποίησης HBV είναι επισημασμένοι με διαφορετικές φθορίζουσες χρωστικές αναφοράς. Όταν οι διπλά επισημασμένοι με φθορίζουσα χρωστική ιχνηθέτες είναι ανέπαφοι η δράση της φθορίζουσας χρωστικής αναφοράς καταστέλλεται λόγω της εγγύτητας της χρωστικής παρεμποδιστή, εξαιτίας των επιδράσεων της μεταφοράς ενέργειας τύπου Forster. Κατά τη διάρκεια της PCR, ο ιχνηθέτης υβριδίζεται σε αλληλουχία-στόχο και διασπάται λόγω της 5'->3' δραστηριότητας της νουκλεάσης της θερμοσταθερής Z05 DNA πολυμεράσης. Μόλις απελευθερωθούν και αποχωριστούν οι χρωστικές αναφοράς και παρεμποδιστή, δεν πραγματοποιείται πλέον παρεμπόδιση και ενισχύεται η φθορίζουσα δραστηριότητα της χρωστικής αναφοράς. Η ενίσχυση του HBV DNA και του DNA του προτύπου ποσοτικοποίησης HBV μετράται ανεξάρτητα σε διαφορετικά μήκη κύματος. Η διαδικασία αυτή επαναλαμβάνεται για έναν καθορισμένο αριθμό κύκλων και κάθε κύκλος αυξάνει αποτελεσματικά την ένταση εκπομπής των μεμονωμένων χρωστικών

αναφορέα, επιτρέποντας τον ανεξάρτητο εντοπισμό του HBV DNA και του DNA του προτύπου ποσοτικοποίησης HBV. Η ένταση των σημάτων σχετίζεται με την ποσότητα των υλικών εκκίνησης κατά της έναρξης της PCR.

2.3. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

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, χ^2 (2 x 2 μετά από διόρθωση κατά Yates), Fisher's exact test. Στατιστικά σημαντική διαφορά θεωρήθηκε εκείνη όπου η διπλής κατεύθυνσης τιμή του P ήταν μικρότερη του 0.05 ($P < 0.05$). Τα όρια αξιοπιστίας (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 ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ ΤΟΥ HBV-DNA

Από τους 366 ασθενείς με καλά τεκμηριωμένη χρόνια νεφρική ανεπάρκεια τελικού σταδίου που βρίσκονται σε θεραπεία υποκατάστασης και εξετάστηκαν με την χρήση πραγματικού χρόνου PCR, HBV-DNA ανιχνεύτηκε σε 15 από τους 366 (4.1%; 95%CI: 2-6.1%) HBsAg ανιχνεύθηκε σε 20 από τους 366 (5.5%) ενώ 245 ήσαν αντι-HBs θετικοί (66.9%). Δώδεκα από τους 15 θετικούς με HBV ιαιμία ασθενείς ήταν HBsAg θετικοί (80%) και τρεις από τους 15 ήταν HBsAg αρνητικοί (20%). Στους εναπομείναντες δηλαδή 346 HBsAg αρνητικούς ασθενείς ΧΝΑ τελικού σταδίου, το ποσοστό της λανθάνουσας (occult) HBV λοίμωξης ήταν 0.9% (3/346; 95%CI: 0-1.9%) (3 από τους 346 HBsAg αρνητικούς ΧΝΑ ασθενείς). Ο μέσος όρος τίτλου της HBV-DNA ιαιμίας ήταν 25 IU/ml (εύρος από 7 έως 10584 IU/ml) ενώ ο μέσος όρος τίτλου της λανθάνουσας ιαιμίας ήταν 19 IU/ml (εύρος από 7 έως 37 IU/ml) και δεν διαπιστώθηκε στατιστικώς, σημαντική διαφορά μεταξύ τους ($p=0.391$).

Πιο αναλυτικά ανά κέντρο αιμοκάθαρσης οι θετικοί για HBV-DNA ήταν: (μονάδα 1) στη μονάδα Τεχνητού Νεφρού του Γενικού Νοσοκομείου στη Λάρισα από τους 60 ασθενείς οι έξι (10%), (μονάδα 2) σε Ιδιωτικό Κέντρο Αιμοκάθαρσης στην Λάρισα από τους 70 ο ένας (1.4%), (μονάδα 3) στη μονάδα Αιμοκάθαρσης του Γενικού Νοσοκομείου στο Βόλο από τους 119 οι τρεις (2.5%), (μονάδα 4) στη μονάδα Αιμοκάθαρσης του Γενικού Νοσοκομείου στα Τρίκαλα από τους 56 οι δυο (3.6%) και (μονάδα 5) στη μονάδα Αιμοκάθαρσης του Γενικού Νοσοκομείου στην Καρδίτσα από τους 61 οι τρεις (4.9%). Η συχνότητα των θετικών ορών για HBV-DNA κυμαίνονταν από 1.4%

έως 10% μεταξύ των πέντε μονάδων αιμοκάθαρσης ($p=0.163$) (Πίνακας 2). Η συχνότητα της λανθάνουσας ιαιμίας HBV μόνο για την μονάδα του Βόλου ήταν 2.6% (3/116) αλλά χωρίς στατιστική σημαντικότητα σε σύγκριση με τη μηδενική συχνότητα σε όλα τα υπόλοιπα κέντρα αιμοκάθαρσης στην περιφέρεια Θεσσαλίας (0/247) ($p=0.199$) (Πίνακας 2).

Περίπου το 4% των ΧΝΑ ασθενών της Κεντρικής Ελλάδας που βρίσκονται σε αιμοκάθαρση είχε ανιχνεύσιμα επίπεδα HBV-DNA, εκ των οποίων το 20% είχε λανθάνουσα HBV λοίμωξη. Παρόλαυτα στο σύνολο των ασθενών με HBsAg αρνητικό η συχνότητα της λανθάνουσας HBV στους Έλληνες νεφροπαθείς τελικού σταδίου από την Κεντρική Ελλάδα είναι σχετικά χαμηλή.

Πίνακας 2. Προσδιορισμός της παρουσίας ιαιμίας για HBV-DNA και της λανθάνουσας ηπατίτιδας Β σε κάθε μονάδα αιμοκάθαρσης.

	Μονάδα1 n=60(%)	Μονάδα2 n=70(%)	Μονάδα3 n=119(%)	Μονάδα4 n=56(%)	Μονάδα5 n=61(%)	Σύνολο n=366(%)
HBV-DNA	6 (10)	1 (1.4)	3 (2.5)	2 (3.6)	3 (4.9)	15 (4.1)
	Μονάδα1 n=51(%)	Μονάδα2 n=68(%)	Μονάδα3 n=116(%)	Μονάδα4 n=54(%)	Μονάδα5 n=57(%)	Σύνολο n=346(%)
Occult HBV	0 (0)	0 (0)	3 (2.6)	0 (0)	0 (0)	3 (0.9)

3.2. ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΗΣ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣ ΤΗΣ HBV-DNA ΙΑΙΜΙΑΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΛΑΝΘΑΝΟΥΣΑΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ Β ΜΕ ΔΗΜΟΓΡΑΦΙΚΑ ΚΑΙ ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΤΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ

Στους 366 ασθενείς με καλά τεκμηριωμένη χρόνια νεφρική ανεπάρκεια τελικού σταδίου που βρίσκονται σε θεραπεία υποκατάστασης και εξετάστηκαν με τη χρήση πραγματικού χρόνου PCR, η παρουσία του HBV-DNA δεν συσχετιζόταν με διάφορα δημογραφικά και επιδημιολογικά δεδομένα των ασθενών όπως: η ηλικία, το φύλο, το είδος και η διάρκεια της θεραπείας υποκατάστασης, η αιτιολογία της νεφρικής ανεπάρκειας, το ιστορικό ηπατιτίδων, η διάρκεια χρήσης ερυθροποιητίνης, οι μεταγγίσεις πριν ή μετά το 1991 και ο αριθμός μεταγγίσεων/φιαλών, η τοξικομανία, το κέντρο στο οποίο γινόταν η θεραπεία υποκατάστασης (Πίνακας 3). Κανέναν συσχετισμό με τους παραπάνω δημογραφικούς και επιδημιολογικούς παράγοντες δεν είχε και η λανθάνουσα HBV λοίμωξη (Πίνακας 4). Επίσης, δεν διαπιστώθηκε στατιστικώς, σημαντική διαφορά μεταξύ των ασθενών με HBV-DNA ιαιμία και των ασθενών με λανθάνουσα HBV συγκρίνοντας όλους τους δημογραφικούς και επιδημιολογικούς παράγοντες που αναφέρθηκαν παραπάνω.

Πίνακας 3. Δημογραφικά και επιδημιολογικά δεδομένα στους 366 ασθενείς με τελικού σταδίου νεφρική ανεπάρκεια σύμφωνα με την θετικότητα σε HBV-DNA.

	HBV-DNA		P value
	Θετικό (n=15)	Αρνητικό (n=351)	
Ηλικία (μέση/εύρος, έτη)	66 ± 13	60 ± 13	NS
Φύλο (Α/Γ)	12 / 3	231 / 120	NS
Είδος θεραπείας υποκατάστασης (αιμοκάθαρση/περιτοναϊκή κάθαρση)	15 / 0	337 / 14	NS
Διάρκεια θεραπείας υποκατάστασης (μέση/εύρος, μήνες)	23.5 ± 25.3	50.3 ± 48.7	NS
Αιτιολογία ΧΝΑ (ιδιοπαθής σπειραματονεφρίτιδα, διάμεση νεφροπάθεια, νεφροσκλήρυνση, διαβητική νεφροπάθεια, συστηματικές παθήσεις, άγνωστη, άλλα αίτια)	2/2/1/2/0/5/3	49/7/28/46/11/120/90	NS
Ιστορικό ηπατίτιδας (ναι/όχι)	0 / 15	51 / 300	NS
Διάρκεια χρήσης ερυθροποιητίνης (μέση/εύρος, μήνες)	30 ± 27	47 ± 36	NS
Μεταγγίσεις πριν 1991 (ναι/όχι)	1 / 14	37 / 314	NS
Μεταγγίσεις μετά 1991 (ναι/όχι)	4 / 11	116 / 235	NS
Διάρκεια χρήσης ερυθροποιητίνης (μέση/εύρος, μήνες)	30 ± 27	46 ± 36	NS
Αριθμός μεταγγίσεων/φιαλών πριν 1991	5 ± 2	9 ± 19.7	NS
Αριθμός μεταγγίσεων/φιαλών μετά 1991	3.5 ± 1.9	4.8 ± 5.2	NS
Τοξικομανία (ναι/όχι)	0 / 15	23 / 328	NS
Κέντρο θεραπείας υποκατάστασης (Λάρισα, Ιδιωτικό, Βόλος, Τρίκαλα, Καρδίτσα)	6 / 1 / 3 / 2 / 3	54 / 69 / 116 / 54 / 58	NS

A=άντρας, Γ=γυναίκα. Τα δεδομένα δόθηκαν ως μέση τιμή ± σταθερή απόκλιση (as mean ± standard deviation) (SD). NS=not significant (μη στατιστική σημαντική διαφορά).

Πίνακας 4. Δημογραφικά και επιδημιολογικά δεδομένα των ασθενών με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια με ή χωρίς «λανθάνουσα» ηπατίτιδα Β.(n=346)

	HBV DNA		P value
	Θετικό (n=3)	Αρνητικό (n=343)	
Ηλικία (έτη)	70.6 ± 6.6	60.5 ± 13.9	NS
Φύλο (άνδρες/γυναίκες)	2 / 1	224 / 119	NS
Είδος θεραπείας υποκατάστασης (αιμοκάθαρση/περιτοναϊκή κάθαρση)	3 / 0	329 / 14	NS
Διάρκεια θεραπείας υποκατάστασης (μήνες)	42 ± 42.7	50 ± 47.8	NS
Αιτιολογία ΧΝΑ (ιδιοπαθής σπειραματονεφρίτιδα, διάμεση νεφροπάθεια, νεφροσκλήρυνση, διαβητική νεφροπάθεια, συστηματικές παθήσεις, άγνωστη, άλλα αίτια)	0/0/0/0/0/1/2	47/7/26/45/11/118/89	NS
Ιστορικό ηπατίτιδας (ναι/όχι)	0 / 3	47 / 296	NS
Διάρκεια χρήσης ερυθροποιητίνης (μήνες)	47 ± 42	47 ± 36	NS
Μεταγγίσεις πριν 1991 (ναι/όχι)	0 / 3	33 / 310	NS
Μεταγγίσεις μετά 1991 (ναι/όχι)	0 / 3	112 / 231	NS
Αριθμός μεταγγίσεων/φιαλών πριν 1991	0 ± 0	8.9 ± 19.4	NS
Αριθμός μεταγγίσεων/φιαλών μετά 1991	0 ± 0	4.8 ± 5.1	NS
Τοξικομανία (ναι/όχι)	0 / 3	23 / 320	NS
Κέντρο θεραπείας υποκατάστασης (Λάρισα, Ιδιωτικό, Βόλος, Τρίκαλα, Καρδίτσα)	0 / 0 / 3 / 0 / 0	51 / 68 / 113 / 54 / 57	NS

A=άντρας, Γ=γυναίκα. Τα δεδομένα δόθηκαν ως μέση τιμή ± σταθερή απόκλιση (as mean ± standard deviation) (SD). NS=not significant (μη στατιστική σημαντική διαφορά).

3.3. ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΗΣ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣ ΤΗΣ HBV-DNA ΙΑΙΜΙΑΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΛΑΝΘΑΝΟΥΣΑΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ Β ΜΕ ΟΡΟΛΟΓΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΤΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ (ΔΕΙΚΤΕΣ ΤΗΣ HBV ΛΟΙΜΩΞΗΣ, ΔΕΙΚΤΕΣ ΤΗΣ HCV, HEV, HDV, HAV, HTLV)

Από τους 366 ασθενείς με καλά τεκμηριωμένη χρόνια νεφρική ανεπάρκεια τελικού σταδίου που βρίσκονται σε θεραπεία υποκατάστασης και εξετάστηκαν με την χρήση πραγματικού χρόνου PCR, ανιχνεύτηκε HBsAg σε 20 από τους 366 (5.5%), anti-HBs σε 245 (66.9%), anti-HBc σε 175 (47.8%), HBeAg σε 2 (0.5) και anti-HBe σε 73 (19.9%). Ενώ ανιχνεύτηκε anti-HCV σε 88 από τους 366 (24%), anti-HEV σε 15 (4.1), anti-HDV σε 19 (5.2%), anti-HAV σε 343 (93.7%) και anti-HTLV σε 6 (1.6%). Πιο αναλυτικά τα ορολογικά δεδομένα στον κάθε ιο και για κάθε μονάδα αιμοκάθαρσης καταγράφονται στον Πίνακα 5.

Πίνακας 5. Προσδιορισμός των ορολογικών δεικτών των ιών HBV, HCV, HEV, HDV, HAV, HTLV καθώς και του HBV-DNA σε κάθε μονάδα αιμοκάθαρσης.

	Μονάδα1 n=60(%)	Μονάδα2 n=70(%)	Μονάδα3 n=119(%)	Μονάδα4 n=56(%)	Μονάδα5 n=61(%)	Σύνολο n=366(%)
HBsAg	9 (15)	2 (2.9)	3 (2.5)	2 (3.6)	4 (6.6)	20 (5.5)
Anti-HBs	41(68.3)	39(55.7)	87 (73.1)	38(67.9)	40(65.6)	245(66.9)
Anti-HBc	32(53.3)	40(57.1)	39 (32.8)	35(62.5)	29(47.5)	175(47.8)
HBeAg	0	0	1 (0.8)	1 (1.8)	0	2 (0.5)
Anti-HBe	13(21.7)	14 (20)	15 (12.6)	17(30.4)	14 (23)	73 (19.9)
HBVDNA	6 (10)	1 (1.4)	3 (2.5)	2 (3.6)	3 (4.9)	15 (4.1)
Anti-HCV	7(11.7)	27(38.6)	27 (22.7)	20(35.7)	7 (11.5)	88 (24)
Anti-HEV	3 (5)	1 (1.4)	4 (3.4)	1 (1.8)	6 (9.8)	15 (4.1)
Anti-HDV	9 (15)	0	4 (3.3)	2 (3.5)	4 (6.5)	19 (5.2)
Anti-HAV	55 (91.7)	64 (91.4)	111(93.3)	54 (96.4)	59 (96.7)	343(93.7)
Anti-HTLV	2 (3.3)	0	0	3 (5.4)	1 (1.6)	6 (1.6)

HBV-DNA ανιχνεύτηκε σε 15 από τους 366 ασθενείς (4.1%), οι δώδεκα από τους 15 θετικούς με HBV ιαίμια ασθενείς ήταν HBsAg θετικοί (80%) συμπεριλαμβανομένου και έναν HBeAg θετικό, δέκα anti-HBe θετικούς και έναν anti-HBe θετικό που ήταν ταυτόχρονα και anti-HBs θετικό. Οι τρεις από τους 15 ήταν HBsAg αρνητικοί (20%), ένας είχε δείκτες παρελθούσας λοίμωξης (anti-HBc και anti-HBs θετικός) και δύο δεν είχαν κάποιους ορολογικούς δείκτες που να φανερώνουν παρούσα ή παρελθούσα λοίμωξη (Πίνακας 6).

Πίνακας 6. Ορολογικοί δείκτες HBV στους 15 HBV-DNA θετικούς ασθενείς

HBsAg+ n (%)	12 (80)
HBsAg+, anti-HBc+, anti-HBe+	10 (66.7)
HBsAg+, anti-HBc+, HBeAg+	1 (6.7)
HBsAg+, anti-HBc+, anti-HBe+, anti-HBs+	1 (6.7)
HBsAg- n (%)	3 (20)
HBsAg-, anti-HBc+, anti-HBs+	1 (6.7)
HBsAg-, anti-HBc-, anti-HBs-	2 (13.3)

Η οροθετικότητα για HBV-DNA σχετιζόταν άμεσα με την παρουσία HBsAg ($p=0.000$), anti-HBe ($p=0.000$) και anti-HBc ($p=0.003$) ενώ παρουσίαζε αρνητική συσχέτιση με την παρουσία anti-HBs ($p=0.000$) και την παρουσία anti-HCV. Αντίθετα δεν υπήρχε κανένας συσχετισμός μεταξύ της οροθετικότητας για HBVDNA και της παρουσίας των δεικτών HBeAg, anti-HBe, anti-HDV, anti-HAV, anti-HTLV (Πίνακας 7).

Πίνακας 7 . Ορολογικοί δείκτες των ιών HBV, HCV, HEV, HDV, HAV και HTLV στους 366 ασθενείς με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια σύμφωνα με την θετικότητα σε HBV-DNA.

	HBV-DNA		P value
	Θετικό (n=15)	Αρνητικό (n=351)	
HBsAg (Θετικό/Αρνητικό)	12 / 3	8 / 343	<0.001
Anti-HBc (Θετικό/Αρνητικό)	13 / 2	162 / 189	0.003
Anti-HBs (Θετικό/Αρνητικό)	2 / 13	243 / 108	<0.001
HBeAg (Θετικό/Αρνητικό)	1 / 14	1 / 350	NS
Anti-HBe (Θετικό/Αρνητικό)	11 / 4	62 / 289	<0.001
Anti-HCV (Θετικό/Αρνητικό)	0 / 15	88 / 263	0.03
Anti-HEV (Θετικό/Αρνητικό)	1 / 14	14 / 337	NS
Anti-HDV (Θετικό/Αρνητικό)	0 / 15	19 / 332	NS
Anti-HAV (Θετικό/Αρνητικό)	15 / 0	328 / 23	NS
Anti-HTLV I/II (Θετικό/Αρνητικό)	0 / 15	6 / 345	NS

Τα δεδομένα δόθηκαν ως μέση τιμή \pm σταθερή απόκλιση (as mean \pm standard deviation) (SD). NS=not significant (μη στατιστικά σημαντική διαφορά).

Από τους εναπομείναντες 346 HBsAg αρνητικούς ασθενείς ΧΝΑ τελικού σταδίου, το ποσοστό της λανθάνουσας (occult) HBV λοίμωξης ήταν 0.9% (3/346) (3 από τους 346 HBsAg αρνητικούς ΧΝΑ ασθενείς). Η παρουσία λανθάνουσας λοίμωξης δε συνδέθηκε με κανένα HBV ορολογικό δείκτη. Επιπλέον, καμία στατιστική συσχέτιση δε βρέθηκε μεταξύ της παρουσίας λανθάνουσας HBV ιαιμίας και των δεικτών για HCV, HEV, HDV, HAV και HTLV (Πίνακας 8).

Πίνακας 8. Ορολογικοί δείκτες των ιών HBV, HCV, HEV, HDV, HAV και HTLV στους 366 ασθενείς με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια με ή χωρίς «λανθάνουσα» ηπατίτιδα Β (n=346).

	HBV-DNA		<i>P</i> value
	Θετικό (n=3)	Αρνητικό (n=343)	
HBsAg (Θετικό/Αρνητικό)	0 / 3	0 / 343	-
Anti-HBc (Θετικό/Αρνητικό)	1 / 2	154 / 189	NS
Anti-HBs (Θετικό/Αρνητικό)	1 / 2	240 / 103	NS
HBeAg (Θετικό/Αρνητικό)	0 / 3	0 / 343	-
Anti-HBe (Θετικό/Αρνητικό)	0 / 3	56 / 287	NS
Anti-HCV (Θετικό/Αρνητικό)	0 / 3	84 / 259	NS
Anti-HEV (Θετικό/Αρνητικό)	1 / 2	13 / 330	NS
Anti-HDV (Θετικό/Αρνητικό)	0 / 3	8 / 332	NS
Anti-HAV (Θετικό/Αρνητικό)	3 / 0	321 / 22	NS
Anti-HTLV I/II (Θετικό/Αρνητικό)	0 / 3	6 / 337	NS

Τα δεδομένα δόθηκαν ως μέση τιμή \pm σταθερή απόκλιση (as mean \pm standard deviation) (SD). NS=not significant (μη στατιστικά σημαντική διαφορά).

3.4. ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΗΣ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣ ΤΗΣ HBV-DNA ΙΑΙΜΙΑΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΛΑΝΘΑΝΟΥΣΑΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ Β ΜΕ ΤΙΣ ΒΙΟΧΗΜΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΥΣ ΤΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ

Στους 366 ασθενείς με καλά τεκμηριωμένη χρόνια νεφρική ανεπάρκεια τελικού σταδίου που βρισκόταν σε θεραπεία υποκατάστασης και εξετάστηκαν με τη χρήση πραγματικού χρόνου PCR, η παρουσία του HBV-DNA δεν συσχετιζόταν με τη δραστηριότητα των αμινοτρανσφερασών. Δεν υπήρχε συσχετισμός ούτε με την λανθάνουσα Β λοίμωξη. Επίσης, δεν διαπιστώθηκε στατιστικώς, σημαντική διαφορά μεταξύ των ασθενών με HBV-DNA ιαιμία και των ασθενών με λανθάνουσα HBV συγκρίνοντας τις βιοχημικές παραμέτρους (Πίνακας 9).

Πίνακας 9. Βιοχημικοί παράμετροι AST / ALT στους 366 ασθενείς με ESRF σύμφωνα με την θετικότητα σε HBV-DNA και στους 346 σύμφωνα με την λανθάνουσα Β λοίμωξη.

	HBV-DNA		P value
	Θετικό (n=15)	Αρνητικό (n=351)	
AST (UNL 40 U/L)	17 ± 8	22 ± 19	NS
ALT (UNL 40 U/L)	18 ± 11	26 ± 20	NS

	HBV-DNA		P value
	Θετικό (n=3)	Αρνητικό (n=343)	
AST (UNL 40 U/L)	18 ± 4	22.5 ± 19	NS
ALT (UNL 40 U/L)	19 ± 3	25.9 ± 21	NS

A=άντρας, Γ=γυναίκα. Τα δεδομένα δόθηκαν ως μέση τιμή ± σταθερή απόκλιση (as mean ± standard deviation) (SD). NS=not significant (μη στατιστική σημαντική διαφορά). UNL=upper normal limit (ανώτερο κανονικό όριο).

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Τα αποτελέσματα της μελέτης μας έδειξαν ότι 4.1% των Ελλήνων ασθενών με Χρόνια Νεφρική Ανεπάρκεια (ΧΝΑ) από την Κεντρική Ελλάδα έχουν ανιχνεύσιμο HBV-DNA με την χρήση πραγματικού χρόνου PCR (real-time PCR) συμπεριλαμβανομένου και 0.9% με λανθάνουσα ηπατίτιδα Β. Αρκετά ενδιαφέρον είναι το γεγονός ότι 5.5% των υπό αιμοκάθαρση ασθενών έχουν χρόνια ηπατίτιδα Β (HBsAg οροθετικοί) αλλά μόλις το 60% από αυτούς (δηλαδή το 3.3% του συνόλου των ΧΝΑ ασθενών) ήταν θετικοί στο HBV-DNA. Αναμφίβολα, οι ασθενείς με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια τελικού σταδίου είναι μια ομάδα υψηλού κινδύνου για ιογενείς λοιμώξεις που μεταδίδονται μέσω του αίματος και αυτές οι λοιμώξεις είναι οι πιο συχνές αιτίες ασθενειών του ήπατος ανάμεσα τους (1-4,8-10,36,37). Εντούτοις, η συχνότητα του HBV ανάμεσα στους ασθενείς υπό αιμοκάθαρση ποικίλει στις διάφορες μελέτες καθώς και γεωγραφικές περιοχές από 0.8 μέχρι 17%, ενώ παραμένει πολύ υψηλή στις λιγότερο ανεπτυγμένες περιοχές (2,27,38-41). Επιπλέον, με την ανάπτυξη των ευαίσθητων ελέγχων βασισμένων στην PCR για τη μέτρηση του HBV-DNA, μελέτες σε μονάδες αιμοκάθαρσης έχουν δείξει ότι η συχνότητα της λανθάνουσας ηπατίτιδας Β έχει ευρεία διακύμανση, μεταξύ 0 μέχρι 58% (27-33). Αυτές οι διαφορές στα αποτελέσματα μπορούν να αποδοθούν στη διαφορετικότητα της ευαισθησίας της κάθε μεθόδου που χρησιμοποιείται για την ανίχνευση του HBV-DNA, στο δείγμα του ασθενούς που ελέγχεται σε κάθε μια μελέτη και στις γεωγραφικές διαφορές σχετικές με τη συχνότητα του HBV (42-55).

Σύμφωνα με αυτά η ανίχνευση της ιαιμίας της ηπατίτιδας Β σε δείγματα ορών μάλλον υποτιμά την πραγματική συχνότητα της λανθάνουσας ηπατίτιδας Β. Η πιο ορθή και ακριβής μεθοδολογία για τον καθορισμό της συχνότητας της λανθάνουσας ηπατίτιδας Β είναι η ανάλυση DNA από ηπατικό ιστό (14). Αυτό υποστηρίζεται περαιτέρω από μια πρόσφατη μελέτη από την ομάδα μας, που καθόρισε τη συχνότητα της λανθάνουσας ηπατίτιδας Β σε ασθενείς με αυτοάνοσα ηπατικά νοσήματα (26). Πιο αναλυτικά, εξετάζοντας έναν μικρό αριθμό από ηπατικά δείγματα από ασθενείς με αυτοάνοση ηπατίτιδα για HBV-DNA βρέθηκε λανθάνουσα HBV λοίμωξη σε 21.4% των ασθενών που ήταν αρνητικοί στον ορολογικό έλεγχο (26). Παρόλα αυτά, η διαθεσιμότητα των ηπατικών ιστών είναι συχνά περιορισμένη από κανόνες για την εκτέλεση μιας βιοψίας ήπατος που στην περίπτωση αιμοκαθαρόμενων ασθενών είναι συχνά δύσκολη ή αντενδείκνυται.

Συμφωνώντας με προηγούμενα δημοσιεύματα βρέθηκε ότι και οι δύο ομάδες ασθενών με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια τελικού σταδίου, αυτή με χρόνια ηπατίτιδα Β και αυτή με λανθάνουσα, είχαν χαμηλά επίπεδα HBV-DNA (2,27,33,56). Οι τίτλοι HBV-DNA έχουν αναφερθεί ότι παραμένουν χαμηλοί και σταθεροί με την πάροδο του χρόνου, γεγονός που εξηγεί τη χαμηλή θνησιμότητα από ηπατικά νοσήματα σε ασθενείς με ΧΝΑ στις ανεπτυγμένες χώρες (2). Γενικά όμως, οι μηχανισμοί που θεωρούνται υπεύθυνοι για την αναστολή της δραστηριότητας του HBV παραμένουν αδιευκρίνιστοι. Μπορεί να παίζει ρόλο, το πέρασμα του HBV-DNA από τον ορό μέσα στο σύστημα διάλυσης κατά τη διάρκεια της αιμοκάθαρσης, η καταστροφή του γονιδιώματος του HBV κατά τη διαδικασία της αιμοκάθαρσης και η αλληλεπίδραση μεταξύ HBV και ανοσοποιητικού συστήματος (2). Η

παρατεταμένη ημι-ζωή της ιντερφερόνης στους αιμοκαθαρόμενους ασθενείς είναι άλλος ένας σημαντικός παράγοντας, παρόλο που κανένας από τους ασθενείς στη μελέτη μας δεν λάμβανε αντιική θεραπεία. Επιπλέον, ιικές αλληλεπιδράσεις μπορεί να συντηρούν την HBV λοίμωξη σε μια λανθάνουσα φάση, όπως ΧΝΑ ασθενείς με χρόνια HCV λοίμωξη και λανθάνουσα HBV ιαιμία (31-33). Σε αυτές τις περιπτώσεις, μια αρνητική αλληλεπίδραση θεωρείται ότι πραγματοποιείται μεταξύ των δυο ιών που οδηγεί σε χαμηλά επίπεδα HBV-DNA (57,58). Ενδιαφέρον προκαλεί το γεγονός ότι και οι τρεις ασθενείς με λανθάνουσα HBV λοίμωξη στη μελέτη μας ήταν αρνητικοί για anti-HCV και HCV-RNA με την χρήση TMA (transcription mediated amplification assay) (59). Επιπρόσθετα, κανένας από τους θετικούς HBV-DNA ασθενείς δεν είχε αντισώματα έναντι του HCV, ενισχύοντας περισσότερο την πιθανότητα της αμοιβαίας καταστολής της αντιγραφής των δυο ιών. Σε αντίθεση, η ενεργός HBV λοίμωξη δεν συσχετίστηκε με την παρουσία ή απουσία αντισωμάτων έναντι του HEV.

Όπως και στο παρελθόν καταγράφηκε από άλλες ομάδες (27,31-33), δεν υπήρχε συσχέτιση μεταξύ της παρουσίας HBV-DNA και διαφόρων ορολογικών δεικτών της HBV λοίμωξης σε ΧΝΑ ασθενείς με λανθάνουσα HBV λοίμωξη, υποδηλώνοντας ότι κανένας από τους HBV ορολογικούς δείκτες είναι κατάλληλος για την ένδειξη αυτής της κατάστασης. Όμως μια πρόσφατη μελέτη, έδειξε μια αυξημένη συχνότητα λανθάνουσας HBV λοίμωξης σε ασθενείς θετικούς μόνο για το anti-HBc συγκριτικά με αντίστοιχους anti-HBc αρνητικούς ασθενείς με ΧΝΑ (28). Σε συμφωνία με αυτή την μελέτη, ένας αριθμός δημοσιεύσεων σε HCV μολυσμένους ασθενείς έχει δείξει μια αυξημένη συχνότητα της λανθάνουσας HBV λοίμωξης σε anti-HBc θετικούς

σε σύγκριση με anti-HBc αρνητικούς HCV μολυσμένους ασθενείς (18,59-61), αν και αυτά τα ευρήματα δεν υποστηρίζονται από άλλους (15,16,21). Επίσης δεν υπήρχε συσχέτιση μεταξύ της παρουσίας HBV-DNA και επιδημιολογικών ή εργαστηριακών δεδομένων, όπως έχει δείχθει και από άλλους ερευνητές (27,28,31-33).

Τα στοιχεία που ανέκυψαν από την ενδεχόμενη κλινική σημασία της λανθάνουσας HBV λοίμωξης είναι ο κύριος λόγος για το αυξανόμενο ενδιαφέρον στο συγκεκριμένο θέμα. Συσώρευση πληροφοριών δείχνει ότι η λανθάνουσα HBV λοίμωξη μπορεί να μεταδοθεί στην περίπτωση μεταγγίσεων αίματος ή στην περίπτωση της μεταμόσχευσης οργάνων και συγκεκριμένα στις περιπτώσεις μεταμόσχευσης ήπατος ως προφανής συνέχεια του γεγονότος ότι τα ηπατοκύτταρα αποτελούν τα «ρεζερβουάρ» των ηπατοτρόπων ιών (14,62). Ο κίνδυνος μετάδοσης της λανθάνουσας HBV λοίμωξης σε περιπτώσεις μεταμόσχευσης νεφρού φαίνεται να είναι πολύ χαμηλός (63-66). Επιπλέον, ιολογική και κλινική επανενεργοποίηση της λανθάνουσας HBV λοίμωξης έχει επανειλημμένα παρατηρηθεί σε αρκετές κλινικές συνθήκες ανοσοκαταστολής όπως σε αιματολογικές ή άλλες κακοήθειες, HIV λοίμωξη, μεταμόσχευση αιμοποιητικών προγονικών κυττάρων και μεταμοσχεύσεις οργάνων (14,62). Ειδικά σε ασθενείς με λανθάνουσα HBV οι ανοσοκατασταλτικοί ή κυτταροτοξικοί παράγοντες μπορεί να καταπιέσουν τις ανοσολογικές αντιδράσεις του ξενιστή κατά του HBV προάγοντας τον πολλαπλασιασμό του ιού και την εξέλιξη της νόσου. Απομάκρυνση αυτών των παραγόντων προκαλεί επανάκτηση των ανοσολογικών αντιδράσεων του ξενιστή και ανάπτυξη της ανοσολογικά-

επαγόμενης καταστροφής των μολυσμένων με HBV ηπατοκυττάρων και επομένως την ευόδωση της ηπατικής βλάβης.

Συμπερασματικά, περίπου το 4% των ασθενών με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια τελικού σταδίου που βρίσκονται σε θεραπεία υποκατάστασης από την Κεντρική Ελλάδα έχουν ανιχνεύσιμα επίπεδα HBV-DNA. Από αυτούς το 20% έχει λανθάνουσα HBV λοίμωξη. Εντούτοις, στο σύνολο των HBsAg αρνητικών αιμοκαθαρόμενων ασθενών η συχνότητα της λανθάνουσας HBV λοίμωξης φαίνεται να είναι μια από τις χαμηλότερες που έχουν αναφερθεί παγκοσμίως (0.9%). Τα δημογραφικά και βιοχημικά δεδομένα των θετικών HBV-DNA ασθενών, συμπεριλαμβανομένων και αυτών με λανθάνουσα HBV λοίμωξη, δεν βοηθούν να ξεχωρίσουν τα συγκεκριμένα άτομα από αυτά που είναι HBV-DNA αρνητικά. Παρόλο που αυτή η αντιπροσωπευτική μελέτη σε αιμοκαθαρόμενους ασθενείς δεν μπόρεσε να δείξει ότι η λανθάνουσα HBV λοίμωξη είναι ένα μεγάλο πρόβλημα υγείας στην Κεντρική Ελλάδα, προσεκτική μελέτη και εκτίμηση της παρουσίας της λανθάνουσας HBV λοίμωξης θα πρέπει πιθανά να γίνει τουλάχιστον για τους υποψήφιους για μεταμόσχευση νεφρού, καθώς η υποχρεωτική ανοσοκαταστολή μπορεί να έχει βλαβερές συνέπειες στο συγκεκριμένο ασθενή. Πιστεύουμε ότι μακροχρόνιες προοπτικές μελέτες κατά γεωγραφικό τόπο είναι απαραίτητες για να προσδιορίσουν περαιτέρω την κλινική σημασία και έκβαση της λανθάνουσας HBV λοίμωξης, καθώς και την πιθανότητα της ενδονοσοκομειακής μετάδοσης της λανθάνουσας HBV λοίμωξης σε αυτή την ομάδα ασθενών (ΧΝΑ).

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Wong PN, et al. Hepatitis B virus infection in dialysis patients. *J Gastroenterol Hepatol* 2005; 20: 1641-51.
2. Fabrizi F, et al. Hepatitis B virus infection in haemodialysis: Recent discoveries. *J Nephrol* 2002; 15: 463-8.
3. Tsianos EV, et al. High frequency of antibodies to Hantaan virus and hepatitis C virus in chronic haemodialysis patients. Coincidence or cross-reaction? *J Intern Med* 1993; 234: 607-10.
4. Fabrizi F, et al. Hepatitis C infection and the patient with end-stage renal disease. *Hepatology* 2002; 36: 3-10.
5. Peces R, et al. Prospective analysis of the factors influencing the antibody response to hepatitis B vaccine in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 1997; 29: 239-45.
6. Docci D, et al. Immunogenicity of a recombinant hepatitis B vaccine in hemodialysis patients: A 2-year follow-up. *Nephron* 1992; 61: 352-3.
7. Schlauder GG, Mushahwar IK. Genetic heterogeneity of hepatitis E virus. *J Med Virol* 2001; 65: 282-92.
8. Dalekos GN, et al. Antibodies to hepatitis E virus among several populations in Greece: Increased prevalence in a haemodialysis unit. *Transfusion* 1998; 38: 589-95.
9. Psychogiou M, et al. Hepatitis E virus (HEV) infection in haemodialysis patients. The Multicentre Haemodialysis Cohort Study on Viral Hepatitis. *Nephrol Dial Transplant* 1996; 11: 1093-5.

10. Stefanidis I, et al. Hepatitis E virus antibodies in haemodialysis patients: an epidemiological survey in central Greece. *Int J Artif Organs* 2004; 27: 842-47.
11. Zervou EK, et al. Markers of hepatitis viruses and human T-lymphotropic virus types I/II in patients who have undergone open-heart surgery: evidence of increased risk for exposure to HBV and HEV. *Eur J Intern Med* 2005; 16: 424-8.
12. Fabrizi F, et al. Decreased serum aminotransferase activity in patients with chronic renal failure: impact on the detection of viral hepatitis. *Am J Kidney Dis* 2001; 38: 1009-15.
13. Yuki N, et al. Long-term histologic and virologic outcomes of acute self-limited hepatitis B. *Hepatology* 2003; 37: 1172-9.
14. Raimondo G, et al. Occult hepatitis B virus infection. *J Hepatol* 2007; 46: 160-70.
15. Georgiadou SP, et al. Occult hepatitis B virus infection in Greek patients with chronic hepatitis C and in patients with diverse non-viral hepatic diseases. *J Vir Hepat* 2004; 11: 358-65.
16. 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.
17. 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.
18. Cacciola I, et al. Occult hepatitis B virus infection in patients with chronic hepatitis C liver disease. *N Engl J Med* 1999; 341: 22-6.

19. Hui CK, et al. Fibrosis progression in chronic hepatitis C patients with occult hepatitis B co-infection. *J Clin Virol* 2006; 35:185-92.
20. 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: 1343-7.
21. 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.
22. 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.
23. Chemin I, et al. High incidence of hepatitis B infections among chronic hepatitis cases of unknown aetiology. *J Hepatol* 2001; 34: 447-54.
24. Berasain C, et al. Pathological and virological findings in patients with persistent hypertransaminasaemia of unknown aetiology. *Gut* 2000; 47: 429-35.
25. 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.
26. Georgiadou SP, et al. Occult hepatitis B virus infection in Greek patients with autoimmune liver diseases. *Liver International* 2009; 29: 434-42.
27. Minuk G, et al. Occult hepatitis B virus infection in a North American hemodialysis patient population. *Hepatology* 2004; 40: 1072-7.

28. Yakaryilmaz F, et al. Prevalence of occult hepatitis B and hepatitis C virus infections in Turkish hemodialysis patients. *Ren Fail* 2006; 28: 729-35.
29. Fabrizi F, et al. Occult hepatitis B virus infection in dialysis patients: a multicenter survey. *Aliment Pharmacol Ther* 2005; 21: 1341-7.
30. Goral V, et al. Prevalence of occult HBV infection in hemodialysis patients with chronic HCV. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 3420-4.
31. Besisik F, et al. Occult HBV infection and YMDD variants in hemodialysis patients with chronic HCV infection. *J Hepatol* 2003; 38: 506-10.
32. Siagris D, et al. Occult hepatitis B virus infection in hemodialysis patients with chronic HCV infection. *J Nephrol* 2006; 19: 327-33.
33. Kanbay M, et al. Is hepatitis C virus positivity a contributing factor to occult hepatitis B virus infection in hemodialysis patients? *Dig Dis Sci* 2006; 51:1962-6.
34. Stefos A, et al. Descriptive epidemiology of chronic hepatitis B by using data from a hepatitis registry in Central Greece. *Eur J Intern Med.* 2009; 20: 35-43.
35. Gatselis N, et al. Risk factors associated with HCV infection in semi-rural areas of Central Greece. *Eur J Intern Med* 2007; 18: 48-55.
36. Lopez Alcorocho JM, et al. Prevalence of hepatitis B, hepatitis C, GB virus C/hepatitis G and TT viruses in hemodialysis patients. *J Med Virol* 2001; 63: 103-7.
37. Rigopoulou E, 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: 81-85.

- 38.Reddy GA, et al. Prevalence of HBV and HCV dual infection in patients on hemodialysis. Indian J Med Microbiol 2005; 23: 41-3.
- 39.Almawi WY, et al. Seroprevalence of hepatitis C virus and hepatitis B virus among dialysis patients in Bahrain and Saudi Arabia. Transplant Procs 2004; 36: 1824-6.
- 40.Chandra M, et al. Prevalence of hepatitis B and hepatitis C virus infections in Indian patients with chronic renal failure. Intervirology 2004; 47: 374-6.
- 41.Vladutiu DS, et al. Infections with hepatitis B and C viruses in patients on maintenance dialysis in Romania and in former communist countries: yellow spots on a blank map? J Viral Hepat 2000; 7: 313-9.
- 42.Hochberger S, et al. Fully automated quantitation of Hepatitis B virus (HBV) DNA in human plasma by the COBAS AmpliPrep/COBAS TaqMan System. J Clin Virol 2006; 4: 373-80.
- 43.Sum SS, et al. Comparison of the COBAS TaqMan HBV test with the COBAS Amplicor monitor test for measurement of hepatitis B virus DNA in serum. J Med Virol 2005; 4: 486-90.
- 44.Gordillo RM, et al. Evaluation of the COBAS TaqMan 48 Real-Time PCR System for Quantitation of Hepatitis B Virus DNA. J Clin Microbiol 2005; 43: 3504-3507.
- 45.Weiss J, et al. Real time TaqMan PCR detection and quantitation of HBV genotypes A-G with the use of an internal quantitation standard. J Clin Virol 2004; 30: 86-93.

46. Fung J, et al. Low serum HBV DNA levels and development of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis B: a case-control study. *Alim Pharmacol Therap* 2007; 26: 377-82.
47. Toyoda H, et al. Prevalence of Low-Level Hepatitis B Viremia in Patients with HBV Surface Antigen-Negative Hepatocellular Carcinoma with and without Hepatitis C Virus Infection in Japan: Analysis by COBAS TaqMan Real-Time PCR. *Intervirology* 2007; 50: 241-4.
48. Rapti I, et al. Adding-on versus switching-to adefovir therapy in lamivudine-resistant HBeAg-negative chronic hepatitis B. *Hepatology* 2007; 45: 307-13.
49. Liu Y, et al. A genotype-independent real-time PCR assay for quantification of hepatitis B virus DNA. *J Clinical Microbiol* 2007; 45: 553-8.
50. Qutub MO, et al. Simplified PCR protocols for INNO-LiPA HBV Genotyping and INNO-LiPA HBV PreCore assays. *J Clinical Virol* 2006; 37: 218-21.
51. Chudy M, et al. Hepatitis B virus genotype G monoinfection and its transmission by blood components. *Hepatology* 2006; 44: 99-107.
52. Laperche S, et al. Expertise of laboratories in viral load quantification, genotyping, and precore mutant determination for hepatitis B virus in a multicenter study *J Clin Microbiol* 2006; 44: 3600-7.
53. Lindh M, Hannoun C. Dynamic range and reproducibility of hepatitis B virus (HBV) DNA detection and quantification by Cobas Taqman HBV, a real-time semiautomated assay. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 4251-4.
54. Ronsin C, et al. Evaluation of the COBAS AmpliPrep-total nucleic acid isolation-COBAS TaqMan hepatitis B virus (HBV) quantitative test and

- comparison to the VERSANT HBV DNA 3.0 assay. J Clin Microbiol 2006; 44: 1390-9.
55. Baumann RE, Lewinski MA. Evaluation of A COBAS TaqMan Hepatitis B Quantitative Assay. 19th Annual CVS & PASCV 2003.
56. Moutinho RS, et al. Low HBV-DNA levels in end-stage renal disease patients with HBeAg-negative chronic hepatitis B. J Med Virol 2006; 78: 1284-8.
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; 27: 591-607.
58. 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.
59. 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.
60. 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.
61. 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.
62. Hu KQ. Occult hepatitis B virus infection and its clinical implications. J Viral Hepat 2002; 9: 243-57.
63. Grotz W, et al. Occurrence and management of hepatitis B virus reactivation following kidney transplantation. Clin Nephrol 1998; 49: 385-8.
64. Kidd-Ljunqgren K, Simonsen O. Reappearance of hepatitis B 10 years after kidney transplantation. N Engl J Med 1999; 341: 127-8.

65. Larghi A, et al. Hepatitis B virus reactivation after kidney transplantation and new onset lymphoma. *J Clin Gastroenterol* 2003; 36: 276-80.
66. Wachs ME, et al. The risk of transmission of hepatitis B from HBsAg (-), HBcAg (+), HBIgM (-) organ donors. *Transplantation* 1995; 59: 230-4.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΚΑΙ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Ο ιός της ηπατίτιδας Β (HBV) θεωρείται μια σημαντική αιτία ηπατικής νόσου σε ασθενείς με τελικού σταδίου χρόνια νεφρική ανεπάρκεια που βρίσκονται σε θεραπεία υποκατάστασης. 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 τελικού σταδίου χρόνια νεφρική ανεπάρκεια που βρίσκονται σε θεραπεία υποκατάστασης παραμένει άγνωστη στη χώρα μας.

Στόχοι της παρούσης εργασίας ήταν:

- Ο προσδιορισμός της ιαιμίας από τον HBV με την χρήση πραγματικού χρόνου PCR σε όλη σχεδόν την ομάδα ασθενών που βρίσκονται σε θεραπεία υποκατάστασης για χρόνια νεφρική ανεπάρκεια στην περιφέρεια Θεσσαλίας.
- Η εκτίμηση της κλινικής σημασίας της ιαιμίας από τον HBV σε σχέση με δημογραφικά, επιδημιολογικά, βιοχημικά καθώς και με τους ορολογικούς δείκτες HBV, HCV, HEV, HDV, HAV και HTLV μεταξύ των HBV-DNA-θετικών και HBV-DNA-αρνητικών ασθενών με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια.

Συνολικά, 366 οροί ασθενών εξετάστηκαν για την παρουσία HBV-DNA με την χρήση πραγματικού χρόνου αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (real time PCR). Είκοσι από αυτούς (5.5%) ήταν θετικοί στο αντιγόνο επιφανείας της ηπατίτιδας Β (HBsAg).

Το HBV-DNA ανιχνεύθηκε σε 15 από τους 366 ασθενείς (4.1%). Η οροθετικότητα του HBV-DNA σχετίστηκε σημαντικά με την παρουσία των ορολογικών δεικτών HBsAg ($p=0.000$), anti-HBe ($p=0.000$) και anti-HBc

($p=0.003$) και αρνητικά με την παρουσία anti-HBs ($p=0.000$). Τρεις από τους 15 ασθενείς με HBV-ιαιμία ήταν HBsAg αρνητικοί (20%). Από τους υπόλοιπους 346 αρνητικούς-HBsAg ασθενείς, η συχνότητα της λανθάνουσας λοίμωξης από τον HBV ήταν 0.9%. Η ανίχνευση της λανθάνουσας HBV-DNA ιαιμίας δεν σχετίστηκε με κανέναν συγκεκριμένο ορολογικό δείκτη από παρελθούσα λοίμωξη B.

Το ποσοστό της HBV ιαιμίας είναι χαμηλότερο από τα αποτελέσματα του καθορισμένου ελέγχου HBsAg που θα αναμενόταν σε ασθενείς με νεφρική ανεπάρκεια τελικού σταδίου. Τα δημογραφικά, βιοχημικά και/ή ορολογικά στοιχεία των HBV-DNA θετικών ατόμων δεν βοηθούν στη διάκριση αυτών από τα HBV-DNA αρνητικά άτομα.

Συμπερασματικά, η πρώτη αυτή μελέτη σχεδόν ολόκληρου του δείγματος Ελλήνων ασθενών με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια που βρίσκονται σε θεραπεία υποκατάστασης στην περιφέρεια Θεσσαλίας, δεν ανέδειξε την παρουσία σε σημαντικό ποσοστό λανθάνουσας ηπατίτιδας B ως μεγάλο πρόβλημα υγείας στην Κεντρική Ελλάδα. Ίσως περισσότερη προσοχή και βαρύτητα για την πιθανή παρουσία λανθάνουσας ηπατίτιδας B θα πρέπει να δίνεται σε ασθενείς υποψήφιους για μεταμόσχευση νεφρού καθώς η ανοσοκαταστολή σε αυτή την περίπτωση μπορεί ενδεχόμενα να επηρεάσει την κατάσταση του ασθενή. Εντούτοις, περαιτέρω προοπτικές μελέτες μακρύτερης διάρκειας χρειάζονται, ώστε να αποσαφηνιστεί με μεγάλη ακρίβεια η κλινική σημασία και ο ρόλος της λανθάνουσας λοίμωξης από τον HBV σε ασθενείς με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια που βρίσκονται σε θεραπεία υποκατάστασης, καθώς και η πιθανότητα της ενδονοσοκομειακής μετάδοσης της λοίμωξης σε αυτούς τους ασθενείς.

SUMMARY AND CONCLUSIONS

Hepatitis B virus infection (HBV) is an important cause of liver disease in the end-stage renal failure patients (ESRF) treated by haemodialysis. Occult HBV infection is characterised by undetectable serum HBsAg but detectable HBV-DNA in serum or the liver. Occult HBV infection has been reported in patients with chronic liver disease but the existing data is limited in occult HBV infection among patients on long term haemodialysis.

So far, data on the prevalence and clinical significance of occult HBV infection in patients with end-stage renal failure (ESRF) patients treated by haemodialysis (HD) are missing in our country.

The aims of the present study were:

- To determine the HBV-viral load in a large sample of consecutive patients with end-stage renal failure (ESRF) patients treated by haemodialysis (HD) from Central Greece.
- To determine the prevalence of occult HBV infection in a large sample of consecutive patients with end-stage renal failure (ESRF) patients treated by haemodialysis (HD) from Central Greece. Additionally, the possible clinical impact of HBV-DNA positivity in these patients (either in the context of chronic or occult HBV infection) was assessed by comparing demographic, epidemiological, biochemical and HBV, HCV, HEV, HDV, HAV and HTLV serological markers between HBV-DNA-positive and -negative patients.

In total, 366 ESRF patients' sera were investigated for the presence of HBV-DNA by polymerase chain reaction (real time PCR). Twenty of them (5.5%) were serum hepatitis B surface antigen (HBsAg) positive.

HBV-DNA was detected in 15 out of the 366 patients with ESRF (4.1%). HBV-DNA seropositivity was strongly associated with HBsAg ($p=0.000$), anti-HBe ($p=0.000$) and anti-HBc presence ($p=0.003$) and negatively associated with anti-HBs presence ($p=0.000$). Three out of the 15 patients with HBV-viremia were HBsAg negative (20%). Of the remaining 346 HBsAg-negative ESRF patients, the prevalence of occult HBV-infection was 0.9%. Occult HBV-DNA detection was not associated with a specific marker of past HBV infection.

HBV viremia is lower than the results of standard HBsAg testing would suggest in ESRF patients. The demographic, biochemical, and/or serological features of HBV-DNA positive subjects do not help to distinguish these individuals from those who are HBV-DNA negative.

Even though, this cross-sectional study in HD patients could not demonstrate that occult HBV infection is a major health problem in Central Greece, close consideration and evaluation for the presence of occult HBV infection should be performed at least for those who are candidate for kidney transplantation, as the subsequent immunosuppression could have detrimental effects on the index patient. We believe that longitudinal studies are essential in an attempt to further clarify the clinical significance and outcome of occult HBV infection, as well as the possibility of nosocomial transmission of occult HBV infection in this setting.