

MEDICAL SCIENCE
R E V I E W
Medical Journal for Continuous Education

HEPATOLOGIA

2008
Rocznik

pod redakcją
dr hab. n. med. Urszuli Ołdakowskiej-Jedynak



Współautorzy:

Maciej Adamowicz (Warszawa)
Krzysztof A. Bardadin (Warszawa)
Małgorzata Borzym-Kluczyk (Białystok)
Vyacheslav Buko (Grodno)
Marta Bruczko (Białystok)
Sylwia Chojnowska (Białystok, Łomża)
Jarosław Czerwiński (Warszawa)
Piotr Czubkowski (Warszawa)
Jacek Dobryniewski (Choroszcz)
Danuta Dudzik (Białystok)
Ewa Dudkiewicz (Kielce)
Ewa Dutkiewicz (Kielce)
Robert Flisiak (Białystok)
Waldemar Halota (Bydgoszcz)
Marek Hartleb (Katowice)
Joanna Jabłońska (Warszawa)
Joanna Jakimowicz-Rudy (Białystok)
Anna Jankowska (Białystok)
Alina Kępka (Warszawa)
Małgorzata Knaś (Białystok)
Katarzyna Knaś-Karaszevska (Białystok)
Joanna Kozłowska (Warszawa)
Marek Krawczyk (Warszawa)
Dariusz Marek Lebensztejn (Białystok)
Oxana Lukivskay'a (Grodno)
Tadeusz Wojciech Łapiński (Białystok)
Beata Łągiewska (Warszawa)
Piotr Małkowski (Warszawa)
Justyna Marciniak (Białystok)
Joanna Musialik (Katowice)

Marek Niczyporuk (Białystok)
Katarzyna Niediołko-Bagniak (Białystok)
Urszula Ołdakowska-Jedynak (Warszawa)
Marek Pacholczyk (Warszawa)
Joanna Pawłowska (Warszawa)
Małgorzata Pawłowska (Bydgoszcz)
Leszek Pączek (Warszawa)
Michał Petelenz (Katowice)
Katarzyna Raczkowska (Białystok)
Krzysztof Raczkowski (Białystok)
Magdalena Rogalska-Płońska (Białystok)
Anna Romanowska (Białystok)
Maciej Sadowski (Olsztyn)
Krzysztof Simon (Wrocław)
Jadwiga Snarska (Białystok)
Jerzy Socha (Warszawa)
Piotr Socha (Warszawa)
Anna Stypułkowska (Białystok)
Sławomir Szajda (Białystok)
Sławomir Dariusz Szajda (Białystok)
Mikołaj Teisseyre (Warszawa)
Dariusz Wasiak (Warszawa)
Magdalena Waszkiewicz (Białystok)
Napoleon Waszkiewicz (Białystok)
Marta Wawrzynowicz-Syczewska (Szczecin)
Aldona Wierzbicka (Warszawa)
Róża Wiśniewska (Białystok)
Beata Zalewska-Szajda (Białystok)
Agnieszka Zaniewska (Białystok)
Krzysztof Zwierz (Białystok)

ISSN 1730-5039

© Index Copernicus International S.A., 2008

Publikowane dla:

Polskie Towarzystwo Hepatologiczne

ul. Nowogrodzka 59

02-006 Warszawa

tel. 022 502 16 42

www.medprakt.pl/pth

Adres Redakcji/Wydawca:

ul. Ustrzycka 11

02-141 Warszawa

tel. 022 868 12 65

e-mail: m.peksyk@medscimonit.com

Redaktor prowadzący: Małgorzata Pęksyk

e-mail: m.peksyk@medscimonit.com

Reklama: Agnieszka Klimaszewska

e-mail: a.klimaszewska@medscimonit.com

Administrator WWW: Piotr Krzyżaniak

Tłumaczenie: Anna Chmielnicka

Warunki prenumeraty:

Cena zeszytu: 40 PLN

Prosimy o składanie zamówień pod nr tel. 022 868 12 65

Indeksowane w Index Copernicus: 3,60

Nakład 500 egz.

Szanowni Czytelnicy, Koleżanki i Koledzy

Przekazujemy Państwu kolejne wydanie Hepatologii Medical Science Review, czasopismo edukacyjne, które zgodnie z kilkuletnią już tradycją kierowane jest do lekarzy różnych specjalności. Wydanie Hepatologii 2008 jest rezultatem doświadczenia i wiedzy polskich hepatologów.

Stanowi ono interdyscyplinarne rozwinięcie schorzeń i zespołów hepatologicznych.

Zgromadzenie wokół problematyki hepatologicznej i wspólne działanie specjalistów wielu dyscyplin medycznych otwiera szersze możliwości zintegrowanego myślenia i badań w zakresie nauk podstawowych, klinicznych i terapii oraz praktycznego wdrażania ich osiągnięć. Wspólnie mamy nadzieję, że to opracowanie znajdzie szerokie grono odbiorców i będzie przydatne w codziennej praktyce klinicznej. Jako redaktor naukowy składam serdeczne podziękowania wszystkim Autorom, Wydawcy oraz Wszystkim, którzy w sposób bezpośredni i pośredni przyczynili się do powstania wydania Hepatologii 2008.

*Redaktor wydania
Dr hab.n.med. Urszula Ołdakowska-Jedynak*

Zakażenia HBV po 40-latach od odkrycia „antygeny Australia”

HBV infections after 40 years from “Australia antigen” discovery

Waldemar Halota, Małgorzata Pawłowska

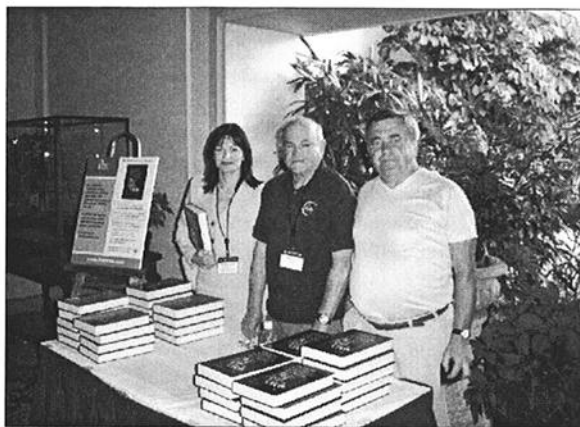
Katedra Chorób Zakaźnych i Hepatologii CM UMK, Bydgoszcz

Adres do korespondencji: Waldemar Halota, Katedra Chorób Zakaźnych i Hepatologii CM UMK, ul. Floriana 12, 85-838 Bydgoszcz, Polska, e-mail: kikchzak@cm.umk.pl

Wstęp

Mimo, iż młodym lekarzom nazwa „antygen Australia” może mówić niewiele, jego odkrycie stanowiło zasadniczy zwrot w konfrontacji z chorobą nazywaną wówczas „wszczepionym zapaleniem wątroby”. Te historyczne nazwy funkcjonują obecnie w praktyce lekarskiej jako wirusowe zapalenie wątroby typu B oraz powszechnie znany antygen HBs, oznaczający część płaszczyzny wirusa HBV.

Przyznanie Baruchowi Blumbergowi nagrody Nobla „za odkrycia dotyczące nowych mechanizmów pochodzenia i rozprzestrzeniania się chorób zakaźnych, w szczególności antygeny Australia”, unaocznia rangę przełomu w poznaniu wirusowego zapalenia wątroby typu B, jaki dokonał się przy udziale ponad 80-letniego już laureata (*na zdjęciu z autorami artykułu*) (Rycina 1). Na kanwie odkrycia z 1965 roku możliwy był wszelki postęp jaki dokonał się później w poznaniu tej choroby uważanej w wielu krajach za społeczną. Poza odkryciem antygeny HBs, zasługą Blumberga i zespołu było wprowadzenie techniki diagnozowania tych zakażeń oraz udział w opracowaniu metod czynnej immunizacji. Nie ma wątpliwości, iż mimo wielokierunkowego postępu w poznaniu zakażenia HBV dokonanego później przy udziale innych zespołów badawczych, Blumberg ze swymi pionierskimi odkryciami zawsze będzie numerem jeden w tej dziedzinie. Obecnie choroba przestaje być groźna dla nowych pokoleń w związku z szeroko zakrojonymi akcjami szczepień ochronnych. Również w Polsce to one zdecydowały o drastycznym obniżeniu zapadalności i zmarginelizowaniu rangi choroby wśród nie zakażonych. Atmosferę osiągnięć tego ponad 40-letniego okresu mać jednak dysproporcja pomiędzy postępem w zapobieganiu i ciągle mało satysfakcjonującym rozwojem możliwości farmakoterapii klinicznych następstw zakażenia HBV. Nie umiemy modyfikować historii naturalnej choroby tak, aby kończyła się na wcześniejszych etapach, ani satysfakcjonująco leczyć jej późnych postaci. W konsekwencji około 400 milionów ludzi na świecie należy do grupy wysokiego ryzyka zgonu z powodu chorób wątroby w przebiegu tego zakażenia, a każdego roku około miliona spośród nich umiera. Jeśli przyjąć, za prawdziwe szacunki wskazujące, iż dotychczas około 2 miliardów ludzi zostało



Rycina 1. Baruch Blumberg i autorzy artykułu, Kohala Coast 2005.

zakażonych HBV, to nie sposób oprzeć się podejrzeniu, że częstość niekorzystnych następstw w tych przypadkach jest wyższa niż wynika to z dostępnych podręczników.

Przewlekłe zapalenia, marskość i rak pierwotny wątroby etiologii HBV decydują obecnie o randze i aktualności omawianego problemu [1].

Wirus

HBV (Hepatitis B virus) posiadający podwójną kolistą nicię DNA, z rodziny Hepadna jest dobrze znany polskiemu lekarzowi. Do rodziny tej należą również wirusy zwierzęce WHV, GSHV i DHBV, których odkrycie otworzyło nową kartę badań nad patogenezą chorób wywoływanych przez HBV.

Na podstawie analizy sekwencyjnej izolatów HBV wyróżniono 8 genotypów tego wirusa, oznaczonych literami od A do H. Wykazują one co najmniej 8% różnice w budowie genomów, powstające w przebiegu długotrwałej ewolucji. Inne odmiany genetyczne – mutanty, w przeciwieństwie do genotypów powstają szybciej, pod wpływem takich czynników zewnętrznych jak szczepionki, immunoglobuliny czy leki i wykazują mniejsze różnice w zakresie budowy genomu. Pierwszym mutan-

tem był opisany w 1987 roku szczep u dzieci senegalskich, nazwany HBV-2. Zakażenie HBV w tym przypadku charakteryzuje się nieobecnością HBeAg oraz przeciwciał anti-HBc w surowicy krwi. Inny mutant opisany w 1990 roku nie wykazuje ekspresji HBsAg, co wiąże się ze zmianą aminokwasów w pozycjach 3, 53 i 210. W 1994 roku opisano w Singapurze mutant G 145R, występujący u dzieci zakażonych wertykalnie nie odpowiadających na szczepienie p/wzw B. Dotychczas opisano też ponad 30 mutacji kodonu pre-C – tzw. mutanty e-minus, wśród których dominują *precore stop codon* i podwójna mutacja *basal core promoter*. Pierwsza polega na zamianie guaniny na adeninę w pozycji 1896. Szczególnie często dochodzi do niej w rejonach Basenu Morza Śródziemnego i Azji, gdzie dotyczy 90% populacji HBeAg ujemnych. Ma to ścisły związek z dominującymi tam genotypami B, C i D. Budowa genotypu A, gdzie cytozyna w pozycji 1858 tworzy stabilną parę z guaniną w pozycji 1896 utrudnia powstawanie tej mutacji. Podobnie mutacja ta nie powstaje w genotypie F zawierającym sekwencję epsilon. Podwójną mutację *basal core promoter* T-1762/A-1764, której wynikiem jest obniżenie transkrypcji *precore/core* mRNA obserwuje się głównie u zakażonych genotypem C HBV [2].

Znaczenie odmian genotypowych HBV w historii naturalnej choroby jest mało poznane, często kontrowersyjne. Wskazuje się, że prawdopodobnie od genotypów HBV zależy przebieg historii naturalnej tego zakażenia jak też odpowiedź na leczenie przeciwwirusowe. Nie ma wątpliwości, że ewolucja HBV będzie postępowała, tym bardziej, że wraz z nowymi lekami wzrastać będzie presja farmakologiczna stymulująca te modyfikacje. Szczególnie interesujące będą rekombinacje między wariantami i mutantami HBV ze względu na ryzyko prowokowania nieznanych dotychczas zjawisk w przebiegu tych zakażeń.

Choroba

Wirusowe zapalenie wątroby typu B jest chorobą, której przebieg uwarunkowany jest sprawnością mechanizmów odpornościowych osoby zakażonej. Szczególnie widoczne jest to w przypadku noworodków i małych dzieci, u których wcale lub tylko wyjątkowo dochodzi do spontanicznego wyzdrowienia.

Relacje wirus–gospodarz są stosunkowo dobrze poznane w wyniku badań nad przedstawicielami z rodziny Hepadnaviridae oraz doświadczeń na myszach transgenicznym. Wykazano, że w patomechanizmie choroby podstawowe znaczenie ma aktywność limfocytów T oraz różne inne elementy odporności takie jak cytokiny, wolne rodniki i proteazy [3]. W konsekwencji mechanizmy odpornościowe czyli indywidualne cechy osoby zakażonej decydują o „wyleczeniu” lub liczbie zakażonych hepatocytów jak i o ustąpieniu lub utrzymywaniu się zakażenia.

Tradycyjnie wyróżnia się cztery fazy zakażenia HBV, od tolerancji immunologicznej poprzez fazę klirensu, niereplikacyjną lub niskiej replikacji do fazy reaktywacji. „Tolerancję” charakteryzuje wysoki poziom surowiczego HBV-DNA, obecność HBeAg oraz niewielka odpowiedź biochemiczna i histologiczna. Po różnie długim okresie, pojawia się aktywność biochemiczna choroby z jej wykładnikami histologicznymi oraz obniżeniem wirerii. Na granicy drugiej i trzeciej fazy dochodzi do serokonwersji w układzie HBe/anti-HBe i ustępowania zmian martwiczko-zapalnych. W większości przypadków choroba staje się nieaktywna do końca życia, aczkolwiek

u części, uznanych za zdrowych utrzymuje się minireplikacja HBV. U pozostałych może wystąpić czwarta faza z nawrotem choroby. Jest ona typowa dla okresu rekonstrukcji immunologicznej u osób zakażonych HBV leczonych immunosupresyjnie. Nawroty choroby występują zarówno u zakażonych szczepem dzikim HBV, jak i wariantem czy mutantem.

Faza immunotolerancji charakteryzuje zwłaszcza wertykalne zakażenia, w przebiegu których tylko wyjątkowo zdarza się spontaniczna serokonwersja w układzie HBeAg/anti-HBe. Może ona trwać wiele lat, aczkolwiek wbrew nazwie nie chroni przed następstwami klinicznymi. W konsekwencji nie brakuje publikacji o łagodnym przebiegu zakażenia HBV w tych przypadkach jak i przeciwnych temu pogładowi. Niewykluczone, iż decydujące znaczenie odgrywa tu czas od zakażenia. W jednej z niedawno opublikowanych prac amerykańskich wykazano, iż u ponad połowy spośród 76 chorych na pzw B młodych ludzi występowało postępujące włóknienie, z częstymi wykładnikami marskości wątroby. To kolejny dowód wysokiego ryzyka raka wątrobowo-komórkowego (HCC) w tej grupie zakażonych HBV [4].

U zakażonych HBV w wieku późniejszym, częściej występują objawowe przebiegi. Serokonwersja w układzie HBe odzwierciedla u nich zmniejszenie dynamiki choroby oraz stężenia wirerii. W ostatnim czasie coraz więcej badaczy przestaje ten etap historii naturalnej zakażenia HBV uważać za wyzdrowienie lub cel terapii, gdyż często nie łączy się on z ustąpieniem zakażenia. Zrozumienie tych zjawisk komplikuje wspomniana minireplikacja HBV u osób uznawanych do niedawna za wyleczone. W tych przypadkach izolowana obecność przeciwciał anti-HBc w surowicy krwi nie jest wykładnikiem wyzdrowienia, gdyż dotyczy ludzi zagrożonych hepatokarcynogenezą. Decyduje o tym integracja genomów wirusa i hepatocytą z syntezą HBx-DNA, sekwencja szczególnie często wykrywana u zakażonych mutantem e-minus.

W konsekwencji szczególnego znaczenia nabiera czułość stosowanych metod diagnostycznych, a też ostrożność w ocenie zejścia zakażenia.

Terapia

Głównym celem leczenia przewlekłych zapaleń wątroby typu B jest uzyskanie pełnej odpowiedzi terapeutycznej z eliminacją zakażenia HBV. Oznacza to w praktyce obniżenie wirerii HBV do wartości niewykrywalnych czułymi metodami diagnostycznymi oraz trwałe ustąpienie biochemicznych i histologicznych wykładników uszkodzenia wątroby. Szczególnie miejsce w tych rozważaniach zajmuje serokonwersja w układzie HBeAg/anti-HBe do niedawna wskazywana za cel terapii. W świetle ostatnich doniesień wiadomo, że jest ona konsekwencją obniżenia się wirerii HBV poniżej 10^5 kopii/ml, co wskazuje, że raczej jest to etap pośredni w drodze do celu. Brakuje łatwego kryterium potwierdzenia eliminacji zakażenia HBV. Dotychczas jedynym pewnym jest ustąpienie kluczowego wykładnika zakażenia jakim jest cccDNA (covalently, closed, circular DNA). Sekwencja ta powstaje w jądrze zakażonej komórki po połączeniu się wirusowego DNA z chromatyną. Często nazywana minichromosomem stanowi matrycę do produkcji progenomowego HBV-RNA, niezbędnego do produkcji białek czynnościowych i strukturalnych wirusa.

W leczeniu zakażeń HBV stosuje się interferony alfa oraz analogi nukleozydów i nukleotydów. Działanie przeciwwiru-

sowe interferonów polega na upośledzeniu translacji wirusowego mRNA, blokowaniu syntezy i elongacji białek, oraz hamowaniu procesu dojrzewania wirionów. Nowe postaci tych cytokin (interferony pegylowane) wykazują wyższą skuteczność od rekombinowanych [5,6].

Prowadzi się badania nad szczepionką terapeutyczną, immunizowaniem komórek dendrytycznych, oraz zastosowaniem interleukin 12 i 18 do stymulowania aktywności limfocytów klasy Th1. Nadal w trakcie badań klinicznych znajduje się interferon gamma. Niemniej zaawansowane badania prowadzone są w celu wykorzystania znajomości cyklu życiowego wirusa dla potrzeb terapeutycznych.

Analogi nukleozydowe i nukleotydowe blokują replikację HBV poprzez hamowanie odwrotnej transkryptazy. Trwała odpowiedź występuje tu stosunkowo rzadko, nawet w przypadkach leczenia przedłużonego do kilku lat. Nie ma wątpliwości, iż leczenie to u chorych na marskość lub po przeszczepieniu wątroby opóźnia postęp choroby. Historycznie na plan pierwszy wysuwa się lamiwudyna stosowana od wielu lat w praktyce klinicznej. Zdobyła ona uznanie klinicystów ze względu na zdolność tłumienia replikacji HBV i prawie całkowity brak działań niepożądanych. Problemem jest natomiast duża łatwość generowania szczepów opornych (YMDD), które unicestwiają jej wartość terapeutyczną. W przeciwieństwie do lamiwudyny, adefowir, czy telbivudyna wywołują lekooporność rzadziej; najmniejszą zdolność generowania oporności wykazuje entekawir [7–9]. W praktyce klinicznej w najbliższym czasie znajdą również zastoso-

wanie emtrycytabina (FTC – analog cytozyny), analog nukleotydowy tenofowir i inne. Leki przyjmowane doustnie, zwłaszcza stosowane w schematach wielolekowych stanowią poważną perspektywę terapeutyczną. Leczenie skojarzone zmniejsza ryzyko oporności, wzmacniając efekt przeciwwirusowy. Zaletą rozważanych tu leków jest też wysokie bezpieczeństwo i tolerancja.

Autorzy nie podjęli w tym artykule problemu zabiegowych metod leczenia tych stanów chorobowych, prezentując pogląd, iż przeszczepienie wątroby jest aktem rozpacz i beznadziei medycyny zachowawczej, dowodem niedostatecznego postępu farmakoterapii. Od niej bowiem, nie transplantologii, zależy kolejny przełom w zwalczaniu zakażenia HBV.

Perspektywy

Nie ma wątpliwości, iż skuteczność leczenia chorych na pzw B będzie się poprawiać. Coraz częściej próbuje się wprowadzać kombinacje leków na wzór wielolekowej terapii antyretrowirusowej. Zwiększająca się liczba pochodnych nukleozydowych i nukleotydowych skutecznych wobec HBV będzie tym próbom sprzyjać. Niewykluczone, że „mieszanką” z wyboru będzie łączenie tych leków z immunomodulatorami. W tym kontekście problemem otwartym jest zastosowanie szczepionek terapeutycznych. Kilka polskich ośrodków brało ostatnio udział w tego typu badaniach [10]. W konsekwencji nie tracą na aktualności poszukiwania zarówno skutecznych immunomodulatorów, jak i leków o dominującym działaniu przeciwwirusowym.

Piśmiennictwo:

1. Halota W, Pawłowska M: Zakażenia wirusami hepatotropowymi. *Med Sci Rev Hepatologia*, 2001; 43–57
2. Pawłowska M, Halota W: Charakterystyka i znaczenie kliniczne odmian genetycznych HBV. *Med Sci Rev Hepatologia*, 2004; 43–46
3. Pawłowska M, Halota W: Chemokiny i cytokiny jako czynniki uszkodzenia i regeneracji wątroby. *Med Sci Rev Hepatologia*, 2006; 34–35
4. Pawłowska M, Halota W: Charakterystyka zakażeń HBV i HCV u dzieci. *Med Sci Rev Hepatologia*, 2006; 17–20
5. Marcellin P, Lau GKK i wsp: Peginterferon Alfa-2a Alone, Lamivudine Alone, and the Two in Combination in Patients with HBeAg – Negative Chronic hepatitis B. *N Engl J Med*, 2004; 351(12): 1206–17
6. Pawłowska M, Halota W: Pegylowany IFN-alfa w leczeniu przewlekłego zapalenia wątroby typu B u pacjentów z nieobecny antygenem HBe. *Przegl Epidemiol*, 2006; 60(1): 105–8
7. Halota W, Pawłowska M: Entekawir – nowa opcja w leczeniu przewlekłego zapalenia wątroby typu B. *Med Sci Rev Hepatologia*, 2006; 15–16
8. Lai CHL, Shouval D, Halota W i wsp: Entecavir versus Lamivudine for Patients with HBeAg-Negative Chronic Hepatitis B. *N Engl J Med*, 2006; 354: 1011–20
9. Chang TT, Gish R, Halota W i wsp: A comparison of Entecavir and Lamivudine for HBeAg-Positive Chronic Hepatitis B. *N Engl J Med*, 2006; 354: 1001–10
10. Schneider J, Halota W, Delic D i wsp: A novel primeboost therapeutic vaccine induces sustained seroconversion at 52 weeks in patients with HBeAg+ chronic hepatitis B: a phase IIa clinical trial. *J Hepatol*, 2006; 44(Suppl.2): S277

Utajone zakażenie HBV

Occult HBV infection

Joanna Kozłowska, Joanna Jabłońska

Warszawski Uniwersytet Medyczny, Klinika Hepatologii i Nabytych Niedoborów Immunologicznych, Warszawa

Summary: The persistence of hepatitis B virus genome in HBsAg-negative individuals, termed occult HBV infection, has been a matter of discussion for years, but now it is supported by many publications. Occult HBV infection may be an important factor in different clinical situations, including transmission of the infection, reactivation of hepatitis B during immunosuppression and development of hepatocellular carcinoma. Several aspects of this occult infection, like its role in fibrosis progression, chronic inflammatory reaction or evolution to „cryptogenic” cirrhosis remain unclear, but the existing reports enhance the importance of this medical problem, which needs much more research.

Słowa kluczowe: zapalenie wątroby typu B • utajone zakażenie HBV • HBV-DNA • HBsAg

Key words: hepatitis B • occult HBV • HBV genome • HBsAg-negative

Adres do korespondencji: Joanna Kozłowska, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Klinika Hepatologii i Nabytych Niedoborów Immunologicznych, ul. Wolska 37, 01-201 Warszawa, Polska, e-mail: askak1@o2.pl

Wstęp

O utajonym zakażeniu HBV (occult HBV infection) mówimy wtedy, gdy u pacjenta z niewykrywalnym antygenem powierzchniowym HBV w surowicy (HBsAg) stwierdza się obecność HBV DNA w tkance wątrobowej, a niekiedy również w surowicy.

Istnienie takiej postaci zakażenia stwierdzono wielokrotnie w różnych sytuacjach klinicznych, a także na modelach zwierzęcych. Po raz pierwszy opisano przypadek utajonego zakażenia HBV w 1978 r., w wyniku przetoczenia krwi od pacjenta z niewykrywalnym HBsAg, ale z obecnymi przeciwciałami anti-HBc [1].

Utajone zakażenie HBV charakteryzuje się zwykle bardzo niskim poziomem HBV DNA w surowicy (często poniżej 10^4 kopii/ml), w części przypadków niewykrywalnym. U wszystkich pacjentów stwierdza się obecność HBV DNA w tkance wątroby [2]. Ilość HBV DNA w wątrobie, nie jest u tych osób mniejsza niż u chorych z wykrywalnym HBsAg [3]. Zdolność do replikacji i transkrypcji wirusowej uodporniono poprzez wykazanie obecności HBV RNA i cccDNA w wątrobie [4].

Ciekawym aspektem tego zagadnienia jest fakt, że u ponad 20% osób z utajonym zakażeniem HBV nie wykrywa się żadnych markerów serologicznych zakażenia HBV [5]. U pozostałych osób stwierdza się przeciwciała anti-HBc i/lub anti-HBs.

Diagnostyka

Najbardziej właściwą metodą rozpoznawania utajonego zakażenia HBV jest badanie wątrobowego DNA. Wobec ograniczonej dostępności próbek materiału tkankowego, niejednokrotnie rozpoznanie utajonego zakażenia HBV ustala się na podstawie badania jedynie surowicy. W publikowanych pracach metody identyfikacji HBV DNA różnią się znacznie pod względem czułości i specyficzności, dlatego nie w pełni są porównywalne. Nie dysponujemy dotychczas komercyjnymi testami, umożliwiającymi badania nad utajonymi zakażeniami wirusowymi. W chwili obecnej „złotym standardem” jest analiza ekstraktów DNA typu „home made”, wykonana techniką „nested”-PCR, z użyciem primerów specyficznych dla co najmniej 3 różnych regionów genomu HBV. Wynik pozytywny dla co najmniej 2 różnych regionów może być uznany za potwierdzenie utajonego zakażenia HBV [6].

Próby wyjaśnienia patogenezy

Istotnym etapem w cyklu życiowym wirusa HBV jest konwersja genomu wirusowego w cccDNA (covalently closed circular DNA). Cząstka ta, umiejscawiająca się w jądrze komórki wątrobowej jako stabilny epizom, służy za matrycę do transkrypcji wirusa. HBV cccDNA charakteryzuje się dużą trwałością, co w połączeniu z długim okresem półtrwania komórki wątrobowej tłumaczyć może trudności w eradykacji wirusa.

Przyczyna zanikania HBsAg w surowicy i niejednokrotnie serokonwersji do anti-HBs, pomimo utrzymywania się w wątrobie episomalnych genomów wirusa, zdolnych do replikacji, pozostaje niewyjaśniona. Poszukiwania mutacji, prowadzących do zahamowania ekspresji genu S u tych pacjentów, okazały się bezowocne [7]. Infekcja utajona wydaje się być skutkiem silnego zahamowania replikacji i ekspresji genów wirusa, jednak bez efektu całkowitej eradykacji wirusa. Zostaje ustalona pewnego rodzaju równowaga pomiędzy wirusem a układem immunologicznym gospodarza. Wykazano między innymi istotne znaczenie cytokin takich jak TNF- α i interferon- γ w hamowaniu ekspresji genów HBV [8]. Dowodem na udział układu immunologicznego w rozwoju utajonego zakażenia HBV jest możliwość pełnej reaktywacji zakażenia w sytuacji immunosupresji.

Modele zwierzęce

Szczegółowe badania występowania utajonego zakażenia wirusem zapalenia wątroby przeprowadzono na modelach zwierzęcych: WHV u świszaków amerykańskich i GSHV u wiewiórek ziemnych. Są to wirusy z rodziny Hepadnaviridae, najbliżej spokrewnione z HBV. Wykazano, że zakażenie WHV pozostaje u świszaków w postaci utajonej do końca życia, jako następstwo przebytego ostrego zapalenia wątroby [9]. Zakażenie to przenosi się wertykalnie z matki na dziecko. Zostało również udokumentowane, że utajona obecność wirusa, wykrywalna w wątrobie oraz w tkance limfatycznej, przyczynia się do rozwoju pierwotnego raka wątroby u tych zwierząt [10].

Występowanie

Dane dotyczące częstości występowania utajonego zakażenia HBV różnią się znacznie. Wynika to z różnych metod rozpoznawania tego zakażenia. Prawdopodobnie częstość występowania utajonego HBV w różnych częściach świata odzwierciedla endemiczność zakażeń w danym regionie.

Wśród dawców krwi, w krajach wysoko rozwiniętych występowanie utajonego zakażenia HBV jest rzadkie, natomiast w krajach rozwijających się jest znacznie częstsze [11]. Szczególnie często utajone HBV stwierdza się u pacjentów zakażonych HCV, np. aż u 30% zakażonych HCV w basenie Morza Śródziemnego [12], i częściej jeszcze wśród mieszkańców Dalekiego Wschodu [13]. Oprócz pacjentów z przewlekłymi chorobami wątroby, większe ryzyko występowania utajonego zakażenia stwierdzono również u chorych z hemofilią – do 50% [14] oraz u narkomanów – do 45% [15]. Duże rozbieżności występują wśród danych dotyczących pacjentów przewlekle hemodializowanych oraz wśród zakażonych HIV.

Należy podkreślić, że nie u wszystkich chorych z przeciwciałami anti-HBc wykrywa się utajone zakażenie HBV. Rzadko dotyczy to dawców krwi, częściej pacjentów z towarzyszącą przewlekłą patologią wątroby.

Transmisja zakażenia

Osoby z utajonym zakażeniem HBV mogą stanowić źródło zakażenia w przypadku przetoczenia krwi [16]. U biorców rozwija się wtedy typowy obraz kliniczny ostrego zapalenia wątroby typu B. Zostało to potwierdzone eksperymentalnie na szympanсах [17].

Wykazano również możliwość transmisji zakażenia HBV przez transplantację, szczególnie wątroby, od dawcy z utajonym zakażeniem HBV. Ryzyko zakażenia biorcy wątroby od dawcy anti-HBc+ ocenia się na 17–94% [18]. W przypadku seronegatywnych dawców z utajonym zakażeniem HBV – ryzyko to nie zostało dotychczas określone.

Reaktywacja utajonego zakażenia HBV

U pacjentów z utajonym zakażeniem HBV, poddanych immunosupresji (z powodu choroby rozrostowej, zakażenia HIV, chemioterapii lub po transplantacji), może dojść do reaktywacji zakażenia, z nasileniem replikacji wirusa i wystąpieniem zaostrzenia klinicznego choroby wątroby, nierzadko w postaci nadostrego zapalenia wątroby [19,20]. U części tych chorych następuje również reserokonwersja, w postaci zanikania przeciwciał anti-HBs i pojawiania się antygenu HBsAg [21]. Wzrost stężenia HBV DNA wyprzedza o kilka do kilkunastu tygodni objawy kliniczne zapalenia wątroby [22]. Skłania to do rozważenia wskazań do zastosowania profilaktycznego leczenia przeciwwirusowego w trakcie leczenia immunosupresyjnego u chorych z utajonym zakażeniem HBV (podobnie jak u pacjentów z jawnym zakażeniem HBV), lub regularnego monitorowania poziomu HBV DNA w trakcie stosowania immunosupresji u takich pacjentów. Szerszych badań wymaga dokładniejsze określenie częstości, a więc i ryzyka wystąpienia reaktywacji utajonego zakażenia HBV w przebiegu immunosupresji.

Utajone zakażenie HBV a przewlekła choroba wątroby

Nie jest jasne, w jakim stopniu utajone zakażenie HBV przyczynia się do klinicznych objawów choroby wątroby. Wśród pacjentów z kryptogenną chorobą wątroby w Europie wykrywa się około 20% przypadków utajonego zakażenia HBV. Część z tych pacjentów ma marskość wątroby [23].

Wykazano, że u osób, które wyzdrowiały po przebyciu ostrego wirusowego zapalenia wątroby typu B, może nadal utrzymywać się zakażenie HBV w formie utajonej, często nie powodując żadnych objawów klinicznych ani nieprawidłowości biochemicznych [24], podobnie jak to opisano u świszaków amerykańskich. Te dane skłaniają do przypuszczenia, że zakażenie utajone nie prowadzi do poważnego uszkodzenia wątroby u pacjentów immunokompetentnych. Może jednak sprzyjać postępowi choroby wątroby w przypadku istnienia dodatkowego czynnika uszkadzającego wątrobę, jak np. u chorych zakażonych HCV.

Z drugiej strony, istnieje szereg doniesień, które wskazują, że utajone zakażenie HBV może być związane z progresją włókienia i rozwojem marskości wątroby [23,25]. Wyjaśnieniem tych zróżnicowanych wyników badań może być różna długość okresu trwania jawnego zakażenia HBV. Do serokonwersji w układzie HBs może dojść już w okresie zaawansowanej choroby wątroby, również w okresie marskości. U takich pacjentów stwierdza się duże zmiany w wątrobie, powstałe w okresie jawnego zapalenia wątroby typu B, które po pewnym czasie dopiero przeszło w zakażenie utajone. Natomiast u osób, u których eliminacja HBsAg następuje we wczesnym okresie choroby, prawdopodobnie nie dochodzi do znacznego uszkodzenia wątroby.

Dalszych badań wymaga ocena naturalnego przebiegu utajonego zakażenia HBV w dłuższym okresie czasu. Niektórzy

autorzy sugerują możliwość istnienia zaostrzeń w naturalnym przebiegu tego zakażenia, gdzie okresom nasilonej replikacji wirusa towarzyszyć mogą przejściowe wzrosty poziomu aminotransferaz [26].

Utajone zakażenie HBV u chorych z zakażeniem HCV

Najwięcej doniesień dotyczących utajonego zakażenia HBV dotyczy grupy pacjentów zakażonych HCV. Niezupełnie jasne jest, dlaczego u tak wielu chorych z tej grupy (około 30% lub więcej) stwierdza się koinfekcję w postaci utajonego HBV. Częściowo jest to związane z tym, że do zakażenia tymi wirusami dochodzi drogą parenteralną. Wiadomo również, że zakażenie HCV hamuje replikację HBV, stąd częstsza w przypadku koinfekcji z HCV postać utajona zakażenia HBV niż postać jawna.

Wielu autorów postuluje, że współistnienie utajonego zakażenia HBV przyspiesza progresję choroby u zakażonych HCV [12,27,28], jednak nie wszyscy potwierdzają tę zależność [29,30]. W części prac sugerowano niekorzystny wpływ utajonego HBV na skuteczność leczenia interferonem chorych z HCV [31,32], zagadnienie to wymaga jednak szerszych badań.

Utajone zakażenie HBV a pierwotny rak wątrobowo-komórkowy (HCC)

Szczególnie ważnym aspektem utajonego zakażenia HBV jest silny związek z występowaniem pierwotnego raka wątroby (HCC) [2,33,34]. Zostało to udowodnione również na modelach zwierzęcych, gdzie wykazano wysokie ryzyko rozwoju raka wątroby nawet u osobników po przebytych w przeszłości samogojącym ostrym wirusowym zapaleniu wątroby [10]. Badania wykazują, że mechanizmy karcinogenezy wątrobowej w przebiegu utajonego zakażenia HBV pozostają takie same, jak w zakażeniu jawnym [34].

Częstość występowania utajonego zakażenia HBV wśród pacjentów z HCC wynosi 22–87% [35,34]. Wewnątrzwątrobowe HBV DNA u tych chorych występuje zarówno w formie episomalnej, jak i zintegrowanej. Częstsze występowanie utajonego HBV wśród pacjentów z HCC niż u tych z przewlekłym zapaleniem wątroby czy marskością potwierdza teorię, że utajone HBV jest istotnym czynnikiem sprzyjającym rozwojowi tego nowotworu.

Rekomendacje do badań w kierunku utajonego zakażenia HBV

Z powodu braku komercyjnych testów w kierunku utajonego zakażenia HBV, badania tego rodzaju wykonuje się

głównie dla celów naukowych. Nie istnieją zatem oficjalne zalecenia, u jakich pacjentów należy poszukiwać tego zakażenia. Analizując dane dotyczące utajonego zakażenia HBV można wyszczególnić grupy pacjentów, u których rozpoznanie tej choroby miałoby szczególnie istotne znaczenie:

- chorzy z czynnikami ryzyka zakażenia HBV (szczególnie anty-HBc+), u których planowane jest leczenie immunosupresyjne,
- chorzy z niewyjaśnioną przyczyną choroby wątroby,
- chorzy zakażeni HCV, u których utrzymują się objawy uszkodzenia wątroby pomimo skutecznego leczenia przeciwwirusowego,
- dawcy narządów anty-HBc+.

Chorzy z przewlekłym zapaleniem wątroby typu B do końca życia powinni być okresowo monitorowani w kierunku HCC, nawet po serokonwersji w układzie HBs.

Wnioski

Utajone zakażenie HBV jest zjawiskiem związanym z trwałą obecnością wirusowego cccDNA w wątrobie i z silną supresją replikacji wirusa oraz ekspresji jego genów.

Potwierdzenie tego zakażenia wymaga użycia bardzo czułych i specyficznych technik molekularnych.

Zahamowanie replikacji wirusa może nie być trwałe – reaktywacja może powodować objawy ostrego zapalenia wątroby lub nawet niewydolności wątroby.

Długotrwałe zakażenie może wywoływać przewlekłe zmiany w wątrobie, zwykle łagodne, czasem jednak stwierdza się progresję do marskości wątroby, zwłaszcza przy współistnieniu innych czynników uszkadzających wątrobę.

Pomimo stanu utajenia wirus HBV zachowuje swoje pełne właściwości pro-onkogenne, stanowiąc istotny czynnik ryzyka rozwoju HCC.

Utajone zakażenie HBV powinno się brać pod uwagę szczególnie u pacjentów poddawanych immunosupresji (ze względu na ryzyko reaktywacji) i u pacjentów z marskością wątroby (ze względu na ryzyko HCC).

Problem utajonego zakażenia HBV wymaga szerokich badań epidemiologicznych, molekularnych i przekrojowych perspektywnych badań klinicznych.

Piśmiennictwo:

1. Hoofnagle JH, Seeff LD, Bales ZB, Zimmerman HJ: Type B hepatitis after transfusion with blood containing antibody to hepatitis B core antigen. *N Engl J Med*, 1978; 298: 1379–83
2. Brechot C, Thiers V, Kremsdorf D i wsp: Persistent hepatitis B surface antigen: clinically significant or purely "occult"? *Hepatology* (Baltimore, MD), 2001; 34: 194–203
3. Werle-Lapostolle B, Bowden S, Locarnini S i wsp: Persistence of cccDNA during the natural history of chronic hepatitis B and decline during adefovir dipivoxil therapy. *Gastroenterology*, 2004; 126: 1750–58
4. Mason AL, Xu L, Guo L i wsp: Molecular basis for persistent hepatitis B virus infection in the liver after clearance of serum hepatitis B surface antigen. *Hepatology*, 1998; 27(6): 1736–42
5. Torbenson M, Thomas DL: Occult hepatitis B. *Lancet Infect Dis*, 2002; 2: 479–86
6. Raimondo G, Pollicino T, Cacciola I, Squadrito G: Occult hepatitis B virus infection. *J Hepatol*, 2007; 46: 160–70
7. Hou J, Wang Z, Cheng J i wsp: Prevalence of naturally occurring surface gene variants of hepatitis B virus in nonimmunized surface antigen-negative Chinese carriers. *Hepatology* (Baltimore, MD), 2001; 34: 1027–34
8. Guidotti LG, Rochford R, Chung J i wsp: Viral clearance without destruction of infected cells during acute HBV infection. *Science*, 1999; 284: 825–29

9. Michalak TI, Pardoe IU, Coffin CS i wsp: Occult lifelong persistence of infectious hepatitis virus and residual liver inflammation in woodchucks convalescent from acute viral hepatitis. *Hepatology* (Baltimore, MD), 1999; 29: 928–38
10. Korba BE, Wells FV, Baldwin B i wsp: Hepatocellular carcinoma in woodchuck hepatitis virus-infected woodchucks: presence of viral DNA in tumor tissue from chronic carriers and animals serologically recovered from acute infections. *Hepatology* (Baltimore, MD), 1989; 9: 461–70
11. Allain JP: Occult hepatitis B virus infection: implications in transfusion. *Vox Sanguinis*, 2004; 86: 83–91
12. Cacciola I, Pollicino T, Squadrito G i wsp: Occult hepatitis B virus infection in patients with chronic hepatitis C liver disease. *N Engl J Med*, 1999; 341: 22–26
13. Koike K, Kobayashi M, Gondo M i wsp: 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
14. Toyoda H, Hayashi K, Murakami Y i wsp: Prevalence and clinical implications of occult hepatitis B viral infection in hemophilia patients in Japan. *J Med Virol*, 2004; 73: 195–99
15. Torbenson M, Kannangai R, Astemborski J i wsp: High prevalence of occult hepatitis B in Baltimore injection drug users. *Hepatology* (Baltimore, MD), 2004; 39: 51–57
16. Larsen J, Hetland G, Skaug K: Posttransfusion hepatitis B transmitted by blood from a hepatitis B surface antigen-negative hepatitis B virus carrier. *Transfusion*, 1990; 30: 431–32
17. Thiers V, Nakajima E, Kremsdorf D i wsp: Transmission of hepatitis B from hepatitis B-seronegative subjects. *Lancet*, 1988; 2: 1273–76
18. Samuel D, Forns X, Berenguer M i wsp: Report of the monothematic EASL conference on liver transplantation for viral hepatitis (Paris, France, January 12–14, 2006). *J Hepatol*, 2006; 45: 127–43
19. Hoofnagle JH, Dusheiko GM, Schafer DF i wsp: Reactivation of chronic hepatitis B virus infection by cancer chemotherapy. *Ann Intern Med*, 1982; 96: 447–49
20. Marcellin P, Giostra E, Martinot-Peignoux M i wsp: Redevelopment of hepatitis B surface antigen after renal transplantation. *Gastroenterology*, 1991; 100: 1432–34
21. Onozawa M, Hashino S, Izumiyama K i wsp: Progressive disappearance of anti-hepatitis B surface antigen antibody and reverse seroconversion after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in patients with previous hepatitis B virus infection. *Transplantation*, 2005; 79: 616–19
22. Hui CK, Cheung WW, Zhang HY i wsp: Kinetics and risk of *de novo* hepatitis B infection in HBsAg-negative patients undergoing cytotoxic chemotherapy. *Gastroenterology*, 2006; 131: 59–68
23. Chemin I, Trépo C: Clinical impact of occult HBV infections. *J Clin Virol*, 2005; 34: S15–21
24. Michalak TI, Pasquinelli C, Guilhot S, Chisari FV: Hepatitis B virus persistence after recovery from acute viral hepatitis. *J Clin Invest*, 1994; 93: 230–39
25. Zhang YY, Hansson BG, Kuo LS i wsp: 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* (Baltimore, MD), 1993; 17: 538–44
26. Kannangai R, Vivekanandan P, Netski D i wsp: Liver enzyme flares and occult hepatitis B in persons with chronic hepatitis C infection. *J Clin Virol*, 2007; 39: 101–5
27. Villa E, Grotto A, Buttafoco P i wsp: Evidence for hepatitis B virus infection in patients with chronic hepatitis C with and without serological markers of hepatitis B. *Digest Diseases Sci*, 1995; 40: 8–13
28. Chen YC, Sheen IS, Chu CM, Liaw YF: Prognosis following spontaneous HBsAg seroclearance in chronic hepatitis B patients with or without concurrent infection. *Gastroenterology*, 2002; 123: 1084–89
29. Nirei K, Kaneko M, Moriyama M, Arakawa Y: The clinical features of chronic hepatitis C are not affected by the coexistence of hepatitis B virus DNA in patients negative for hepatitis B surface antigen. *Intervirology*, 2000; 43(2): 95–101
30. Hui CK, Lau E, Wu H i wsp: Fibrosis progression in chronic hepatitis C patients with occult hepatitis B co-infection. *J Clin Virol*, 2006; 35: 185–92
31. Fukuda R, Ishimura N, Niigaki M i wsp: 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
32. Sagnelli E, Coppola N, Scolastico C i wsp: Isolated anti-HBc in chronic hepatitis C predicts a poor response to interferon treatment. *J Med Virol*, 2001; 65: 681–87
33. Brechot C: Pathogenesis of hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma: old and new paradigms. *Gastroenterology*, 2004; 127: S56–61
34. Pollicino T, Squadrito G, Cerenzia G i wsp: Hepatitis B virus maintains its pro-oncogenic properties in the case of occult HBV infection. *Gastroenterology*, 2004; 126: 102–10
35. Paterlini P, Gerken G, Nakajima E i wsp: 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: 80–85

Aktualne standardy leczenia chorób wątroby etiologii HCV

Current standards of treatment of chronic hepatitis C

Waldemar Halota, Małgorzata Pawlowska

Katedra i Klinika Chorób Zakaźnych i Hepatologii CM UMK, Bydgoszcz

Summary: Authors present comments for current standards of treatment of acute and chronic hepatitis C on the base of viral kinetics dynamic during therapy and types of treatment response.

They explain terms of rapid and early (complete and partial) viral response, breakthrough, relapses and their role as prognostic factors of treatment efficacy.

Słowa kluczowe: ostre wirusowe zapalenie wątroby typu C • przewlekłe zapalenie wątroby typu C • leczenie

Key words: acute viral hepatitis C • chronic hepatitis C • treatment

Adres do korespondencji: Waldemar Halota, Katedra Chorób Zakaźnych i Hepatologii CM UMK, ul. Floriana 12, 85-838 Bydgoszcz, Polska, e-mail: kikchzak@cm.umk.pl

Wstęp

Schematy dotyczące leczenia chorób wątroby wywołanych zakażeniami HCV są systematycznie modyfikowane. Ich podstawą jest coraz lepsza znajomość kinetyki wirerii w przebiegu skutecznych terapii, większa wiedza na temat różnicowania tych chorób oraz minimalizowania działań niepożądanych. W centrum zainteresowania badaczy znajduje się też czas terapii niezbędny dla uzyskania optymalnych wyników. Skracany, przyspiesza poprawę jakości życia chorych, wydłużany zwiększa szansę na wyleczenie osób, które negatywizację wirerii HCV uzyskują po 24 tygodniach leczenia [1,2].

Zasady ogólne

Ustalono precyzyjne kryteria różnicowania ostrego i przewlekłego zapalenia wątroby typu C, co pozwala na unikanie błędów w wyborze opcji terapeutycznej. Nie ma wątpliwości, iż liczba ostrych wzv typu C jest wyolbrzymiana, czemu sprzyja brak charakterystycznego obrazu choroby. Jedynym obiektywnym kryterium rozpoznania nowego zakażenia HCV jest pojawienie się HCV RNA w surowicy krwi w okresie 2 do 14 dni po ekspozycji wraz z towarzyszącym wzrostem aktywności AlAT.

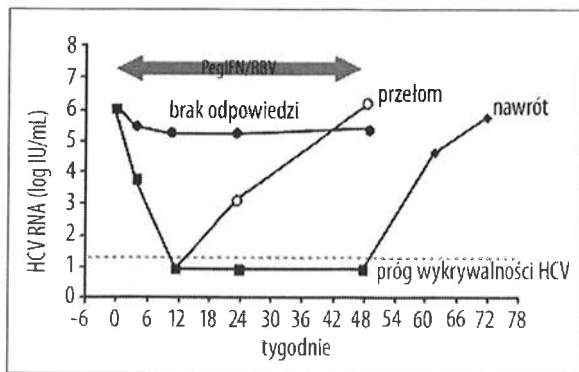
Przeciwciała anti-HCV pojawiają się po 20–150 dniach (średnio 60 dni) od ekspozycji. W praktyce rozpoznanie ostrego wzv C stawiane jest trafnie niemal wyłącznie u osób systematycznie monitorowanych; np. po ekspozycji na zakaże-

nie HCV lub przy okazji innych chorób, w tym u osób hemodializowanych.

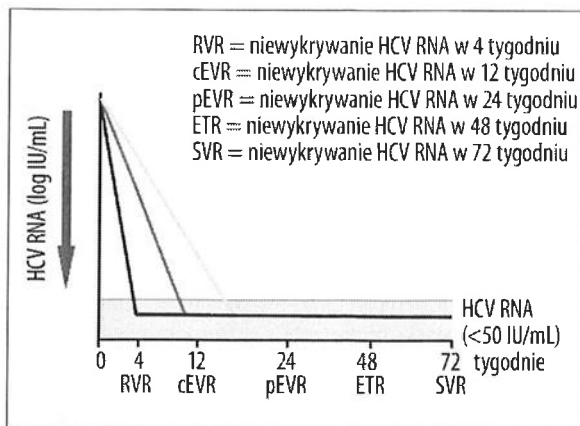
Wykazano, że spontaniczna eliminacja wirerii częściej dotyczy kobiet niż mężczyzn (odpowiednio 40% i 19%) oraz ekspozycji w wyniku narażeń zawodowych niż potransfuzyjnych, a też objawowych niż pozostałych. Interesujące, że pozostaje to bez związku z genotypem HCV i wiekiem osoby zakażonej. Utrzymywanie się HCV RNA powyżej 6 miesięcy w zasadzie przesądza o przewlekłości zakażenia.

Na Rycinie 1 przedstawiono typy odpowiedzi wirusologicznej na zastosowaną terapię (1). U zakażonych genotypami 1,4,5,6 HCV w przypadku pierwotnej lekooporności, leczenie nie wpływa na poziom wirerii lub ma niewielki wpływ na jej stężenie. Wykładnikiem skutecznego leczenia jest obniżenie się wirerii do poziomów niewykrywalnych czułymi metodami diagnostycznymi. Jeśli w trakcie dalszego leczenia wirerii wzrośnie, mamy do czynienia z przełomem (wyłomem). „Nawrót zakażenia” natomiast występuje, jeśli sytuacja ta ma miejsce po zakończonym, skutecznym leczeniu czyli nie wykrywaniu HCV RNA w momencie zakończenia leczenia (*end of treatment response* – ETR).

W praktyce klinicznej nie obowiązuje oznaczanie wirerii HCV u zakażonych genotypami 2 i 3 HCV. W tych przypadkach wysoki stopień wyleczeń zwalnia z obowiązku analizowania wirerii w trakcie terapii i w efekcie wykonywanie wówczas wstępnych ilościowych oznaczeń stężenia HCV jest zbędne [3].

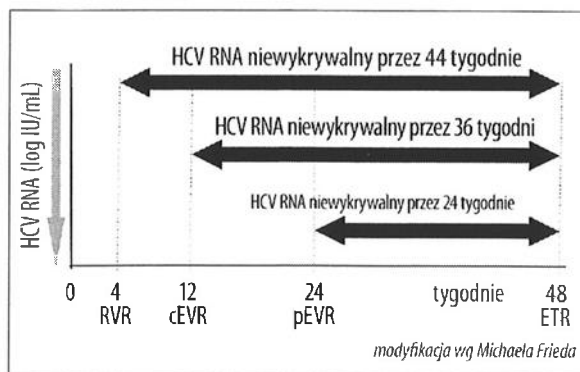


Rycina 1. Leczenie a modele zachowań wirerii HCV.



Rycina 2. Podstawowe definicje (opisy w tekście artykułu).

Na Rycinie 2 przedstawiono bardziej szczegółowo modele odpowiedzi na leczenie. Dopiero ich analiza pozwala na indywidualizację schematów terapeutycznych u zakażonych genotypem 1 HCV. Najbardziej korzystnym prognostykiem skutecznego leczenia jest szybka odpowiedź wirusologiczna (*rapid virological response*, RVR), to jest zanik wirerii w ciągu pierwszych czterech tygodni leczenia. Zjawisko to powiązane jest najczęściej z niskim wyjściowym stężeniem HCV. W tych przypadkach rutynowo skracamy terapię u zakażonych genotypem 1 HCV do 24 tygodni. Dobrze rokują też pacjenci uzyskujący tak zwaną pełną wczesną odpowiedź wirusologiczną (*complete early virological response*, cEVR), kiedy zanik wirerii występuje do 12 tygodnia leczenia. Standard postępowania przewiduje wówczas 48 tygodniową terapię. Wyodrębniono też grupę chorych, którzy w 12 tygodniu leczenia obniżyli wiramię o co najmniej dwa logarytmy dziesiętne w stosunku do wartości sprzed leczenia, natomiast próg wykrywalności przekroczyli do 24 tygodnia. Są to chorzy z tzw. częściową wczesną odpowiedzią wirusologiczną (*partial early virological response*, pEVR). Istotą problemu przedstawia Rycina 3 [4,5]. W rutynowym postępowaniu leczy się ich podobnie długo jak poprzednią grupę, aczkolwiek coraz częściej wskazuje się, że powinni być leczeni dłużej, gdyż prawdopodobnie okres negatywizacji wirerii HCV jest u tych chorych za krótki dla uzyskania trwałej odpowiedzi wirusologicznej (*sustained viral response* – SVR). Zdaniem badaczy powinien być on wydłużony o dalsze 24 tygodnie dla zwiększenia całkowitej dawki leków. Nie traci na aktualności pogląd, iż w ścisłym związku ze skutecznością terapii pozostaje tak zwana przystosowalność (adherencja), czyli jak najpełniejsza realizacja przez pacjenta zleconego schematu leczenia.



Rycina 3. Odpowiedź wirusologiczna a niewykrywalna wirerii w przebiegu leczenia.

czego. Sprowadza się to zasady 3×80, co oznacza 80% przyjętych obu leków w 80% okresie terapii.

Wykładnikiem skutecznego leczenia jest uzyskanie SVR czyli niewykrywalnej wirerii utrzymującej się przez dalsze 24 tygodnie po jego zakończeniu.

Zasady szczegółowe

Ostre wirusowe zapalenie wątroby typu C

Chorobę leczymy, gdy utrzymują się objawy lub inne wykładniki zakażenia. Stosujemy preparaty interferonu, przy czym interferony naturalne lub rekombinowane podajemy przez pierwsze cztery tygodnie codziennie, a następnie 3 razy w tygodniu przez kolejne 20 tygodni. Interferony pegylowane stosujemy według zaleceń producenta przez 24 tygodnie.

Czas rozpoczęcia terapii zależy od wysokości wirerii w ósmym lub dwunastym tygodniu obserwacji. Gdy przekracza ona 800.000 IU/mL w pierwszym terminie, leczenie rozpoczynamy w 9. tygodniu, gdy jest niższa i nadal wykrywalna w 12. rozpoczynamy je w 13. tygodniu obserwacji.

Przewlekłe zapalenie wątroby typu C

Podstawowym standardem terapeutycznym jest leczenie skojarzone interferonem pegylowanym alfa i rybawiryną. W uzasadnionych przypadkach, np. przy przeciwwskazaniach możliwe jest stosowanie innych interferonów w monoterapii lub w połączeniu z rybawiryną.

Leczenie prowadzimy przez 24 tygodnie u zakażonych genotypem 2 lub 3 oraz u zakażonych genotypem 1 HCV z niskim wyjściowym stężeniem HCV (poniżej 600.000 IU/mL) uzyskujących szybką odpowiedź wirusologiczną. Chorych z cEVR leczymy przez 48 tygodni. W przypadku polskich standardów, chorych z pEVR powinno się leczyć przez 72 tygodnie, aczkolwiek jest to wskazanie ekspertów, którego jak dotychczas nie uwzględniono w programach terapeutycznych NFZ [6].

Marskość wątroby etiologii HCV

Zaleca się kwalifikowanie do terapii wyłącznie chorych w okresie wyrównania czynności wątroby. W tych przypadkach najczęściej prowadzenie leczenia skojarzonego jest utrudnione, stąd dominuje monoterapia jednym z interferonów. Czas leczenia nie został określony, może sięgać do kilku lat.

W praktyce klinicznej szczególnie trudną decyzją jest przerwanie leczenia u chorych nie rokujących uzyskania trwałej odpowiedzi wirusologicznej na leczenie. Dotyczy to pacjentów, u których nie uzyskujemy oczekiwanego wpływu leków na kinetykę wirerii, analizowaną w 12 i 24 tygodniu obserwacji. Są to chorzy, u których w 12 tygodniu nie obserwuje się obniżenia wirerii o dwa logarytmy lub ci, którzy odpowiedzieli częściowo (pEVR) ale nie wyeliminowali wirusa z surowicy krwi w 24 tygodniu leczenia. W tych przypadkach kontynuowanie terapii pozbawione jest szansy terapeutycznej. Każdy chory powinien być dokładnie informowany przed rozpoczęciem leczenia o takim ryzyku. Do tej grupy należą również pacjenci, u których terapia nie wywołuje żadnego wpływu na zachowanie wirerii. Problem w tym, że nie sposób ich wyselekcjonować wcześniej niż po 4 tygodniach leczenia; a praktycznie udaje się ich wykluczyć dopiero po następnych ośmiu.

Od opisanych zasad dopuszcza się wyjątki, do których należą na przykład osoby z zaburzeniami odporności lub z zaawansowanym procesem chorobowym, w których omówione zasady nie obowiązują.

Dylematy związane z zagwarantowaniem pierwszeństwa w dostępie do leczenia

Nie ma wątpliwości, że wśród chorych oczekujących na leczenie znajdują się osoby które powinny być do niego kwa-

lifikowane w pierwszej kolejności. W świetle omawianego konsensu opracowanego w połowie ubiegłym roku są to pacjenci z zaawansowanym procesem chorobowym, zakwalifikowani do przeszczepienia wątroby lub z reaktywacją choroby po tym zabiegu, hemodializowani, zwłaszcza oczekujący na przeszczepienie nerki oraz współzakażeni HBV lub HIV. Szczególną grupą w tym przypadku są chorzy leczeni wcześniej nieskutecznie [7]. W rzeczywistości brakuje dla nich innych opcji terapeutycznych niż wcześniej opisane. Jeśli wymagają oni ponownej terapii, staramy się zmienić preparat interferonu upatrując w tym szansy chorego. Wykazano, że przypadki reterapii częściej kończą się sukcesem u chorych z nawrotem niż u pozostałych.

Uwagi końcowe

W obowiązujących zaleceniach odstąpiono od rygorystycznego wymogu kwalifikacji do leczenia wyłącznie chorych z zaawansowaną patologią wątroby. Wynika to z licznych prac wskazujących, iż skuteczność leczenia jest tym lepsza im szybciej chorzy są do niego kwalifikowani. Odrębnym problemem są objawy niepożądane, które nierzadko uniemożliwiają realizację założonego schematu terapeutycznego. Dotyczy to zwłaszcza zaburzeń psychicznych, jak i cytopenii, które mają szczególnie niekorzystne znaczenie w tym względzie. Wymagają one aktywnego równoległego leczenia w niezbędnych przypadkach. Należy się spodziewać, iż do rutynowej praktyki medycznej wejdzie niebawem monitorowanie stężenia rybawiryny.

Piśmiennictwo:

1. Marcelin P, Heathcote E J, Craxi A: Which patients with genotype 1 chronic hepatitis C can benefit from prolonged treatment with the 'accordion' regimen? *J Hepatol*, 2007; 47(4): 580–87
2. Berg T, von Wagner M, Nasser S et al: Extended treatment duration for hepatitis C virus type 1: comparing 48 versus 72 weeks of peginterferon-alfa-2a plus ribavirin. *Gastroenterology*, 2006; 130(4): 1086–97
3. Marcelin P, Jansen DM, Hadziyannis S et al: Differentiation of early virologic response (EVR) into RVR, complete EVR (cEVR) and partial EVR (pEVR) allows for a more precise prediction of SVR in HCV genotype 1 patients treated with peginterferon alfa-2a (40KD) and ribavirin (COPEGUS). 58th Annual Meeting of the AASLD, Boston, 2007
4. Pawłowska M, Halota W: Wysokość wyjściowej wirerii HCV a efektywność terapii. *Med Sci Rev Hepatologia*, 2007; 7: 29–31
5. Yu JW, Wang GQ, Sun LJ et al: Predictive value of rapid virological response and early virological response on sustained virological response in HCV patients treated with pegylated interferon alfa-2a and ribavirin. *J Gastroenterol Hepatol*, 2007; 22: 832–36
6. Polska Grupa Ekspertów HCV: Konsensus leczenia wirusowego zapalenia wątroby typu C. Zakopane, 2007
7. Sherman M, Yoshida EM, Deshenes M et al: Peginterferon alfa-2a (40KD) plus ribavirin in chronic hepatitis C patients who failed previous interferon therapy. *Gut*, 2006; 55(11): 1631–38

Terapia HCV – wciąż w drodze od empirii do eradykacji

HCV therapy – still on our way from empiricism to eradication

Marta Wawrzynowicz-Syczewska¹, Urszula Ołdakowska-Jedynak²

¹ Katedra i Klinika Chorób Zakaźnych i Hepatologii PAM w Szczecinie

² Instytut Transplantologii AM w Warszawie

Summary: Since HCV discovery in 1989 a big effort has been made to improve antiviral treatment results. Purely cytoplasmic life cycle of the virus and lack of the persistent intracellular forms are highly encouraging. During two decades of our experience with anti-HCV therapy different treatment regimens and drug doses have been tried, but even introduction of ribavirin and pegylated form of interferon-alfa result in sustained viral response only in two third of treated patients. Moreover, results highly depend on the stage of the disease, patient's age and HCV genotype, being rather mediocre in older cirrhotic patients, infected with genotype non-2,3. For the time being interferon seems to be a basis for the anti-HCV therapy and novel drugs, now emerging on the market, will be combined with interferon instead of or together with ribavirin. Intensive studies on HCV pathogenesis and the genetic background of response to antiviral therapy, although promising and undoubtedly informative, do not give enough clues for the therapeutic puzzle.

Słowa kluczowe: przewlekłe wzv C • terapia przeciwwirusowa • eradykacja • interferon-alfa • rybawiryna

Key words: chronic hepatitis C • antiviral therapy • eradication • interferon-alfa • ribavirin

Adres do korespondencji: Marta Wawrzynowicz-Syczewska, Katedra i Klinika Chorób Zakaźnych i Hepatologii PAM w Szczecinie, Szczecin, Polska, e-mail: martaws@wp.pl

Ostatnie dwie dekady należą w hepatologii bez wątpienia do wirusa wirusowego zapalenia wątroby typu C (HCV). Od momentu wykrycia patogenu przez Choo i wsp. szybko gromadzona wiedza na temat epidemiologii i historii naturalnej zakażenia wskazuje, że HCV jest wiodącą przyczyną przewlekłej patologii wątroby na świecie, w tym schyłkowej niewydolności wątroby i raka wątrobowo-komórkowego. Szacuje się, że około 3% populacji globu przebyło zakażenie HCV. W Europie Zachodniej i Stanach Zjednoczonych Ameryki Północnej obserwuje się zinnieszenie częstości zachorowań na WZW typu C na przestrzeni ostatnich lat, natomiast w krajach Europy Środkowej i Wschodniej zapadalność jest nieco większa [1,2]. W Polsce w 2000 r. stwierdzono 2086 zachorowań (zapadalność 5,4/100 tys.), a w roku 2001 – 1953 zachorowania (zapadalność 5,5/100 tys.) [3]. Ocenia się, że w naszym kraju ok. 730 tys. osób przebyło zakażenie HCV [dane wg Polskiej Grupy Ekspertów HCV], ale nie można wykluczyć, że wartości te są niedoszacowane.

Konsekwencją zakażenia HCV jest nie tylko szerokie spektrum chorób wątroby. Manifestacja pozawątrobową zakażenia dodatkowo angażuje w proces diagnostyczno-tera-

peutyczny specjalistów wielu dyscyplin medycznych, m.in. nefrologów, reumatologów, dermatologów i psychiatrów. Przyczyną tak istotnej chorobowości jest fakt, że od 55 do 85% ostrych infekcji HCV przechodzi w przewlekły proces zapalny, a obserwacje wskazują, że spośród osób przewlekłe zakażonych od 5 do 20% rozwija w ciągu 20–25 lat marskość wątroby. W tym miejscu należy podkreślić, że dane te pochodzą przede wszystkim z ośrodków o najwyższym stopniu referencyjności, co niekoniecznie musi odzwierciedlać rzeczywistą sytuację, panującą w populacji ogólnej, niewątpliwie jednak powikłania HCV są główną przyczyną śmierci z powodu chorób wątroby w ogóle i stanowią podstawowe wskazanie do przeszczepu wątroby. Ustalono, że u pacjentów z rozpoznaną marskością wątroby ryzyko schyłkowej niewydolności wątroby wynosi 30% w ciągu 10 lat, a HCC rozwija od 3 do 10% chorych rocznie [4].

Tak więc obraz histologiczny przewlekłego zapalenia wątroby typu C, a zwłaszcza nasilenie włóknienia, jest najlepszym prognostykiem przebiegu choroby. Stwierdzenie podczas pierwszej biopsji wątroby włóknienia wykraczającego poza przestrzenie bramne (w skali METAVIR oznacza

to włóknienie ≥ 2 , a w skali Ishaka ≥ 3) wskazuje na duże ryzyko progresywnego charakteru zakażenia. Jest to też najbardziej obiektywne kryterium włączenia do leczenia przeciwwirusowego.

Przyczyny szybszego ewoluowania zakażenia HCV do marskości wątroby u niektórych pacjentów nie są do końca jasne. Jest to przedmiot bardzo intensywnych badań, które mają ostatecznie na celu wyselekcjonowanie właściwych kandydatów do długotrwałej i obciążonej licznymi powikłaniami terapii. Do tej pory udało się ustalić, że w grupie chorych, zagrożonych szybkim tempem włóknienia wątrobowego, znajdują się osoby zakażone w starszym wieku (zwłaszcza mężczyźni), pijące powyżej 50 g czystego alkoholu dziennie, otyłe albo obciążone istotnym stłuszczeniem wątroby, współzakażone HIV oraz afro-amerykanie. Inne czynniki ryzyka progresji do marskości wątroby, między innymi podłoże genetyczne, są mniej oczywiste i wymagają dalszego potwierdzenia.

Innym niż nasilenie włóknienia wątrobowego powodem do podjęcia terapii przeciwwirusowej jest manifestacja pozawątrobowego zakażenia HCV, najczęściej w postaci mieszanej krio-globulinemii. Objawowy charakter krio-globulinemii (zapalenie naczyń, zmiany skórne, zajęcie nerek) wymaga leczenia niezależnie od wyniku biopsji wątroby.

Na podstawie wieloletnich obserwacji wiadomo, że osoby, które w przebiegu ostrego wirusowego zapalenia wątroby typu C zdołały wyeliminować HCV, nie wykazują żadnych odległych komplikacji zakażenia i nie wymagają leczenia. O tym, czy doszło do eliminacji wirusa decydują w praktyce wyniki badań serologicznych. Potwierdzeniem pomyślnego zejścia choroby jest ujemny wynik HCV-RNA w surowicy krwi, co w dużym uproszczeniu oznacza, że klirens HCV z krwi obwodowej jest tożsamy z wyzdrowieniem z zakażenia. Zwykle takie badanie wykonuje się kilkakrotnie, najwcześniej po trzech miesiącach od fazy ostrej choroby.

Przeciwdziałanie odległym powikłaniom zakażenia poprzez uzyskanie klirensu HCV z krwi jest również głównym celem terapii przeciwwirusowej w przewlekłym wzr typu C. Ponieważ HCV nie tworzy przetrwałych form wewnątrzkomórkowych, a cykl życiowy wirusa jest czysto cytoplazmatyczny, oznacza to, że w przeciwieństwie do HIV i HBV, zakażenie wirusem typu C jest w pełni wyleczalne, czyli możliwe do wyeradykowania. O eradykacji HCV można mówić, jeżeli zostanie osiągnięta trwała odpowiedź na leczenie (SVR, *sustained viral response*), definiowana jako nieobecność HCV-RNA w surowicy krwi po sześciu miesiącach od zakończenia kuracji. Zwykle we wczesnej fazie terapii u chorych, którzy osiągną SVR, obserwuje się gwałtowną redukcję (>2 log), a nawet zanik wirerii, co jest zjawiskiem korzystnym rokowniczo i jest określane jako wczesna odpowiedź wirusologiczna (EVR, *early virologic response*). W takich przypadkach nieoznaczalny HCV-RNA utrzymuje się zazwyczaj do końca podawania leków i oznacza dobrą odpowiedź na zakończenie leczenia (ETR, *end of treatment response*). Przełamanie (*breakthrough*), czyli pojawienie się materiału genetycznego wirusa w trakcie leczenia, należy do rzadkości. Znacznie częściej (ok. 15% chorych, którzy uzyskali ETR) zdarza się wznowa zakażenia HCV po zakończeniu kuracji. Ma to miejsce w ciągu pierwszych dwóch-trzech miesięcy, na ogół przed upływem sześciu miesięcy, od zaprzestania podawania leków. Późna wznowa, czyli pojawienie się HCV-RNA u chorych, którzy zostali uznani za wyleczonych, a zatem po czasie dłuższym niż

6 miesięcy, jest obserwowana jedynie u ok. 2–3% chorych. Ostatecznie nie rozstrzygnięto, czy w tych przypadkach dochodzi do nadkażenia innym genotypem HCV, czy jest to reaktywacja istniejącego wcześniej zakażenia.

Chorzy, którzy mają stabilny poziom wirerii w czasie całej kuracji, uchodzą za nie odpowiadających na leczenie (*NR, non-responders*), zaś ci, u których wiramia obniża się znacznie (>2 log), ale jest cały czas wykrywalna, określani są mianem częściowo odpowiadających (*partial responders*). O ile obserwuje się wyraźną poprawę histologiczną z regresją włóknienia wątroby u pacjentów z SVR, o tyle u chorych bez odpowiedzi wirusologicznej lub z częściową odpowiedzią na leczenie korzyść z zastosowanej kuracji jest ciągle przedmiotem dyskusji. Wyniki niektórych badań wskazują, że pomimo utrzymywania się wirerii HCV, u chorych leczonych przeciwwirusowo zmniejsza się bądź oddala ryzyko odległych powikłań w postaci zdekompensovanej marskości wątroby czy raka wątrobowo-komórkowego.

Próby leczenia przeciwwirusowego były podejmowane od początku lat 90-tych. Od tamtej pory schematy terapeutyczne zmieniały się kilkakrotnie, poprzedni był zastępowany kolejnym skuteczniejszym i uchodzącym w danym momencie za standard terapeutyczny (*SOC, standard of care*). Początkowo leczenie pzw typu C polegało na podskórnym podawaniu rekombinowanego interferonu alfa (α) trzy razy w tygodniu, a celem badań klinicznych w tamtym okresie był dobór właściwej dawki i czasu trwania kuracji. Ostatecznie ustalono, że dawki wyższe nie mają przewagi nad jednostkową dawką 3 MU przy znacznie mniej nasilonych objawach ubocznych, a czas trwania kuracji powinien być nie krótszy niż 6 miesięcy. Półroczne leczenie samym interferonem okazało się jednak bardzo mało efektywne. Odsetek chorych, którzy osiągnęli SVR nie przekraczał 6, dlatego terapię wydłużono do roku, ale poprawiło to wyniki w nieznacznym stopniu (SVR wzrósł jedynie do 16% leczonych). Prawdziwym przełomem w leczeniu pzw typu C było skojarzenie α z dostępną postacią analogu nukleozydowego rybawiryny (RBV), która sama w sobie, podobnie jak interferon, przejawia słabe właściwości przeciwwirusowe i niewielkie działanie immunomodulacyjne, ale w połączeniu z interferonem wykazuje wyraźny synergizm działania, którego mechanizm nie został do końca poznany. Terapia skojarzona α z RBV przyniosła wyraźną poprawę końcowych wyników leczenia – SVR zanotowano u 34% leczonych przez 6 miesięcy i 42% leczonych przez 12 miesięcy [5].

Klinicyści nadal poszukują odpowiedzi na pytanie, jakie czynniki determinują niepełną odpowiedź na terapię przeciwwirusową i niezadowolające wyniki leczenia tej grupy chorych. Immunologia zakażenia HCV, patogenezę uszkodzenia wątroby oraz dokładne mechanizmy odpowiedzialne za przetrwanie zakażenia nie są znane. Dostępne dane sugerują, że skuteczna eliminacja wirusa wiąże się z indukcją i utrzymaniem optymalnej odpowiedzi immunologicznej z udziałem limfocytów T pomocniczych (CD4) oraz cytotoksycznych (CD8), skierowanej przeciwko licznym epitopom wirusowym [6,7]. W toku odpowiedzi immunologicznej egzogenne antygeny HCV po przetworzeniu w procesie proteolizy przez makrofagi (APC) jako krótkie peptydy wraz z antygenami HLA klasy II są prezentowane pomocniczym limfocytom T (CD4+). Aktywacja komórek CD4(+) wywołuje sekrecję różnych cytokin stymulujących proliferację i różnicowanie limfocytów B swoistych antygenowo i cytotoksycznych lim-

focytów T (CD8+), a także rekrutację komórek zapalnych [6,8,9]. Odpowiedź humoralna na zakażenie jest niejednorodna, co wiąże się z różną immunogennością antygenów HCV. Pacjenci z przewlekłą formą zakażenia nie wykazują silnej, swoistej odpowiedzi immunologicznej w zakresie subpopulacji limfocytów T pomocniczych. Sposób odpowiedzi immunologicznej i jej nieprawidłowości mogą być determinowane genetycznie, zwłaszcza w obrębie głównego układu antygenów zgodności tkankowej. Jak już wspomniano, niezależnie od odpowiedzi przeciwwirusowej układu immunologicznego ustroju, w 54–86% przypadków nie dochodzi do pełnej eliminacji zakażenia [2], pomimo że HCV nie posiada zdolności integracji z genomem hepatocyta. Jako potencjalne przyczyny przetrwania zakażenia HCV podaje się: powstawanie mutantów, pozawątrobową replikację HCV, powinowactwo do VLDL, lokalizację HCV w komórkach immunokompetentnych i zaburzenie ich funkcji [2]. Niewykluczone, że inne czynniki charakteryzujące gospodarza lub wirusa mają wpływ na ostateczny przebieg zakażenia HCV.

Zakażenie HCV nie wywołuje istotnych bezpośrednich zmian cytopatycznych hepatocytów. Kinetyka odpowiedzi immunologicznej w ostrej fazie zakażenia nie jest dostatecznie zbadana. Uszkodzenie wątroby w przewlekłym zakażeniu HCV najprawdopodobniej modulowane jest przez odpowiedź immunologiczną, zwłaszcza ze strony cytotoksycznych limfocytów T, skierowaną przeciwko zakażonym hepatocytom. Istotnym potencjalnym elementem w procesie uszkodzenia wątroby w przewlekłym zakażeniu HCV jest udział cytokin, takich jak interferon gamma i czynnik martwicy guza alfa (TNF-alfa), uwalnianych przez aktywowane limfocyty. Jak wykazano w kilku eksperymentach, TNF-alfa może indukować apoptozę hepatocytów i powodować uszkodzenie wątroby [6]. Dodatkowym dowodem na udział odpowiedzi immunologicznej w patogeniezie przewlekłej infekcji HCV jest związek z określonymi antygenami zgodności tkankowej. Zaobserwowano większą częstość występowania antygenu HLA-DR5 u chorych HCV-dodatnich z minimalnymi zmianami zapalnymi w wątrobie niż u chorych ze zmianami bardziej nasilonymi i zaawansowanymi [2,8]. W populacji immunokompetentnych pacjentów przewlekłe zakażonych HCV stwierdzono, że występowanie antygeny HLA-DRB1*11 może mieć korzystny wpływ na kliniczny przebieg infekcji, klirens wirusa HCV oraz stopień aktywności zapalno-martwicznej i ewolucję włókienia w wątrobie [10].

Powyższe rozważania nie wyszły jednak poza sferę badań naukowych. Zastosowanie w praktyce klinicznej wiedzy na temat podłoża genetycznego odpowiedzi immunologicznej na antygeny wirusowe czy też prognozowania korzystnej reakcji na leczenie jest znikome i nie stanowi podstawy do podejmowania decyzji terapeutycznych czy analizy niepowodzeń. W tym celu ciągle wykorzystuje się podstawowe dane kliniczno-demograficzne o pacjencie, takie jak wiek, płeć, masa ciała, obraz histologiczny zmian w wątrobie, aktywność biochemiczna procesu zapalnego, stosowanie używek, stosowanie się do zaleceń lekarskich i inne, oraz dane wirusologiczne, takie jak genotyp i liczba kopii wirusa w ml surowicy.

Analizując przyczyny niepowodzeń terapeutycznych w populacji ogólnej (ciągle ponad 50% pacjentów nie uzyskiwało satysfakcjonujących rezultatów) zauważono, że końcowy sukces zależy od dobowej dawki rybawiryny w przeliczeniu na masę ciała i sumarycznych dawek obu leków, przyjętych w czasie trwania kuracji. Ustalono, że osoby ważące powy-

żej 75 kg powinny zażywać co najmniej 1000 mg RBV na dobę, a u pacjentów szczupłych dobową dawkę leku w zasadzie nie powinna schodzić poniżej 800 mg. Ponieważ objawem ubocznym stosowania RBV jest hemoliza pozaśledziowa krwinek czerwonych i w konsekwencji niedokrwistość hemolityczna, utrzymanie docelowej dawki leku okazało się trudne. Redukcja dziennej dawki poniżej 600 mg i należytą sumaryczną ilość przyjętego leku <80% stawia efektywność rybawiryny pod znakiem zapytania. Podobnie zbyt częste pomijanie iniekcji interferonu albo redukcja dawki z uwagi na neutropenię i małopłytkowość wyraźnie wpływa na pogorszenie wyników leczenia. Powyższe obserwacje stały się podstawą tzw. reguły 80:80:80, co oznacza, że chory dla osiągnięcia SVR powinien przyjąć co najmniej 80% należytą sumaryczną dawkę obu leków przez czas nie krótszy niż 80% należącego czasu trwania kuracji. W opiece nad pacjentem leczonym przeciwwirusowo zaczęto coraz większy nacisk kłaść na tak zwane „przyleganie do terapii” (*compliance*), czyli stosowanie się chorych do zaleceń lekarskich, w tym do przyjmowania przepisanych dawek leków. Dla poprawy adherencji zaczęto stosować czynniki wzrostu, takie jak czynnik stymulujący kolonie granulocytów (G-CSF) oraz erytropoetynę, leki analgetyczne i niesterydowe leki przeciwzapalne w zwalczaniu objawów grypopodobnych, leki przeciwalergiczne u chorych ze skórną reakcją nadwrażliwości, hormony tarczycy w przypadku objawów niedoczynności, środki przeciwdepresyjne, zwłaszcza inhibitory zwrotnego wychwytu serotoniny oraz, co odgrywa niebagatelną rolę, terapię psychologiczną poprzez konsultowanie osób leczonych z psychologami klinicznymi i organizowanie grup wsparcia. Te wielokierunkowe działania mają na celu utrzymanie pacjentów w terapii za wszelką cenę. Bardzo pomocne w tym względzie okazały się wyniki badań klinicznych, wskazujące, że pacjenci, którzy osiągnęli EVR, w większości przypadków (>65%) kończą leczenie z sukcesem. W rocznych schematach terapeutycznych z wykorzystaniem rIFN- α wczesną odpowiedź na leczenie badano początkowo po sześciu miesiącach kuracji, a po doświadczeniach z pegylowaną postacią interferonu okres ten skrócono do 3 miesięcy. Wiadomość, że leczenie przynosi oczekiwane efekty, okazała się najlepszą zachętą do kontynuowania terapii i wyraźnie motywowała do akceptowania jej niedogodności oraz skutków ubocznych. Zwykle moment kontrolnego oznaczania wirerii zbiega się ze stabilizacją kliniczną pacjenta leczonego IFN i RBV, poczyniono bowiem spostrzeżenie, że objawy uboczne są najbardziej nasilone w pierwszych kilku (nastu) tygodniach terapii.

Kolejnym ważnym odkryciem było wykazanie bardzo dużej skuteczności leczenia w zależności od genotypu HCV. Genotyp wirusa okazał się najsilniejszym czynnikiem prognostycznym odpowiedzi. Osoby zakażone genotypem 2/3 HCV mają ponad 80% szans na eradykację zakażenia. Poza tym leczenie może być skrócone do pół roku, co sprawia, że pacjenci są w tym przypadku szczególnie zmotywowani i przestrzegają zaleconych dawek oraz czasu trwania kuracji.

Dalszą poprawę skuteczności terapeutycznej w leczeniu pzw C przyniosło zastosowanie pegylowanej formy interferonu (PEG-IFN). Pegylacja cząsteczki IFN spowodowała wydłużenie okresu półtrwania leku i umożliwiła podawanie iniekcji raz w tygodniu. Podobnie jak w przypadku rIFN- α , monoterapia PEG-IFN nie jest tak efektywna jak leczenie skojarzone z rybawiryną (w badaniach klinicznych nie miała przewagi nad rocznym leczeniem skojarzonym rIFN- α z RBV), dlatego aktualnie standardem terapeutycznym jest stoso-

wanie PEG-IFN w połączeniu z RBV przez okres roku w zakażeniu genotypem nie-2/3, lub przez 24 miesiące u chorych zakażonych genotypem 2/3 HCV. Wykazano, że w tym schemacie leczniczym SVR osiąga od 54 do 56% leczonych ogółem, a odsetek ten wzrasta do ok. 80 w przypadku zakażenia genotypem 2/3. Różnice w trwałej odpowiedzi na leczenie dotyczą ponadto wielkości ładunku wirusa przed terapią – wartością skategoryzowaną jest w tym przypadku 2×10^6 kopii/mL. Chorzy zakażeni genotypem 1, z niższym poziomem wirerii i zdolni do utrzymania wyjściowej dawki PEG-IFN i RBV przez cały okres kuracji osiągalni SVR na poziomie 61% [5].

Zastosowanie PEG-IFN, niewątpliwie dogodniejsze dla chorych z uwagi na rzadsze iniekcje, okazało się jednak obciążone większym odsetkiem objawów ubocznych, głównie związanych z toksycznością hematologiczną i reakcjami alergicznymi przy nieco niższej częstotliwości występowania depresji i objawów grypopodobnych. Z uwagi na głębszą neutropenię i małopłytkowość utrzymanie chorych w terapii poprzez stosowanie czynników wzrostu nabrało większego znaczenia, zwłaszcza z niecierpliwością wyczekiwane jest wprowadzenie do komercyjnego stosowania stymulatorów płytkowych, na razie dostępnych w ramach prób klinicznych. Trzeba jednak podkreślić, że w praktyce klinicznej nie ma rekomendacji w zakresie rutynowego stosowania czynników wzrostu jako sposobu na utrzymanie wyjściowych dawek interferonu i rybawiryny.

Podsumowując, największe szanse na eradykację zakażenia HCV daje stosowanie pegylowanego interferonu z rybawiryną przez okres 24 lub 48 tygodni w zależności od genotypu wirusa oraz przy dobowej dawce rybawiryny 1000mg u osób <75 kg wagi i 1200 mg dla osób >75 kg. Prawdopodobieństwo osiągnięcia SVR można oszacować na podstawie charakterystyki chorych, przystępujących do leczenia, a także na podstawie oceny wirerii w 12. tygodniu leczenia dla genotypu nie-2/3. Wspomniana charakterystyka przedterapeutyczna obejmuje wiek, płeć, nasilenie włóknienia w wątrobie, wynik poprzedniej terapii (jeżeli była stosowana), współistnienie innych patologii wątroby lub innych zakażeń, stosowanie używek, wielkość wirerii, współistnienie zaburzeń metabo-

licznych i wiele innych. Tak więc idealnym kandydatem do leczenia jest skądinąd zdrowa, wcześniej nie leczona, młoda (<40 r.ż.), szczupła i niepijąca kobieta bez włóknienia wątrobowego w badaniu histologicznym i z wirrią <2 mln kopii/mL. Jak wiadomo, praktyka jest daleka od tego ideału, a nawet nie przystaje do rekomendacji ustalonych na podstawie randomizowanych kontrolowanych badań klinicznych. Osoby włączone do eksperymentu medycznego są zazwyczaj starannie wyselekcjonowane spośród chorych, obciążonych czynnikami potencjalnie wpływającymi na końcowy wynik próby. To powoduje, że na co dzień wyniki leczenia pzw typu C są dużo gorsze od przedstawionych, a dla określonych grup pacjentów nadal nie ma wyraźnych rekomendacji terapeutycznych. Dotyczy to dzieci, pacjentów z depresją w wywiadzie, osób uzależnionych od substancji psychoaktywnych, zakażonych genotypami 4, 5 i 6 HCV, chorych z niestabilną cukrzycą, źle kontrolowanym nadciśnieniem tętniczym, współzakażonych HBV i wielu innych.

Wśród naszych pacjentów dominują chorzy już wcześniej leczeni, którzy albo w ogóle nie odpowiedzieli na rIFN, rIFN z RBV lub PEG-IFN, albo mieli nawrót po zakończeniu terapii, pacjenci płci męskiej z zaawansowanym włóknieniem, nierzadko marskością wątroby, ludzie otyli, nadużywający alkoholu i obciążeni dodatkowymi schorzeniami. Populację szczególną stanowią chorzy z zaawansowaną chorobą wątroby, biorcy przeszczepu wątroby, pacjenci ze schyłkową niewydolnością nerek poddani terapii nerkozastępczej w tym biorcy przeszczepu nerki. Dlatego u chorych leczonych poza badaniami klinicznymi uzyskanie SVR tylko sporadycznie przekracza 40%. Wybór odpowiednich kandydatów do leczenia jest więc sprawą kluczową i indywidualną. Wspomniano, że więcej-niż-wrotne włóknienie w wątrobie jest najważniejszym kryterium przy ustalaniu wskazań do leczenia, jednak patrząc z odległej perspektywy i analizując czynniki dobrej prognozy, warto zastanowić się czy leczenie zakażenia na wczesnym etapie choroby u osób bez przeciwwskazań do stosowania IFN i RBV, nie jest podejściem właściwszym i gwarantującym to, co jest celem głównym terapii, czyli eradykację zakażenia. Zachętą do takiego podejścia mogą być wyniki leczenia ostrego wzw C, które dają prawie 100% szansę na SVR.

Piśmiennictwo:

1. Feray C, Gigou M, Samuel D i wsp: The course of hepatitis C infection after liver transplantation. *Hepatology*, 1994; 20: 1137
2. Seff LB: Natural history of chronic hepatitis C. *Hepatology*, 2002; 5(Suppl.): S35
3. Państwowy Zakład Higieny, Instytut Naukowo-Badawczy – Zakład Epidemiologii, Główny Inspektorat Sanitarny – Departament Przeciwepidemiczny i Oświaty Zdrowotnej. Choroby zakaźne i zatrucia w Polsce w 2001 roku. Warszawa, 2002
4. Yao FY, Terrault N: Hepatitis C and hepatocellular carcinoma. *Curr-Treat-Options-Oncol*, 2001; 2: 473
5. Strader D, Wright T, Thomas DI, Seeff LB: Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C. *Hepatology*, 2004; 39: 1147
6. Koziel MJ: Cytokines in viral hepatitis. *Semin Liver Dis*, 1999; 19: 157
7. Zerky A, Bishop GA, Bowen DG i wsp: Intrahepatic cytokine profiles associated with posttransplantation hepatitis C-related liver injury. *Liver Transpl*, 2002; 8: 292
8. Goldman L, Benett JC: Diseases of the liver, gallbladder, and bile ducts. *Cecil Textbook of Medicine*, WB Saunders Company, 2000; 767
9. Rosen HR, Hinrichs DJ, Gretch DG i wsp: Association of multispecific CD4+ response to hepatitis C and severity of recurrence after liver transplantation. *Gastroenterology*, 1999; 117: 926
10. Belli LS, Zavaglia C, Alberti AB i wsp: Influence of immunogenetic background on the outcome of recurrent hepatitis C after liver transplantation. *Hepatology*, 2000; 31: 1345

Inhibitory cyklofiliny w terapii zakażeń HCV

Cyclophilin inhibitors in therapy of HCV infections

Magdalena Rogalska-Płońska, Robert Flisiak

Klinika Obserwacyjno-Zakaźna, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

Summary: Authors present results of current status of research on selective cyclophilin inhibitors, which demonstrate a potent anti-HCV effect acting at the level of host-viral interaction. Cyclophilins are ubiquitous proteins in several cellular systems supposed to be a positive modulator of the HCV RNA-dependent RNA polymerase in the replication complex. Preclinical data suggest that cyclophilins inhibitors demonstrate strong suppressive effect on HCV viral replication, which is accompanied by a higher barrier to the selection of drug resistance than protease and polymerase inhibitors. Moreover additive or synergistic anti-HCV activity could be reached in combined treatment with interferons. Therefore, cyclophilin inhibitors seem to open the new approach to anti-HCV treatment.

Słowa kluczowe: leczenie • HCV • inhibitory cyklofilin • cyklosporyna • Debio-025 • NIM-811

Key words: treatment • HCV • cyclophilin inhibitors • cyclosporin • Debio-025 • NIM-811

Adres do korespondencji: Robert Flisiak, Klinika Obserwacyjno-Zakaźna, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku, ul. Żurawia 14, 15-540 Białystok, Polska, e-mail: flisiakr@poczta.onet.pl

Wstęp

Przewlekłe zakażenie HCV dotyczy około 180 milionów ludzi na całym świecie [1]. Ponieważ ostra infekcja często przebiega bezobjawowo, większość przypadków diagnozowana jest po wielu latach, kiedy dochodzi do rozwoju przewlekłego zapalenia, marskości lub nawet raka wątrobowokomórkowego [2,3].

Aktualny standard leczenia pacjentów z przewlekłym zapaleniem wątroby typu C zakłada stosowanie w skojarzeniu cotygodniowych iniekcji pegylowanego interferonu-alfa (peg-IFN- α)-2a lub 2b oraz codziennej dawki doustnej rybawiryny. Schemat ten łączy w sobie aktywność immunomodulującą oraz przeciwwirusową obu leków powodując synergiczny, długotrwały efekt. Czas trwania leczenia uzależniony jest od genotypu wirusa. Depresja, niedokrwistość i neutropenia są jednymi z wielu działań ubocznych skojarzonego leczenia peg-IFN- α z rybawiryną. Wymagają one często redukcji dawek leków i/lub przerwania leczenia. Możliwa do osiągnięcia skuteczność terapii nie jest satysfakcjonująca [4]. O ile u osób zakażonych genotypem 2 lub 3 uzyskanie trwałej odpowiedzi przeciwwirusowej (SVR) jest możliwe nawet u 90% chorych, to w przypadku genotypu 1 i 4 dotyczy to 33–50% chorych [4–6]. Aktualnie brak jest alternatywnej metody leczenia dla pacjentów, u których nastąpił nawrót choroby, terapia skojarzona jest nieefektywna lub uniemożliwiają ją działania uboczne leków.

Nowe leki anty-HCV

Po wnikięciu wirusa do komórki gospodarza, z nukleokapsydu uwalniany jest materiał genetyczny, konieczny do syntezy poliproteiny HCV. Jest to duże białko prekursorowe rozcinane przez peptydazy wirusa i gospodarza na mniejsze, strukturalne i niestrukuralne białka. Proces ten jest inicjowany przez proteazę NS3-4A. Najbardziej zaawansowane badania dotyczą Telapreviru (VX-950), który u większości pacjentów w ciągu 2-4 tygodni leczenia powoduje obniżenie HCV-RNA poniżej poziomu wykrywalności [7]. Niestety w części przypadków dochodziło do mutacji z rozwojem oporności. Zastosowanie w dalszych badaniach peg-IFN- α z rybawiryną umożliwiło utrzymanie supresji wirusa [8]. Innym dostępnym inhibitorem proteazy HCV jest SCH-503034, który odznacza się dobrym profilem bezpieczeństwa i powodował obniżanie stężenia HCV-RNA poniżej poziomu detekcji u 4 z 10 pacjentów zakażonych genotypem 1, którzy wcześniej nie odpowiedzieli na standardową terapię [9]. Spośród inhibitorów polimerazy HCV RNA, najbardziej zaawansowa-

ne badania dotyczyły valopicitabiny (NM-283). W populacji osób nie odpowiadających na standardowe leczenie, w połączeniu z peg-IFN- α powodowała ona znaczną redukcję HCV RNA [10]. W II fazie badań, po 24 tygodniach skojarzonej terapii peg-IFN- α z valopicitabiną, uzyskano obniżenie HCV-RNA poniżej poziomu wykrywalności u ponad połowy nieleczonych wcześniej pacjentów [11]. Niestety badań nad tym preparatem zaprzestano ze względu na liczne działania uboczne. W krótkoterminowych badaniach klinicznych, redukcję HCV-RNA uzyskano również po zastosowaniu innych inhibitorów RdRp takich jak: HCV-796 [12] i R-1626 [13]. Niestety, leki te stosowane w monoterapii szybko prowadzą do selekcji szczepów opornych HCV. Jest więc prawdopodobne, że w przyszłości warunkiem stosowania inhibitorów proteazy i polimerazy, będzie kojarzenie z peg-IFN- α i/lub rybawiryną w celu osiągnięcia wyższego odsetka SVR i uniknięcia lekooporności.

Cyklofiliny

Cyklofiliny są białkami z aktywnością peptydylo-prolylo *cis-trans* izomerazy [14]. Katalizują one izomeryzację *cis/trans* wiązania peptydowego poprzedzającego prolinę w łańcuchu polipeptydowym. Proces ten odgrywa ważną rolę w zwijaniu białek *de novo* i izomeryzacji natywnych protein w licznych systemach komórkowych związanych z transportem przez błony komórkowe [15]. Cyklofiliny znajdują się we wszystkich narządach w stężeniu około 1 μ g/mg białka. U ludzi zidentyfikowano dotychczas siedem cyklofilin.

W ciągu ostatnich lat stało się oczywiste, że cyklofiliny odgrywają znaczącą rolę w replikacji HCV a CypB jest funkcjonalnym regulatorem NS5B RdRp [16,17]. Podjęto wstępne badania nad działaniem anti-HCV, cyklosporyny A (CsA), która była pierwszym znanym związkiem o istotnych właściwościach hamujących aktywność Cyp. Jej działanie anti-HCV wydawało się być niezależne od aktywności immunosupresyjnej, a związane właśnie z hamowaniem działania Cyp [18]. Działanie anti-HCV CsA zostało potwierdzone w badaniach u ludzi [19,20], jednak ze względu na pierwotne działanie immunosupresyjne, jej stosowanie u pacjentów zakażonych HCV nie zostało zaakceptowane. Natomiast selektywne inhibitory Cyp, takie jak Debio-025 i NIM-811, nie wiążą się z kalcyneuryną i w rezultacie nie działają immunosupresyjnie. Leki te wykazały *in vitro* istotne działanie anti-HCV [21,22] a Debio-025 dodatkowo powodował znaczącą redukcję HCV-RNA u chorych współzakażonych HIV i HCV [23].

CypA występuje w cytoplazmie komórki i jest najpowszechniejszą z cyklofilin, stanowiąc 0,1 do 0,4% wszystkich białek komórkowych [24]. Działanie CsA skierowane jest właśnie na CypA. Nie jest to jednak wystarczające do wywołania aktywności immunosupresyjnej CsA. Kompleks CsA/Cyp łączy się z innym białkiem komórkowym, fosfatazą kalcyneuryny (CaN), znosząc jej aktywność. Powoduje to stłumienie działania czynnika jądrowego aktywowanych komórek T (NF-AT) a co za tym idzie działanie immunosupresyjne CsA [25]. W sposób specyficzny jest włączana do nowopowstałych wirusów HIV-1 poprzez wiązanie z regionem kapsydowym białka prekursorowego Gag [26]. Nie wiadomo jeszcze, kiedy dokładnie w cyklu życiowym HIV-1, dochodzi do aktywacji CypA. Prawdopodobnie CypA oddziałuje na kapsyd HIV-1 we wczesnych fazach replikacji, w czasie usuwania osłonki białkowej. Istnieją przypuszczenia, że w organi-

zmie człowieka CypA moduluje wrażliwość HIV-1 na wciąż nieznaną czynnik restrykcyjny gospodarza [27,28], który prawdopodobnie zakłóca replikację wirusa po wnikięciu do komórki. Poprzez interakcję z CD147⁺, CypA wzbudza przekazywanie sygnałów wewnątrzkomórkowych i chemotaksję komórek układu immunologicznego [29]. Pozostałe izoformy Cyp wykazują ponad 50% zgodność sekwencji z CypA, różnią się natomiast ich wewnątrzkomórkową lokalizacją oraz powinowactwem do CsA. Nadmierna ekspresja cyklofilin takich jak CypA i CypB została stwierdzona w niektórych komórkach nowotworowych stąd prawdopodobny jest ich udział w patogenezie nowotworów [30].

CypB bierze udział w regulacji procesów zapalnych poprzez interakcję z CD147⁺, oddziałuje na płytki krwi [31] oraz podobnie jak CypA, jest silnym czynnikiem chemotaktycznym. Obecnie uważa się że to właśnie CypB odgrywa kluczową rolę w zakażeniu HCV.

CypC odgrywa rolę w procesach zapalnych oraz gojeniu ran [32], a CypD, która znajduje się w mitochondriach komórkowych, jest prawdopodobnie częścią kanałów mitochondrialnych (MPTP – Mitochondrial Permeability Transition Pore) oraz odgrywa rolę w zjawisku uszkodzenia niedokrwiennoreperfuzyjnego [33].

Potwierdzenie roli cyklofilin w replikacji HCV u ludzi spowodowało, że zahamowanie aktywności Cyp stało się ważnym potencjalnym punktem uchwytu dla nowych leków anti-HCV i zwiastuje przełom w terapii zakażenia tym wirusem.

Cyklofiliny a replikacja HCV

Sugerowano, że CypB działa jako regulator funkcji NS5B RdRp, a CsA może zaburzać tę interakcję [17]. Zgodnie z tym odkryciem, dla replikonu genotypu 1 opracowano model replikacji HCV z udziałem CypB [34]. Współdziałanie CypB z NS5B wznaga wiązanie RNA i umożliwia jego replikację. Zatem działanie CsA i innych inhibitorów Cyp polega na zablokowaniu interakcji między CypB a NS5B. Skutkiem tego jest słabsze wiązanie RNA i brak możliwości utworzenia funkcjonalnego kompleksu replikacyjnego RNA [35,36]. Model ten nie odnosi się do genotypu 2a, który jest mniej wrażliwy na CsA w porównaniu z genotypem 1b. Mimo to również w tym replikonie zachodzi interakcja CypB z NS5B [37]. Skutkiem specyficznego zahamowania CypB, jest zmniejszenie ilości HCV-RNA w replikonach genotypu 1b. Natomiast w replikonach genotypu 2a nie uzyskano obniżenia stężenia HCV-RNA mimo supresji CypA lub CypB. Stąd wniosek, że są one niezależne od CypB, w odróżnieniu od replikonów genotypu 1b. Należy więc przypuszczać, że replikony genotypu 2a i genotypu 1b korzystają z tych samych czynników komórkowych ale w inny sposób. Różne systemy regulacji NS5B przy udziale CypB mogą być związane z różną sekwencją lub strukturą NS5B. Mogą wynikać również z takich czynników jak źródło HCV a nie z różnic w genotypie.

Pojawiły się ostatnio doniesienia o oporności *in vitro* komórek replikonów genotypu 1b HCV na CsA [38]. Zamiana izoleucyny na walinę w pozycji 432 (Ile432Val) w genie NS5B spowodowała oporność replikonów HCV na CsA. Istotne jest, że Ile-432 nie należy do regionu wiążącego CypB.

Istnieją również doniesienia o ograniczeniu replikacji HCV po zmniejszeniu ekspozycji na CypA, CypB lub CypC [16].

Stąd, precyzyjny mechanizm interakcji CypB i/lub pozostałych cyklofilin z RdRp NS5B lub innymi białkami HCV wymaga dalszych badań. Pozostaje niewyjaśnione czy wszystkie genotypy HCV korzystają z cyklofilin w ten sam sposób.

Inhibitory cyklofilin

Cyklosporyna

Pod koniec lat 80-tych, w badaniach na szympanсах z zapaleniem wątroby non-A, non-B wykazano, że CsA podawana i.v. w dawce 20 mg/kg przez 4 tygodnie, ograniczyła zmiany ultrastrukturalne w hepatocytach i przejściowo zahamowała postęp choroby [39]. Zaledwie 15 lat później, badania z wykorzystaniem replikonów umożliwiły potwierdzenie efektu anty-HCV pod wpływem CsA. Watashi i wsp. [18] wykazali, że CsA obniża poziom białek HCV i replikonów RNA. Lek ten hamował również namnażanie HCV w zakażonych hodowlach hepatocytów. Aktywność anty-HCV CsA wydawała się być niezależna od jej działania immunosupresyjnego, ponieważ CsA nie hamowała NF-AT. Zostało to potwierdzone przez inną grupę badaczy, którzy wykazali, że FK-506 (podobnie jak CsA posiadający aktywność anty-Ca²⁺ ale nie wiążący się z Cyp) nie działa hamująco na replikację HCV. Co więcej CsD, która nie posiada aktywności immunosupresyjnej ale wiąże się z Cyp hamowała replikację HCV podobnie jak CsA [16]. Dlatego też zasugerowano, że zablokowanie Cyp może leżeć u podstaw aktywności anty-HCV CsA.

Syntetyczne analogi cyklosporyny

CsA wywołuje silne działanie immunosupresyjne, które może pozwalać na „ucieczkę” komórek zakażonych HCV przed układem immunologicznym, co skutkuje proliferacją wirusa. Dwa przeciwstawne efekty działania leku (anty-HCV i działanie immunosupresyjne) sprawiają, że jego zastosowanie jako standardowego leczenia zakażenia HCV jest kłopotliwe. Z tego powodu zostały zsyntetyzowane pochodne CsA pozbawione działania immunosupresyjnego.

Pierwszy z nich NIM-811, opisany w 1990 r. wykazywał *in vitro* silną aktywność anty-HIV [40]. W systemach replikonów HCV NIM-811 wykazywał silniejsze działanie niż CsA, szczególnie w niskim stężeniu (0,5 µg/ml). Jest to prawdopodobnie związane z powinowactwem do Cyp, które jest około dwa razy większe niż CsA [41]. CsA i NIM-811 w połączeniu z IFN-α obniżały stężenie HCV RNA bardziej niż IFN-α w monoterapii. W replikonie HCV stężenie NIM-811 pozwalające na zmniejszenie zawartości HCV RNA o 50% (IC₅₀), wahało się od 0,35 do 0,66 µM. Połączenie NIM-811 z inhibitorem polimerazy HCV dawało synergiczny efekt antywirusowy natomiast w połączeniu z inhibitorem proteazy efekt addycyjny. Dodanie NIM-811 zmniejszało szybkość wytwarzania oporności na inhibitory proteazy i polimerazy HCV [42].

Debio-025 jest kolejną nową syntetyczną pochodną CsA pozbawioną działania immunosupresyjnego, o zdolności wiązania CypA trzykrotnie wyższej niż CsA i silnej aktywności anty-HIV. Debio-025 w badaniach *in vitro* okazał się około 10-krotnie bardziej aktywnym inhibitorem replikacji HCV niż CsA, którego IC₅₀ wynosiło 0,07–0,22 µM [22]. Połączenie IFN-α i/lub rybawiryny z Debio-025 skutkowało działaniem addycyjnym lub synergicznym. Debio-025 zastosowany sam lub w skojarzeniu z innymi lekami anty-HCV pozwalał na całkowite usunięcie replikonów HCV z komór-

rek w odróżnieniu od CsA i inhibitorów proteazy HCV [43]. Debio 0-25 wykazywał jednakową skuteczność w zwalczaniu szczepów dzikich HCV oraz replikonów HCV opornych na inhibitory polimerazy (2'-C-methylcytidine) lub proteazy (VX-950, BIL-2061) [44]. U chimericznych myszy z wszczepionymi ludzkimi hepatocytami zakażonymi genotypem 1a HCV, leczenie skojarzone (Debio-025 100 mg/kg/dzień p.o. i peg-IFN-α 30 µg/kg s.c. dwa razy w tygodniu) przez 2 tygodnie pozwalało bardziej obniżyć poziom HCV RNA niż sam peg-IFN-α (100 razy vs 10 razy) [45]. Trzecim inhibitorem Cyp o silnym działaniu anty-HCV *in vitro* jest SCY-635 [46]. Przedkliniczne dane o inhibitorach Cyp stanowiły podstawę do badań u ludzi zakażonych HCV zarówno w monoterapii jak i w połączeniu z aktualnym standardowym leczeniem (peg-IFN-α z rybawiryną) i/lub ze specyficznymi inhibitorami proteazy lub polimerazy. Wpływając na interakcję gospodarz-wirus, inhibitory Cyp oferują alternatywną strategię w leczeniu zapalenia wątroby typu C i mogą mieć profil oporności zupełnie różny od inhibitorów proteazy i polimerazy, których miejscem działania jest podatny na mutacje genom wirusa [47].

Kliniczne zastosowanie inhibitorów cyklofiliny w leczeniu zakażeń HCV

Pacjenci po transplantacjach otrzymujący CsA, leczeni z powodu nawracającego HCV, mieli wyższą SVR w porównaniu z pacjentami otrzymującymi leki immunosupresyjne pozbawione właściwości hamujących Cyp [24]. Liczne badania przeprowadzone na pacjentach po transplantacji wątroby wykazały również, że rodzaj stosowanego immunosupresora mógł mieć wpływ na ponowne wystąpienie zapalenia wątroby typu C i postęp włóknienia. Stanowiło to podstawę do pogłębienia badań nad korzystnym działaniem CsA w przebiegu zakażenia HCV.

W roku 2003 Inoue i wsp. [20] zakwalifikowano 120 pacjentów z Japonii z przewlekłym, aktywnym zapaleniem wątroby potwierdzonym w biopsji, dodatnim wynikiem HCV RNA w surowicy i z wysoką aktywnością aminotransferazy alaninowej. 44 pacjentów otrzymało standardową japońską dawkę IFN-α_{2b}, a kolejnych 76 otrzymywało skojarzone leczenie IFN-α_{2b} i CsA. przy czym CsA była podawana w dawce 50mg 4 razy dziennie przez 4 tygodnie a następnie 25mg 4 razy dziennie przez kolejne 20 tygodni. SVR w przypadku terapii skojarzonej była znacznie wyższa w porównaniu z monoterapią IFN-α_{2b} (55,3 vs 31,8%; p=0,01). Odpowiedź biochemiczną uzyskano u 60,5% pacjentów leczonych IFN-α_{2b} i CsA oraz u 38,6% w monoterapii (p=0,017). Leczenie było dobrze tolerowane a CsA nie pogłębiała działań ubocznych IFN-α_{2b}.

Cotler i wsp. przeprowadzili badanie w którym oceniono skuteczność CsA w skojarzeniu z IFN alfacon-1 u 10 pacjentów z przewlekłym zakażeniem genotypem 1 HCV, u których sam IFN stosowany przez minimum 3 miesiące był nieskuteczny [48]. CsA zastosowano w dawce dobowej 100 mg przez pierwsze 4 tygodnie i 50 mg pomiędzy 5 a 48 tygodniem. U 3 z 10 pacjentów uzyskano obniżenie HCV RNA poniżej granicy wykrywalności (<100 kopii/ml) w 12 tygodniu leczenia. U kolejnego chorego uzyskano znaczne obniżenie wirerii pomiędzy 24 a 48 tygodniem leczenia. U dwóch pacjentów po zakończeniu leczenia doszło do nawrotu choroby. Na podstawie badania stwierdzono, że wprowadzie istnieją pośrednie dowody na korzyści stosowania interferonu

z CsA w leczeniu anty-HCV, to nie są one wystarczające do zalecenia tej terapii osobom nie odpowiadającym na wcześniejsze leczenie.

Opublikowano niedawno wyniki pierwszego, krótkotermiowego badania nad działaniem anty-HCV Debio-025, selektywnego inhibitora Cyp [23]. Do badania włączono pacjentów współzakażonych wirusami HIV-1 i HCV, którzy w warunkach podwójnie ślepej próby, przez 15 dni otrzymywali 1200 mg Debio-025 (n=16) 2 razy dziennie lub placebo (n=3). W grupie leczonej Debio-025 zanotowano redukcję HCV-RNA o 3,6 log₁₀. U 15 z 16 pacjentów w grupie leczonej Debio-025 (93,8%) uzyskano obniżenie wirerii HCV RNA o przynajmniej 2 log₁₀. W trakcie trwania terapii obniżenie wirerii poniżej poziomu detekcji zanotowano w trzech przypadkach. W podgrupie osób z genotypem 3, bardziej wrażliwym na standardową terapię zanotowano większą redukcję HCV-RNA niż w przypadku genotypów 1 i 4. Tylko u jednego pacjenta terapia była całkowicie nieskuteczna. W grupie leczonej Debio-025 w dobowej dawce 2400 mg najczęstszym działaniem ubocznym była w pełni odwracalna hiperbilirubinemia, spowodowana kompetycyjnym hamowaniem białek transportujących kanalików żółciowych.

Kontynuacja badań klinicznych nad Debio-025 w fazie 2b pozwoliła na ustalenie optymalnej dawki leku, który zastosowany w skojarzeniu z peg-IFN-α zagwarantował wyższą skuteczność niż w badaniu cytowanym powyżej (efekt synergistyczny), przy jednoczesnym braku wspomnianych działań ubocznych. Wyniki tych badań dostarczających jednoznacznych dowodów na przydatność Debio-025 w leczeniu zakażeń HCV, zostały przedstawione podczas Kongresu EASL w kwietniu 2008 [49].

Wyniki badań po przeszczepach wątroby

Pierwotne doniesienia o potencjalnych korzyściach kombinacji standardowego leczenia zakażeń HCV z inhibitorem Cyp

pochodzą z obserwacji pacjentów po transplantacji wątroby. Firpi i wsp. [19] dokonali analizy retrospektywnej 115 pacjentów, u których przeszczepiono wątrobę z powodu marskości spowodowanej zakażeniem HCV. Po stwierdzeniu w biopsji wątroby znacznego stopnia włóknienia, chorzy byli leczeni IFN-α_{2b} lub peg-IFN-α_{2a} w połączeniu z rybawiryną. W ramach standardowej terapii immunosupresyjnej otrzymywali CsA lub tacrolimus (TAC) w połączeniu z prednizonem. W chwili zakończenia terapii, skuteczność w grupie leczonej TAC wynosiła 40% a w grupie leczonej CsA 60%. SVR uzyskało 26 spośród 56 osób (46%) leczonych CsA, oraz 16 z 59 chorych (27%) leczonych TAC (p=0,03). Z kolei Inoue i Yoshida [50] wykazali 66% SVR w otwartym badaniu, które przeprowadzono u 41 pacjentów z genotypem 1b, otrzymujących początkowo dożylną indukację IFN-β, a następnie terapię IFN-a2b z rybawiryną oraz CsA.

Wnioski

Zgodnie z przedstawionymi danymi cyklofiliny odgrywają istotną rolę w replikacji HCV. Mimo, że mechanizm działania na poziomie molekularnym nie jest jeszcze dokładnie wyjaśniony, przyjmuje się za bardzo prawdopodobne, że CypB jest pozytywnym modulatorem RdRp w kompleksie replikacyjnym HCV. Otwiera to drogę dla nowych możliwości leczenia przewlekłego zapalenia wątroby typu C poprzez zaburzanie interakcji na poziomie gospodarz-wirus. Mechanizm działania inhibitorów Cyp jest inny niż w stosownym dotychczas leczeniu opartym na interferonie, które miało za zadanie skierowanie aktywności układu immunologicznego przeciw HCV. Różni się także od nowych inhibitorów proteazy i polimerazy, których punktem uchwytu są enzymy wirusowe. Wyniki dotychczasowych badań wskazują, że inhibitory Cyp mogą być cennym dodatkiem do aktualnego leczenia, poprawiającym trwałą odpowiedź wirusologiczną, stwarzając również możliwość znaczącego skrócenia czasu terapii. Mogą być szczególnie przydatne u pacjentów, u których wyniki standardowej terapii nie są zadowalające lub jest ona przeciwwskazana.

Piśmiennictwo:

1. Hepatitis C – global prevalence (update). Wkly Epidemiol Rec, 2000; 75(3): 18–19
2. Alter HJ: HCV natural history: the retrospective and prospective in perspective. J. Hepatol, 2005; 43(4): 550–52
3. Zoulim F, Chevallier M, Trepo C: Clinical consequences of hepatitis C virus infection. Rev Med Virol, 2003; 13(1): 57–68
4. Hughes CA, Shafraan SD: Chronic hepatitis C virus management: 2000–2005 update. Ann. Pharmacother, 2006; 40(1): 74–82
5. Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR i wsp: Peginterferon α-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. N Engl J Med, 2002; 347(13): 975–82
6. Manns MP, McHutchinson JG, Gordon SC i wsp: Peginterferon α-2b plus ribavirin compared with interferon α-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomized trial. Lancet, 2001; 358(9286): 958–65
7. Reesink HW, Zeuzem S, Weegink CJ i wsp: Rapid decline of viral RNA in hepatitis C patients treated with VX-950: a Phase Ib, placebo-controlled, randomized study. Gastroenterology, 2006; 131(4): 997–1002
8. Kiefer T, Sarrazin C, Miller J i wsp: Combination of telaprevir (VX-950) and PEG-IFN-α suppressed both wild-type virus and resistance variants in HCV genotype 1-infected patients in a 14-day Phase IB study. Hepatology, 2006; 44: A222 (Abstract 92)
9. Zeuzem S, Sarrazin C, Wagner F: Combination therapy with the HCV protease inhibitor, SCH 503034, plus peg-intron in hepatitis C genotype 1 peg-intron non-responders: Phase Ib results. Hepatology, 2005; 42: A276 (Abstract 201)
10. O'Brien C, Godofsky E, Rodriguez-Torres M: Randomized trial of valopicitabine (NM283) alone or with peg-interferon vs retreatment with peg-interferon plus ribavirin in hepatitis C patients with previous non-response PEGIFN/RBV: first interim results. Hepatology, 2005; 42: A234 (Abstract 95)
11. Lawitz E, Nguyen T, Younes Z i wsp: Valopicitabine (NM283) plus PEG-interferon in treatment-naïve hepatitis C patients with HCV genotype-1 infection: HCV RNA clearance during 24 weeks of treatment. Hepatology, 2006; 44: A223 (Abstract 93)
12. Villano S, Howe A, Raible D i wsp: Analysis of HCV NS5B genetic variants following monotherapy with HCV-796, a non-nucleoside polymerase inhibitor, in treatment-naïve HCV-infected patients. Hepatology, 2006; 44: A607 (Abstract 1127)
13. Roberts S, Cooksley G, Dore G i wsp: Results of a Phase IB multiple dose study of R1626 a novel nucleoside analog targeting HCV polymerase in chronic HCV genotype 1 patients. Hepatology, 2006; 44: A692 (Abstract LB2)
14. Koletsky AJ, Harding MW, Handschumacher RE: Cyclophilin: distribution and variant properties in normal and neoplastic tissues. J Immunol, 1986; 137(3): 1054–59
15. Edlich F, Fischer G: Pharmacological targeting of catalyzed protein folding: the example of peptide bond cis/trans isomerases. Handb Exp Pharmacol, 2006; (172): 359–404
16. Nakagawa M, Sakamoto N, Tanabe Y i wsp: Suppression of hepatitis C virus replication by cyclosporin a is mediated by blockade of cyclophilins. Gastroenterology, 2005; 129(3): 1031–41
17. Watashi K, Ishii N, Hijikata M i wsp: Cyclophilin B is a functional regulator of hepatitis C virus RNA polymerase. Mol Cell, 2005; 19(1): 111–22

18. Watashi K, Hijikata M, Hosaka M i wsp: Cyclosporin A suppresses replication of hepatitis C virus genome in cultured hepatocytes. *Hepatology*, 2003; 38(5): 1282–88
19. Firpi RJ, Zhu H, Morelli G i wsp: Cyclosporine suppresses hepatitis C virus *in vitro* and increases the chance of a sustained virological response after liver transplantation. *Liver Transplant*, 2006; 12(1): 51–57
20. Inoue K, Sekiyama K, Yamada M i wsp: Combined interferon α 2b and cyclosporin A in the treatment of chronic hepatitis C: controlled trial. *J Gastroenterol*, 2003; 38(6): 567–72
21. Ma S, Boerner JE, Tiongyip C i wsp: NIM811, a cyclophilin inhibitor, exhibits potent *in vitro* activity against hepatitis C virus alone or in combination with α interferon. *Antimicrob Agents Chemother*, 2006; 50(9): 2976–82
22. Paeshuyse J, Kaul A, de Clercq E i wsp: The non-immunosuppressive cyclosporine DEBIO-025 is a potent inhibitor of hepatitis C virus replication *in vitro*. *Hepatology*, 2006; 43(4): 761–70
23. Flisiak R, Horban A, Gally P i wsp: The cyclophilin inhibitor DEBIO-025 shows potent anti-HCV effect in patients coinfecting with hepatitis C and human immunodeficiency virus. *Hepatology*, 2008; 47(3): 817–26
24. Gothel SF, Marahiel MA: Peptidyl-prolyl cis-trans isomerases, a superfamily of ubiquitous folding catalysts. *Cell Mol Life Sci*, 1999; 55(3): 423–36
25. Stepkowski SM: Molecular targets for existing and novel immunosuppressive drugs. *Expert Rev Mol Med*, 2000; 2000: 1–23
26. Franke EK, Yuan HE, Luban J: Specific incorporation of cyclophilin A into HIV-1 virions. *Nature*, 1994; 372(6504): 359–62
27. Luban J: Cyclophilin A, TRIM5, and resistance to human immunodeficiency virus type 1 infection. *J Virol*, 2007; 81(3): 1054–61
28. Towers GJ, Hatzioannou T, Cowan S i wsp: Cyclophilin A modulates the sensitivity of HIV-1 to host restriction factors. *Nat Med*, 2003; 9(9): 1138–43
29. Yurchenko V, Constant S, Bukrinsky M: Dealing with the family: CD147 interactions with cyclophilins. *Immunology*, 2006; 117(3): 301–9
30. Yao Q, Li M, Yang H i wsp: Roles of cyclophilins in cancers and other organ systems. *World J Surg*, 2005; 29(3): 276–80
31. Allain F, Durieux S, Denys A i wsp: Cyclophilin B binding to platelets supports calcium-dependent adhesion to collagen. *Blood*, 1999; 94(3): 976–83
32. Kong W, Li S, Longaker MT, Lorenz HP: Cyclophilin C-associated protein is up-regulated during wound healing. *J Cell Physiol*, 2007; 210(1): 153–60
33. Waldmeier PC, Zimmermann K, Qian T i wsp: Cyclophilin D as a drug target. *Curr Med Chem*, 2003; 10(16): 1485–506
34. Rice CM, You S: Treating hepatitis C: can you teach old dogs new tricks? *Hepatology*, 2005; 42(6): 1455–58
35. Watashi K, Shimotohno K: Chemical genetics approach to hepatitis C virus replication: cyclophilin as a target for anti-hepatitis C virus strategy. *Rev Med Virol*, 2007; 17(4): 245–52
36. Watashi K, Shimotohno K: Cyclophilin and viruses: cyclophilin as a cofactor for viral infection and possible anti-viral target. *J Drug Target Insights*, 2007; 1: 9–18
37. Ishii N, Watashi K, Hishiki T i wsp: Diverse effects of cyclosporine on hepatitis C virus strain replication. *J Virol*, 2006; 80(9): 4510–20
38. Robida JM, Nelson HB, Liu Z, Tang H: Characterization of hepatitis C virus subgenomic replicon resistance to cyclosporine *in vitro*. *J Virol*, 2007; 81(11): 5829–40
39. Teraoka S, Mishiroy S, Ebihara K i wsp: Effect of cyclosporine on proliferation of non-A, non-B hepatitis virus. *Transplant Proc*, 1988; 20(3 Suppl.3): 868–76
40. Rosenwirth B, Billich A, Datema R i wsp: Inhibition of human immunodeficiency virus type 1 replication by SDZ NIM 811, a nonimmunosuppressive cyclosporine analog. *Antimicrob Agents Chemother*, 1994; 38(8): 1763–72
41. Goto K, Watashi K, Murata T i wsp: Evaluation of the anti-hepatitis C virus effects of cyclophilin inhibitors, cyclosporin A, and NIM811. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006; 343(3): 879–84
42. Lin K, Boerner J, Cooreman M: NIM811, a cyclophilin inhibitor targeting host-viral interaction, significantly enhances the antiviral activity of HCV polymerase inhibitors and reduces the emergence of resistance *in vitro*. 1st International Workshop on Hepatitis C Resistance and New Compounds, Boston, MA, USA, 25–26 October, 2006
43. Paeshuyse J, Coelmont L, Kaul A i wsp: The cyclophilin inhibitor Debio-025 is a potent inhibitor of hepatitis C virus replication *in vitro*. 57th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD). Boston, MA, USA, 27–31 October, 2006
44. Coelmont L, Paeshuyse J, Kaptein S i wsp: The cyclophilin Debio-025, a potent inhibitor of hepatitis C virus replication *in vitro* has a unique resistance profile. 1st International Workshop on Hepatitis C Resistance and New Compounds. Boston, MA, USA, October 25–26, 2006
45. Inoue K, Umehara T, Ruegg UT i wsp: Evaluation of a cyclophilin inhibitor in hepatitis C virus-infected chimeric mice *in vivo*. *Hepatology*, 2007; 45(4): 921–28
46. Houck D, Hopkins S: Preclinical evaluation of SCY-635, a cyclophilin inhibitor with potent anti-HCV activity. *Hepatology*, 2006; 44: A534 (Abstract 934)
47. Neyts J: Selective inhibitors of hepatitis C virus replication. *Antiviral Res*, 2006; 71(1–2): 363–71
48. Cotler SJ, Morrissey MJ, Wiley TE i wsp: A pilot study of the combination of cyclosporin A and interferon alfacon-1 for the treatment of hepatitis C in previous nonresponder patients. *J Clin Gastroenterol*, 2003; 36(4): 352–55
49. Flisiak R, Feinman SV, Jablkowski M i wsp: Efficacy and safety of increasing doses of the cyclophilin inhibitor Debio 025 in combination with pegylated interferon alpha-2a in treatment naive chronic HCV patients. 43rd Annual Meeting of European Association for the Study of the Liver, Milan, Italy, April 23–27, 2008
50. Inoue K, Yoshida M: Interferon combined with cyclosporine treatment as an effective countermeasure against hepatitis C virus recurrence in liver transplant patients with end-stage hepatitis C virus related disease. *Transplant Proc*, 2005; 37(2): 1233–34

Krioglobulinemia występująca w przewlekłych wirusowych zapaleniach wątroby

Cryoglobulinemia in viral chronic hepatitis

Tadeusz Wojciech Łapiński, Robert Flisiak

Klinika Obserwacyjno-Zakaźna Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku,
Wojewódzki Szpital Specjalistyczny im. K. Dłuskiego w Białymstoku

Summary: Mixed cryoglobulinemia can be found in over 50% of HCV infected patients. In the most serious cases it causes vasculitis and injury of renal glomerule. Cryoglobulinemia decreases efficiency of antiviral therapy. On the other hand even if disappears during antiviral therapy, it turns back in 40% of patients after treatment completion. Breakthrough in cryoglobulinemia therapy are new, selective, drugs activating apoptosis in lymphocytes B, responsible for cryoglobulines synthesis.

Słowa kluczowe: krioglobulinemia • zakażenia HBV i HCV • leczenie

Key words: cryoglobulinemia • HBV and HCV infection • treatment

Adres do korespondencji: Robert Flisiak, Klinika Obserwacyjno-Zakaźna Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku, Wojewódzki Szpital Specjalistyczny im. K. Dłuskiego w Białymstoku, ul. Żurawia 14, 15-540 Białystok, Polska, e-mail: flisiakr@poczta.onet.pl

Wstęp

Przewlekłe wirusowe zapalenia wątroby (PWZW) to jedne z najczęstszych chorób zagrażających współczesnemu społeczeństwu. Śmiertelność związana z tymi chorobami, a głównie ich powikłaniami jest duża. PWZW często towarzyszą manifestacje pozawątrobowe związane z zaburzeniami immunologicznymi, zapaleniem naczyń, dermatozami, porfirią czy uszkodzeniem nerek. Nierzadko, pierwotna diagnostyka zaburzeń nerek czy przemian metabolicznych, jak też zmian skórnych, wskazuje, że pierwotną ich przyczyną jest zakażenie HCV lub HBV [1,2]. Jedną z częstszych postaci zaburzeń immunologicznych związanych z zakażeniem HBV i HCV jest krioglobulinemia.

Krioglobulinemia charakteryzuje się obecnością w surowicy specyficznych immunoglobulin. Proces jest bezobjawowy lub cechuje się obecnością zmian zapalnych w małych naczyniach, skórze, stawach, polineuropatii obwodowych i uszkodzeń nerek. W temperaturze 37°C krioglobuliny są rozpuszczone w osoczu. Rozpuszczalność tych białek w surowicy zależy od zawartych w nich ciężkich i lekkich łańcuchów immunoglobulin [3]. Spadek temperatury o około 5°C wpływa na zmiany w ich budowie, zmniejszenie rozpuszczalności i wystąpienie procesów krioprecypitacji. Krioglobuliny wchodzi w skład kompleksów immunologicznych odkładających się w małych naczyniach i powodujących zmiany zapalne. W przypadku lokalizacji w kłębuszkach nerkowych dochodzi do rozwoju błoniastego, rzadziej mezangialnego ich zapalenia, z narastającą niewydolnością nerek. Krioprecypitacja

szybko przebiegająca w niskich temperaturach, powoduje odkładanie się kompleksów immunologicznych w małych tętniczkach i kapilarach skóry prowadząc do ich zakrzepicy, niedokrwienia i martwicy obszarów dotkniętych tym zjawiskiem. Ponadto, krioglobuliny, niezależnie od tworzenia kompleksów immunologicznych, wpływają na wzmożoną lepkość krwi utrudniając prawidłowy jej przepływ w naczyniach włosowatych.

Krioglobulinemia może występować jako choroba zasadnicza – idiopatyczna lub wtórna – stymulowana różnymi procesami chorobowymi. W zależności od rodzaju immunoglobulin wchodzących w skład krioglobulin wyróżniamy krioglobulinemii typu I, cechującą się obecnością monoklonalnych immunoglobulin typu M i G, rzadziej A. Makrokrioglobulinemia Waldenströma najczęściej towarzyszy szpiczakowi mnogiemu, chłoniakom typu Nie-Hodkina oraz monoklonalnym gammopatiom. Najczęściej choroba przebiega bezobjawowo, ale u niektórych chorych, pod wpływem zimna lub nadmiernych stanów emocjonalnych występuje objaw Raynauda związany z napadowym skurczem tętniczek. Objaw ten obserwowany jest głównie na dłoniach i przedramionach jako zblednięcie skóry. W krioglobulinemii typu I może dochodzić do owrzodzenia skóry i martwicy tkanki podskórnej.

Krioglobulinemii typu II i III uznaje się za mieszane. Krioglobulinemia typu II charakteryzuje się jednoczesnym występowaniem immunoglobulin monoklonalnych typu M i poliklonalnych typu G, rzadziej monoklonalnych immunoglobulin typu A i poliklonalnych typu G. W krioglobulinemii

mii typu III obecne są tylko poliklonalne immunoglobuliny typu M. Krioglobulinemia mieszana występuje jako wtórne, w przebiegu zakażeń HBV, HCV, kiły, boreliozy, toksoplazmozy, w przebiegu choroby reumatycznej, tocznia trzewnego, sarkoidozy. W postaciach objawowych u chorych obserwowane są zmiany zapalne stawów, owrzodzenia i martwica skóry, zapalenia naczyń, polineuropatie obwodowe i zapalenia kłębuszków nerkowych.

Immunoglobuliny wchodzące w skład krioglobulin syntetyzowane są w limfocytach B. Są one pobudzane do syntezy nieprawidłowych przeciwciał, w tym autoprzeciwciał w trakcie przewlekłych chorób takich jak zespół Sjögren'a, reumatoidalne zapalenie stawów, tocznia trzewny. Przewlekłe infekcje związane z zakażeniami wirusami limfotropowymi stanowią znaczny odsetek przyczyn pobudzenia limfocytów B do transformacji i syntezy w nich nieprawidłowych immunoglobulin. Do wirusów tych zaliczane są: HCV, wirus Epstein Barr, Herpes 6 i 8. Pobudzenie transformacji limfocytów B jest niekontrolowane, potencjalnie onkogenne. Działanie takie jest typową aktywnością anty-apoptyczną wobec limfocytów B [4]. Coraz częściej zwraca się uwagę na możliwość stymulacji przez niektóre wirusy, w tym przez HCV, limfocytów B do przekształceń w chłoniaki typu Nie-Hodgkina: chłoniaki zbudowane z małych limfocytów, przewlekłej białaczki limfocytarnej, chłoniaki limfoplazmatyczne, chłoniak zbudowany z dużych komórek B [5].

Zakażenie HBV

Wśród przewlekłe zakażonych HBV częstość występowania mieszanej krioglobulinemii wynosi około 13% [6]. Wirus HBV stymuluje limfocyty B do proliferacji, a następnie syntezy krioglobulin, jednak działanie takie jest znacznie słabsze w porównaniu do stymulacji tych limfocytów przez HCV. Stymulacja limfocytów B do syntezy krioglobulin przez HBV jest proporcjonalna do wirēmii. Terapia przeciwwirusowa lamivudyną hamuje replikację HBV i jednocześnie zmniejsza stężenie krioglobulin oraz powodowane przez nie zmiany zapalne w naczyniach [7]. Wydaje się, że stymulacja syntezy krioglobulin jest bardzo swoista. Dowodem na to jest ustąpienie pod wpływem leczenia adefowirem krioglobulinemii związanej z zakażeniem HBV z mutacją YMDD [8]. Ustąpienie krioglobulinemii i jej klinicznych objawów skórnych było ściśle związane z zahamowaniem replikacji mutanta YMDD.

Zakażenie HCV

U ponad 50% chorych zakażonych HCV stwierdza się w surowicy krwi krioglobuliny [9]. HCV ma powinowactwo do limfocytów B powodując ich proliferację i transformację. U pacjentów z przewlekłym wirusowym zapaleniem wątroby typu C dochodzi do wzrostu w surowicy krwi czynnika stymulującego limfocyty B (B-lymphocyte activating factor, BAFF/BLyS) nasilającego produkcję immunoglobulin i aktywację procesów autoimmunologicznych [10]. W pobudzonych przez HCV limfocytach B dochodzi do syntezy krioglobulin, monoklonalnego białka określanego jako czynnik reumatoidalny, autoprzeciwciał przeciw jądrowych [2,11,12]. Ponadto białka HCV wiążą cząsteczki głównego kompleksu zgodności tkankowej (MHC), utrudniając rozpoznanie zakażonej komórki. Jest to jedna z przyczyn zmniejszenia zdolności aktywacji limfocytów T, a w konsekwencji przekazania informacji limfocytom cytotoksycznym o konieczności zniszczenia zainfekowanych przez HCV ko-

mórek. Stan taki stymuluje procesy autoimmunologiczne. Badania Carmack i wsp. wskazały na mniejszą liczbę limfocytów T w tkance wątrobowej zakażonych HCV z krioglobulinemią w porównaniu do chorych bez krioglobulinemii [13]. Potwierdza to istotną rolę limfocytów T w rozwoju zaburzeń immunologicznych.

W zakażeniu HCV, krioglobuliny są syntetyzowane głównie przez limfocyty B, klon VH1-69. Działający na te limfocyty czynnik BAFF nie tylko stymuluje syntezę immunoglobulin, ale również hamuje apoptozę tych komórek. Na hamowanie procesów programowanej śmierci komórek w limfocytach B zakażonych HCV wpływa wzrost w nich syntezy czynnika Bcl-2, który jest supresorem apoptozy [14]. Z drugiej strony, na limfocytach B występuje receptor CD20. Jest to błonowy receptor aktywacji procesów programowanej śmierci komórki. Aktywatorem tego receptora mogą być chimerowe, monoklonalne przeciwciała wykorzystywane obecnie w leczeniu krioglobulinemii [15].

Wśród zakażonych HCV czynnikami zwiększającymi ryzyko krioglobulinemii jest płeć żeńska, długi okres zakażenia HCV oraz nadużywanie alkoholu [16]. Krioglobulinemia występuje częściej wśród zakażonych HCV z zaawansowanym stłuszczeniem lub włóknieniem w wątrobie [17]. Potwierdzeniem tych obserwacji jest częste występowanie krioglobulinemii u chorych z pozapalną marskością wątroby. Wprawdzie terapia przeciwwirusowa zmniejsza procesy prowadzące do krioglobulinemii, jednak sama krioglobulinemia zmniejsza skuteczność leczenia zakażonych HCV [13,18].

Kliniczne objawy krioglobulinemii występują u 30% zakażonych HCV z współistniejącą krioglobulinemią. U tych chorych, najczęściej występuje zespół Raynauda oraz uszkodzenie kłębuszków nerkowych [19]. Coraz częściej prezentowany jest obecnie pogląd, że pozawątrobowe uszkodzenia narządowe występujące w zakażeniu HCV, takie jak zapalenie stawów, włóknienie płuc, dysfunkcja tarczycy, cukrzyca i uogólnione powiększenie węzłów chłonnych w dużym stopniu są związane z współistniejącą krioglobulinemią [20].

Diagnostyka

Najczęstszym badaniem umożliwiającym wykrycie krioglobulin są testy potwierdzające zjawisko krioprecypitacji w surowicy w niskich temperaturach [21]. Testy te są jednak zawodne. Badania Okuse i wsp. [22] wykazały, że użycie do wykrycia krioglobulin dokładniejszych metod, takich jak dyfuzja w żelu agarozowym, wpływa na dwukrotnie częstsze wykrycie krioglobulin w badanej surowicy. Ponadto, badanie takie pozwala na dokładne określenie rodzaju immunoglobulin wchodzących w skład krioglobulin.

Leczenie

Interferonoterapia zakażonych HCV powoduje u 70% chorych zahamowanie syntezy krioglobulin i cofanie się objawów krioglobulinemii takich jak vasculitis, zapalenie kłębuszków nerkowych czy polineuropatie obwodowe [15,23]. Jednak u 40% leczonych, pomimo skutecznej terapii przeciwwirusowej obserwuje się nawrót krioglobulinemii po zakończeniu interferonoterapii [15]. U niektórych chorych, interferonoterapia nasila krioglobulinemię. W takich przypadkach, przerwanie leczenia przeciwwirusowego i podanie glikokortykosteroidów skutecznie zmniejsza krioglobulinemię. Pojedyncze opisy tak

leczonych chorych wskazują, że glikokortykosteroidy nie mają istotnego wpływu na wielkość wirerii HCV [24].

Brak zmniejszenia syntezy krioglobulin u chorych zakażonych HCV i leczonych interferonem może być związane ze złośliwym, nieodwracalnym pobudzeniem przez HCV limfocytów B do syntezy nieprawidłowych immunoglobulin. Rzadko w terapii krioglobulinemii stosowana jest plazmafereza. Zabiegi obarczone są możliwością licznych powikłań i dlatego stosowane są wyjątkowo u chorych z poważnymi powikłaniami naczyniowymi lub polineuropatią obwodową spowodowaną krioglobulinemią [25].

Postępem w leczeniu krioglobulinemii jest terapia preparatem rituximab. Zbudowany on jest z chimerowych przeci-

ciał monoklonalnych skierowanych przeciwko antygenowi CD 20 znajdującemu się na limfocytach B [15]. W badaniach Saadoun i wsp. [26] zastosowanie rituximabu u 21 chorych zakażonych HCV z współistniejącą krioglobulinemią spowodowało całkowite jej ustąpienie u 14 (67%) chorych. Jednoczesne zastosowanie rituximabu przez 4 tygodni z jednoczesnym zastosowaniem interferonu pegylowanego alfa 2b i rybawiryny spowodowało ustąpienie krioglobulinemii u 94% (15 z 16) chorych zakażonych HCV [26].

Przedstawione dane wskazują na znaczenie problemu krioglobulinemii w zakażeniach wirusami hepatotropowymi. Nowe możliwości diagnostyczne oraz terapeutyczne pozwalają na wczesne rozpoznanie ryzyka rozwoju krioglobulinemii i ewentualne wczesne wdrożenie terapii.

Piśmiennictwo:

1. Cianciara J, Jabłońska J: Przewlekłe wirusowe zapalenie wątroby typu C – diagnostyka, obraz kliniczny i leczenie. *Medycyna po Dyplomie*, 2006; 15(3): 28–34
2. Sène D, Limal N, Ghillani-Dalbin P i wsp: Hepatitis C virus-associated B-cell proliferation – the role of serum B lymphocyte stimulator (BlyS/BAFF). *Rheumatology (Oxford)*, 2007; 46(1): 65–69
3. Yagi H, Takahashi N, Yamaguchi Y i wsp: Temperature-dependent isologous Fab-Fab interaction that mediates cryocrystallization of a monoclonal immunoglobulin G. *Mol Immunol*, 2004; 41(12): 1211–15
4. Ferraccioli G, Tulusso B: Infections, B cell receptor activation and autoimmunity: different check-point impairments lead to autoimmunity, clonal B cell expansion and fibrosis in different immunological settings. *Autoimmun Rev*, 2007; 7(2): 109–13
5. Viswanatha DS, Dogan A: Hepatitis C virus and lymphoma. *J Clin Pathol*, 2007; 60(12): 1378–83
6. Christodoulou DK, Dalekos GN, Merkouropoulos MH i wsp: Cryoglobulinemia due to chronic viral hepatitis infections is not a major problem in clinical practice. *Eur J Intern Med*, 2001; 12(5): 435–41
7. Sawabe T, Uenotsuchi T, Imafuku S i wsp: Remission of hepatitis B virus-related vasculitis with lamivudine. *Ann Intern Med*, 2004; 140(8): 672–73
8. Cakir N, Pamuk ON, Umit H i wsp: Successful treatment with adefovir of one patient whose cryoglobulinemic vasculitis relapsed under lamivudine therapy and who was diagnosed to have HBV virologic breakthrough with YMDD mutations. *Intern Med*, 2006; 45(21): 1213–15
9. Cacoub P, Fabiani FL, Musset L i wsp: Mixed cryoglobulinemia and hepatitis C virus. *Am J Med*, 1994; 96(2): 124–32
10. Toubi E, Gordon S, Kessel A i wsp: Elevated serum B-Lymphocyte activating factor (BAFF) in chronic hepatitis C virus infection: association with autoimmunity. *J Autoimmun*, 2006; 27(2): 134–39
11. Nissen MJ, Fontanges E, Allam Y i wsp: Rheumatological manifestations of hepatitis C: incidence in a rheumatology and non-rheumatology setting and the effect of methotrexate and interferon. *Rheumatology (Oxford)*, 2005; 44(8): 1016–20
12. Saadoun D, Landau DA, Calabrese LH i wsp: Hepatitis C-associated mixed cryoglobulinaemia: a crossroad between autoimmunity and lymphoproliferation. *Rheumatology (Oxford)*, 2007; 46(8): 1234–42
13. Carmack S, Taddei T, Robert ME i wsp: Increased T-cell sinusoidal lymphocytosis in liver biopsies in patients with chronic hepatitis C and mixed cryoglobulinemia. *Am J Gastroenterol*, 2008; 103(3): 705–11
14. Schott P, Hartmann H, Ramadori G: Hepatitis C virus-associated mixed cryoglobulinemia. Clinical manifestations, histopathological changes, mechanisms of cryoprecipitation and options of treatment. *Histol Histopathol*, 2001; 16(4): 1275–85
15. Pischke S, Cornberg M, Manns MP: Hepatitis associated cryoglobulinemia. *Internist (Berl)*, 2008; 49(3): 297–304
16. Cacoub P, Sène D, Saadoun D: Cryoglobulinemia. *Rev Med Interne*, 2008; 29(3): 200–8
17. Saadoun D, Asselah T, Resche-Rigon M i wsp: Cryoglobulinemia is associated with steatosis and fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology*, 2006; 43(6): 1337–45
18. Scotto G, Campanozzi F, D'Adduzio A i wsp: Efficacy of alpha interferon treatment in patients with chronic hepatitis C associated to mixed cryoglobulinaemia. *Infez Med*, 2000; 8(4): 216–21
19. Ignatova TM, Serov VV, Mukhin NA i wsp: HCV infection and mixed cryoglobulinemia. *Klin Med (Mosk)*, 2005; 83(6): 37–43
20. Stefanova-Petrova DV, Tzvetanska AH, Naumova EJ i wsp: Chronic hepatitis C virus infection: Prevalence of extrahepatic manifestations and association with cryoglobulinemia in Bulgarian patients. *World J Gastroenterol*, 2007; 13(48): 6518–28
21. Owlia MB, Sami R, Akhondi M i wsp: Cryoglobulinaemia in hepatitis C-positive patients in Iran. *Singapore Med J*, 2007; 48(12): 1136–39
22. Okuse C, Yotsuyanagi H, Okazaki T i wsp: Detection, using a novel method, of a high prevalence of cryoglobulinemia in persistent hepatitis C virus infection. *Hepatology Res*, 2003; 27(1): 18–22
23. Landau DA, Saadoun D, Halfon P i wsp: Relapse of hepatitis C virus-associated mixed cryoglobulinemia vasculitis in patients with sustained viral response. *Arthritis Rheum*, 2008; 58(2): 604–11
24. Sanai T, Watanabe I, Hirano T i wsp: Successful steroid treatment in a patient with membranoproliferative glomerulonephritis associated with hepatitis C virus. *Int Urol Nephrol*, 2008; in press
25. Guillemin L, Pagnoux C: Indications of plasma exchanges for systemic vasculitides. *Ther Apher Dial*, 2003; 7(2): 155–60
26. Saadoun D, Rosenzweig M, Landau D i wsp: Restoration of peripheral immune homeostasis after Rituximab in mixed cryoglobulinemia vasculitis. *Blood*, 2008; w druku

Marskość wątroby związana z HBV i HCV u zakażonych HIV – możliwości leczenia

Treatment of liver cirrhosis connected with HBV and HCV in HIV co-infected patients

Krzysztof Simon

Katedra i Klinika Chorób Zakaźnych, Chorób Wątroby i Nabytych Niedoborów Odpornościowych AM we Wrocławiu

Summary: There is little evidence that coinfection with HBV or HCV affect HIV /AIDS progression, but a lot of published data that HIV coinfection is associated with faster progression of chronic HBV, HCV liver disease. The highly active antiretroviral therapy (HAART, cART) improved the prognosis of HIV/AIDS disease, but the complications of associated HBV, HBV/HDV, HCV liver diseases become more relevant. Moreover several HAART regimes have been associated with steatosis and drug-induced liver disease. Thus, liver diseases among HIV patients become major cause of illness and death.

Słowa kluczowe: marskość • HBV • HCV • HIV • IFN alfa • PEGIFN alfa • analogi nukleo-zydowe, -tydowe

Key words: cirrhosis • HBV • HCV • HIV • IFN alpha • PEGIFN alpha • nucleoside, -tide analogues

Adres do korespondencji: Krzysztof Simon, Katedra i Klinika Chorób Zakaźnych, Chorób Wątroby i Nabytych Niedoborów Odpornościowych AM we Wrocławiu, ul. Koszarowa 5, 51-149 Wrocław, Polska, e-mail: krzysimon@poczta.onet.pl

Wstęp

Zgodnie z definicją WHO marskość wątroby to rozlany proces chorobowy toczący się w mięszu wątroby charakteryzujący się postępującym włóknieniem [1], zaburzeniem prawidłowej cytoangioarchitektoniki mięszu z wyodrębnieniem guzków rzekomych. Tak więc obecność samego włóknienia, niezależnie od stopnia zaawansowania, nie może być traktowana jako marskość. Kryteria podziału marskości wątroby są zróżnicowane: klasyfikujemy więc marskość pod względem etiologicznym (o czym niżej), morfologicznym (drobno-, wielkoguzkowa, postać mieszana), czynnościowym (funkcja wyrównana/niewyrównana), ze względu na aktywność biochemiczną procesu chorobowego (aktywna/nieaktywna) oraz pod względem klinicznym: wrotna, pomartwiczna (HBV, HDV, HCV), dysmetaboliczna, żółciowa, splenomegaliczna. W praktyce klinicznej szczególne znaczenie ma podział etiologiczny ze względu na ewentualną możliwość postępowania przyczynowego oraz podział czynnościowy, który z jednej strony określa cele, możliwości i bezpieczeństwo terapii, a z drugiej strony ma istotne znaczenie rokownicze.

Do najważniejszych przyczyn przewlekłych chorób wątroby, a w konsekwencji marskości wątroby zaliczamy czynniki wi-

rusowe: HBV, HDV, HCV, alkohol, zaburzenia metaboliczne (spichrzanie żelaza, miedzi, zaburzenia gospodarki tłuszczowej i inne), choroby dróg żółciowych, choroby żył wątrobowych i naczyń, zlewiska żyły wrotnej, leki, toksyny, środki chemiczne, zaburzenia immunologiczne, rzadziej inne przyczyny. Z wielu względów u szeregu pacjentów etiologia marskości jest złożona, szczególnie często złożoną etiologię marskości wątroby obserwuje się u pacjentów zakażonych HIV, co w sposób istotny komplikuje możliwości leczenia przyczynowego i wpływa negatywnie na przebieg choroby, a więc i na rokowanie [1–4].

Obraz kliniczny marskości wątroby jest również bardzo bogaty i zróżnicowany, a o ostatecznym przeżyciu decydują różnorodne powikłania (mogące występować wybiórczo lub łącznie) dotyczące praktycznie wszystkich układów. Rzecz interesująca u części pacjentów brak jest istotnych objawów klinicznych, a marskość wątroby stwierdza się przypadkowo np. w trakcie zabiegów chirurgicznych na jamie brzusznej. U większości, choroba ma charakter postępujący; niestety szczególnie szybki postęp choroby obserwuje się u pacjentów z zaburzeniami odporności, w tym u zakażonych HIV [4]. Najbardziej typowe, zwykle nakładające się na siebie i powiązane patogenetycznie powikłania marskości wątroby zestawiono w Tabeli 1.

Z uwagi na złożoność obrazu klinicznego marskości wątroby, w praktyce klinicznej wykorzystuje się systemy klasyfikacyjne ułatwiające rokowanie w tych przypadkach. Do najczęściej stosowanych zaliczmy klasyfikację stopnia zaawansowania marskości wątroby wg Childa-Turcotta-Pough oraz klasyfikację MELD (ang. model for end-stage liver disease). U pacjentów zakażonych HIV, z uwagi na różny stopień niedoboru odporności, jak i sposoby prowadzenia terapii zakażeń HIV/AIDS, wszystkie te systemy klasyfikacyjne mają nie do końca sprecyzowane znaczenie rokownicze [1]. Ocenia się, że u pacjentów nie zakażonych HIV z wyrównaną marskością wątroby szansa przeżycia 10 lat wynosi ok. 47%, z marskością niewyrównaną 5 letnia szansa przeżycia wynosi jedynie ok. 16%, a już 10 letnia szansa przeżycia jest prawie żadna [2,4]. Stąd wszystkie postępowania terapeutyczne, nawet z tak zaawansowaną i nieodwracalną chorobą jak jest marskość, mają szczególnie ważne znaczenie kliniczne.

Epidemiologia zakażeń HBV i HCV u zakażonych HIV

W skali globalnej zakażenia wirusami pierwotnie hepatotropowymi: HAV, HBV, HCV, HDV, HEV, obserwowane u ok. 5% populacji na świecie, zaliczane są do najistotniejszych problemów zdrowia publicznego. Istotnym problemem i to narastającym są zakażenia HBV/HDV/HCV u pacjentów zakażonych HIV, co wynika ze wspólnych dróg szerzenia się tych wirusów (choć o różnej efektywności biologicznej), jak i coraz skuteczniejszej i bardziej dostępnej terapii antyretrowirusowej [1,3,4].

HBV/HDV

U osób immunokompetentnych do chronizacji procesu, a w konsekwencji ewentualnego rozwoju marskości i pierwotnego raka wątroby, dochodzi zasadniczo jedynie w zakażeniu HBV, HBV/HDV i HCV. Znane są też liczne manifestacje pozawątrobowe zakażenia tymi wirusami. U osób z HIV oraz z innymi zaburzeniami odporności, również zakażenie wirusami nie tylko pierwotnie hepatotropowymi, może prowadzić do przewlekłej postępującej patologii mięszu wątroby [1,4].

Ocenia się że znaczni przebytego lub aktualnego zakażenia HBV stwierdza się u ok. 2 mld ludzi na świecie, z tego ponad 350 mln jest przewlekle zakażonych HBV. W Europie (dane EUROSIDA) zakażenie HBV dotyczy także ok. 10% pacjentów równocześnie zakażonych HIV.

W Polsce liczbę zakażonych HBV ocenia się na 320 tys, przy czym zapadalność na zakażenie HBV wynosiła w latach 2000–2007 7,3–3,2/100 tys. i w przeciwieństwie do zakażenia HCV, stale się zmniejsza. Natomiast nieznana i bardzo trudna do oceny jest liczba pacjentów z minireplikacją HBV, bowiem znaczni zakażenia HBV stwierdza się u ok. 20% populacji, w tym obecność HBsAg u 1–1,5%. U ok. 7% zakażonych immunokompetentnych osób dorosłych i aż u 90% niemowląt dochodzi do przejścia procesu zapalnego w stan przewlekły. 1,3–5,9% pacjentów z przewlekłym wirusowym zapaleniem wątroby t. B. rocznie rozwija marskość wątroby, czyli ostatecznie dotyczy to aż 25–40% zakażonych. Wykazano też że 75% rozpoznawanych w świecie pierwotnych raków wątroby (HCC) wykazuje związek patogenetyczny z przewlekłym zakażeniem HBV [1,4–6]. Jest to jeden z najczęściej rozpoznawanych nowotworów a skali globu, do tego coraz częściej

rozpoznawany u współzakażonych HIV. Niestety w momencie rozpoznania HCC jedynie ok. 15% przypadków kwalifikuje się do radykalnego zabiegu chirurgicznego lub przeszczepu wątroby. W grupie pacjentów z infekcją HBV/HCV odsetek ten jest oczywiście znacznie mniejszy; do niedawna pacjenci współzakażeni HIV z zaawansowaną patologią wątroby i/lub HCC w ogóle nie byli brani pod uwagę jako kandydaci do przeszczepu wątroby.

W Polsce od szeregu lat obserwujemy postępującą zmianę sytuacji epidemiologicznej, jak i obrazu klinicznego zakażenia wirusami pierwotnie hepatotropowymi. Wynika to z istotnej poprawy sytuacji sanitarno-epidemiologicznej w skali całego kraju. Wiąże się z przestrzeganiem przez: służbę zdrowia, gabinety kosmetyczne, fryzjerskie itp. surowych przepisów sanitarnych; stosowaniem nowych metod, środków, oraz kontroli sterylizacji, a właściwie autoklawowania sprzętu medycznego; szerokim stosowaniem sprzętu jednorazowego w praktyce klinicznej; wprowadzeniem skutecznych metod profilaktyki czynnej przeciw zakażeniom HBV (obowiązkowy program szczepień) i HAV (dostępna szczepionka), coraz szerszego dostępu do bieżącej wody w warunkach wiejskich (HAV). Te pozytywne trendy zaburza jednak zwiększająca się liczba narko- i lekomanów w tym stosujących środki odurzające i leki dożylnie, w ogromnej większości nie przestrzegających podstawowych zasad sanitarno-epidemiologicznych, oraz wzmoczona – co jest samo w sobie zjawiskiem pozytywnym, mobilność Polaków: turystyka, czasowe migracje zarobkowe. Polska staje się też atrakcyjnym krajem turystycznym, jak i docelowym miejscem emigracji dla wielu obcokrajowców, szczególnie z Europy Wschodniej i Azji.

Istotnym problemem jest też infekcja HBV/HDV [1,2]. Zakażenie HDV stosunkowo często obserwowane w krajach Europy Południowej-najczęściej u narko- i lekomanów, jest w Polsce rozpoznawane sporadycznie, co może też wynikać z utrudnionego dostępu do testów diagnostycznych to zakażenie (w świecie koinfekcję HBV /HDV obserwuje się u 30–60% pacjentów stosujących dożylnie środki odurzające – w Polsce jedynie u 2,3% dożylnych narkomanów). HDV jest tzw. wirusem ulomnym, potrzebującym do swojego namnażania się jednoczesnej obecności HBV w organizmie gospodarza. Współzakażenie tymi dwoma wirusami lub nadkażenie HDV przy uprzednio istniejącym zakażeniu HBV wywołuje przewlekłe zapalenie wątroby o ciężkim przebiegu, z dużą tendencją do rozwoju marskości i/lub raka pierwotnego wątroby, szczególnie agresywny przebieg infekcji HBV/HDV obserwuje się u zakażonych HIV/AIDS.

HCV

Według przybliżonych danych szacunkowych zakażeniem HCV w świecie jest dotkniętych ok. 170 mln osób. W Europie (dane EUROSIDA) zakażenie HCV dotyczy 10–70% pacjentów równocześnie zakażonych HIV [1–4,7]. Niższy odsetek infekcji HCV/HIV obserwuje się w krajach, gdzie dominującą drogą zakażenia HIV jest droga seksualna a więc w krajach Europy Zachodniej. Niestety w krajach gdzie do zakażeń HIV dochodzi głównie w trakcie dożylnego stosowania środków odurzających, a tak się dzieje na Ukrainie i Białorusi, odsetek współzakażonych HCV sięga 70%, w mniejszym stopniu w Polsce (61,2%) a więc problem dotyczy większości zakażonych HIV.

W Polsce liczbę osób zakażonych HCV oceniana jest na ok. 730 tys. Uważa się że dane są niedoszacowane, występuje też

znacznie zróżnicowanie regionalne na terenie Polski, jeśli chodzi o zapadalność na zakażenie HCV. Według raportów Państwowego Zakładu Higieny w ostatnich latach zapadalność na HCV w latach 2000–2007 wynosiła 4,9–7,8/100 tys, co stanowi w wartościach bezwzględnych 2058 osób w 2004 roku i 2993 w 2007 roku, a więc systematycznie wzrasta. Wydaje się jednak że raczej należy mówić o sprawniejszej wykrywalności zakażenia, niż rzeczywistym wzroście zapadalności. Rzeczywista liczba chorych zakażonych HCV jest więc bardzo trudna do oceny [8]. Zakażenie HCV stosunkowo rzadko manifestuje się ostrym jawnym klinicznie zapaleniem wątroby. Niemniej aż u około 70% zakażonych osób obserwuje się przejście w zakażenie przewlekłe, często o skąpo- lub bezobjawowym przebiegu klinicznym. Z tej liczby 20–30% po 20–30 latach rozwija marskość wątroby ze wszystkimi jej konsekwencjami, takimi jak niewydolność wątroby, nadciśnienie wrotne, pierwotny rak wątrobowokomórkowy (HCC).

Oczywiście u szeregu pacjentów zakażonych HIV obserwujemy równoczesną infekcję HBV/HCV, rzadziej HBV/HDV/HCV [7].

Przebieg zakażenia HBV/HCV u zakażonych HIV

Jeszcze 10 lat temu problem infekcji HBV czy HCV u zakażonych HIV był problemem zauważalnym, choć klinicznie marginalnym. Było to związane z brakiem skutecznej terapii HIV, a więc szybkim postępowaniem niedoboru odporności i związaną z tym szybką i wysoką śmiertelnością z powodu AIDS, jeszcze przed rozwojem marskości wątroby czy pierwotnego raka wątroby związanego z zakażeniem HBV czy HCV. Wprowadzenie wysoce aktywnej terapii antyretrowirusowej cART i stałe jej unowocześnianie, zdecydowanie poprawiło rokowanie w tej grupie pacjentów. Niestety w tej sytuacji choroby wątroby związane z zakażeniem HBV, HBV/HDV czy HCV, jak i wszystkimi tymi wirusami łącznie, oraz polekowe uszkodzenia wątroby związane z terapią antyretrowirusową, stały się aktualnie jednym z najważniejszych czynników chorobowości i śmiertelności w grupie zakażonych HIV. Niemniej ciężkie toksyczne uszkodzenia wątroby, szczególnie często występujące u współzakażonych HBV/HDV/HCV, obserwuje się jedynie u ok. 10% pacjentów w trakcie HAART [7–12]. Jeśli chodzi o zakażenie HBV u pacjentów z infekcją HIV to wykazano [2,5]:

- brak wpływu HBV na progresję zakażenia HIV i występowanie AIDS;
- brak wpływu HBV na skuteczność cART;
- wzrost ryzyka rozwoju przewlekłego zapalenia wątroby;
- wyższy stopień replikacji HBV u zakażonych HIV (co jak wiadomo wiąże się z wyższym ryzykiem progresji choroby wątroby);
- obniżony odsetek serokonwersji HBeAg do anty HBeAg;
- niską aktywność biochemiczną procesu chorobowego (niskie wartości ALAT), mimo progresji histologicznej zapalenia wątroby;
- duże ryzyko reaktywacji zakażenia HBV, nasilające się w miarę progresji niedoboru odporności;
- duże ryzyko rozwoju marskości wątroby, pierwotnego raka wątroby i cholestatycznego włókniejącego zapalenia wątroby (ang FCH); ryzyko to jest tym wyższe im większy jest stopień upośledzenia odporności oceniany liczbą limfocytów o fenotypie CD4 (szczególnie <200 limf. CD4/ul,

a także u pacjentów z wysoką replikacją HBV, starszych wiekowo, płci męskiej, dodatkowo zakażonych HDV i/lub HCV;

- znacząco wyższy odsetek zgonów u pacjentów z infekcją HBV/HIV w stosunku do grupy zakażonej jedynie HIV.

Jeśli chodzi o zakażenie HCV dominujące u współzakażonych HIV to wykazano [2,11]:

- brak wpływu HCV na progresję zakażenia HIV i występowanie AIDS;
- brak wpływu HCV na skuteczność cART;
- wzrost ryzyka rozwoju przewlekłego zapalenia;
- wzrost ryzyka rozwoju ostrej niewydolności wątroby i to niezależnie od stopnia zaawansowania choroby wątroby u pacjentów, u których włączono cART;
- duże ryzyko rozwoju marskości wątroby, pierwotnego raka wątroby. Ryzyko to jest tym wyższe im większy jest stopień upośledzenia odporności oceniany liczbą limfocytów o fenotypie CD4 (szczególnie <200 limf. CD4/ul), a także u pacjentów z HIVRNA >10 tys kopii/ml, w wieku >40 r.ż. w momencie zakażenia, płci męskiej, dodatkowo zakażonych HBV/HDV, otyłych, nadużywających alkoholu w przeszłości lub w trakcie zakażenia, z zaburzeniami gospodarki tłuszczowej i żelazowej – hemochromatoza/hemosyderoza. Porównując wyniki długoletnich obserwacji przebiegu zakażenia HCV w grupach współzakażonych HIV i nie zakażonych HIV, w szeregu badaniach klinicznych zaobserwowano w grupie zakażonych HIV, ciągu 10–15 lat obserwacji, rozwój marskości u 15–25% pacjentów i tylko u 2–4% pacjentów nie zakażonych HIV;
- znacząco wyższy odsetek zgonów u pacjentów z infekcją HCV/HIV w stosunku do grupy zakażonej jedynie HIV.

Cele leczenia marskości wątroby

Do podstawowych zaliczamy [1]:

1. Zahamowanie dalszego postępu choroby, a więc jeśli możliwe leczenie przyczynowe i leczenie objawowe.
2. Zapobieganie powikłaniom.
3. Leczenie powikłań.

Leczenie ma charakter kompleksowy i zależy od czynnika sprawczego, jak i od stopnia zaawansowania choroby wątroby.

U pacjentów zakażonych HIV sposób postępowania zależy także od: stopnia zaawansowania zaburzeń odporności, sposobu i charakteru prowadzenia terapii antyretrowirusowej, chorób współistniejących, w tym definiujących AIDS, sposobu leczenia tych chorób, zaburzeń psychicznych często obserwowanych w tej grupie pacjentów, i co szczególnie ważne możliwości racjonalnej współpracy z pacjentem.

W dalszej części pracy, z uwagi na objętość artykułu, skupię się jedynie na możliwościach leczenia przyczynowego HBV, HCV u pacjentów z marskością wątroby współzakażonych HIV.

Cele leczenia przyczynowego zakażeń HCV i HBV u pacjentów z marskością wątroby

Cele te są dokładnie takie same jak u pacjentów z przewlekłym zapaleniem wątroby, czy manifestacjami pozawątrobowymi zakażeń związanych z HBV, HBV/HDV czy HCV i są to:

Tabela 1. Powikłania i następstwa marskości wątroby.

A. nadciśnienie wrotne i jego powikłania
a. rozwój krążenia obocznego żyłaki przełyku i innych narządów rurowych przewodu pokarmowego i ich konsekwencje wtórne (krwotoki, zaburzenia odżywiania, zaburzenia metabolizmu leków);
b. gastro-, entero-, kolopatia wrotna i ich konsekwencje (krwawienia ze śluzówek);
c. poszerzenia naczyńniowe w żołądku (ang. GAVE – obraz „skórki melona” i ich konsekwencje krwawienia);
d. wodobrzusze i jego konsekwencje (np. samoistne bakteryjne zapalenie otrzewnej, przepukliny, niewydolność krążeniowo-oddechową);
e. zastoinowa splenomegalia, zwykle z hypersplenizmem;
B. encefalopatia wątrobowa
C. cholestaza
D. zespół wątrobowo-nerkowy
E. pierwotny rak wątroby – HCC (także postaci mieszane HCC/ChCC)
F. wyniszczenie

- eliminacja HBVDNA lub odpowiednio HCV RNA z surowicy i być może także z tkanek – odpowiedź wirusologiczna (VR-RVR, EVR, ETR, SVR). Choć według współczesnych poglądów, opartych na wynikach bardzo precyzyjnych testów molekularnych rzadko, jeśli w ogóle, uzyskuje się całkowitą eliminację HBV czy HCV;
- stabilizacja i/lub poprawa obrazu histopatologicznego wątroby – odpowiedź histologiczna (HR);
- normalizacja wyników badań biochemicznych – odpowiedź biochemiczna (BR);
- zmniejszenie ryzyka rozwoju HCC;
- zmniejszenie ryzyka rozwoju powikłań marskości wątroby;
- zwiększenie przeżywalności;
- poprawa jakości życia;
- ograniczenie zaraźliwości i szerzenia się zakażeń [5,11,13].

Zasady leczenia zakażenia HBV u pacjentów z HIV i marskością wątroby

Nadal nie dysponujemy lekami wirusobójczymi dla HBV, czy HDV. Do leczenia przewlekłych zakażeń HBV zarejestrowane są następujące leki: interferony alfa klasyczne: alfa 2a, alfa 2b, interferony alfa pegylowane: Pegasys (PEG-IFNalfa2a); interferony: Consensus (będący mieszaniną IFN α , IFN β i IFN γ) i Alfaferon (naturalny IFN α z ludzkich leukocytów); analog nukleozydowy: lamiwudyna, entekawir, telbivudyna (podają w kolejności rejestracji na terenie Polski), analog nukleotydowy: adefowir dipivoxil [13–18].

Czynna narkomania czy alkoholizm czynią leczenie HBV mało efektywne i niebezpieczne, i poza indywidualnymi przypadkami nie powinno być stosowane. Natomiast terapia metadonem nie stanowi przeciwwskazania, a wręcz przeci-

nie ułatwia prowadzenie leczenia antyHBV, niemniej 33% leczonych preparatami IFNalfa pacjentów wymaga korekty dawki metadonu [18].

Liczne przeciwwskazania do leczenia preparatami IFNalfa (należy do nich niewyrównana marskość wątroby kat. B jak i C wg. klasyfikacji Childa) w sposób istotny ograniczają liczbę osób zakażonych HBV u których można w ogóle rozpocząć leczenie przyczynowe. Ponadto u pacjentów z koinfekcją HIV, niezależnie od stopnia zaawansowania choroby wątroby, znaczny niedobór odporności (liczba limfocytów CD4 <350 kom/ul), czyni taką ewentualną terapię mało efektywną. Natomiast terapia analogami nukleozydowymi i nukleotydowymi jest ogólnie dobrze tolerowana i brak jest do niej istotnych p/wskazań. Wykazano że niektóre leki, zarejestrowane do chwili obecnej jedynie do leczenia zakażeń HIV, równocześnie silnie hamują replikację HBV (tenofowir, emtricitabina) co radykalnie zwiększa zakres manewru terapeutycznego. U pacjentów współzakażonych HBV/HIV istnieje stały podstawowy problem wyboru między terapią cART, a terapią zakażenia HBV [16–18].

Uważa się u współzakażonych HBV niezależnie od stopnia nasilenia replikacji HBV, z dokonaną ale wyrównaną marskością wątroby (Child A), przy bezwzględnej konieczności włączenia terapii cART, należy w pierwszym rzucie włączyć terapię antyretrowirusową, której elementem składowym powinien być tenofowir z emtricitabiną lub lamiwudyną (leki te hamują też replikację HBV). Terapia taka musi być bardzo ostrożnie prowadzona i monitorowana. Część leków antyretrowirusowych z patologią wątroby, a szczególnie u pacjentów z marskością wątroby, w ogóle nie może być stosowana z uwagi na znaną znaczną hepatotoksyczność lub niekorzystne interakcje (np. newirapina, didanazyne/tenofowir, saquinawir/adefowir, atazanawir/tenofowir), azydotymidyna, newirapina; ponadto większość leków antyretrowirusowych jest w różnym stopniu metabolizowana w wątrobie [18–20].

Potencjalnie hepatotoksyczne są wszystkie znane leki antyretrowirusowe, jak również szereg leków stosowanych w leczeniu zakażeń oportunistycznych (np. leki przeciwgruźlicze, sulfonamidy czy leki przeciwgrzybicze), chorób nowotworowych, czy zaburzeń psychicznych typowo obserwowanych u pacjentów z AIDS.

Obserwowano także bardzo niebezpieczne gwałtowne zaostrenia procesu zapalnego w wątrobie (ang. flare-up) związane z rekonstrukcją immunologiczną w konsekwencji skutecznej terapii cART. Prowadziło to do niewyrównania funkcji wątroby i niewydolności narządu.

Istnieją też takie sytuacje kliniczne u współzakażonych HBV/HIV, kiedy bezwzględnie konieczne jest włączenie terapii cART jak i leczenia p/HBV. W tych sytuacjach wykorzystujemy cART uwzględniającą w swym schemacie preparaty o działaniu antyHIV i anty HBV omówione wyżej.

U pacjentów z marskością niewyrównaną (Child B i C) aktualnie dostępna terapia cART uwzględniająca omówione wyżej schematy terapeutyczne jest niezmiernie ryzykowana i obarczona licznymi powikłaniami.

Natomiast u współzakażonych HBV/HIV z dokonaną marskością wątroby, niezależnie od stopnia zaawansowania marskości, przy braku konieczności lub możliwości włączenia te-

Tabela 2. Możliwości leczenia zakażenia HBV u pacjentów z marskością wątroby i koinfekcją HIV nie wymagających terapii antyretrowirusowej.

HBeAg	HBVDNA (PCR)	ALAT	Leczenie
Marskość wyrównana			
±	wykrywalny		
	>2000 IU/ml	>×2 lub norma	entekawir (Baraclude) lub adefowir (Hepsera)
	<2000 IU/ml	>×2	leczyć jak wyżej
	<2000 IU/ml	norma	obserwuj
±	niewykrywalny		obserwuj
Marskość niewyrównana			
±	wykrywalny		entekawir lub adefowir i skieruj na LT
±	niewykrywalny		skieruj na LT

terapii cART, należy rozważyć następujące możliwości terapii HBV zestawione w Tabeli 2.

Dawkowanie leków i monitorowanie terapii tymi analogami nukleozydowymi omówiono w ogólnie informacjach dostarczonych przez producentów leków. Nie ustalono jak dotąd optymalnego czasu terapii entekawirem czy adefowirem, ale zaleca się jej kontynuację ponad rok, szczególnie przy wyjściowo nieobecnych HBeAg. U pacjentów HBe+ do czasu serokonwersji do anty HBe, z koniecznym 6 mies okresem konsolidacji (HBVDNA PCR dwukrotnie ujemny). U pacjentów HBe- do czasu serokonwersji HBsAg/antyHBs.

Lamiwudyna i telbivudyna stosowane samodzielnie są przeciwwskazane u pacjentów współzakażonych HBV/HIV

Wynika to z faktu, że lamiwudyna działa również na HIV, a stosowana samodzielnie szybko indukuje mutanty lekooporne zarówno HBV jak i HIV, natomiast telbivudyna choć bezpośrednio nie działa na HIV, indukuje mutanty HBV także oporne na lamiwudynę. W konsekwencji prowadziło by to do eliminacji lamiwudyny, jednego z nielicznych leków działających równocześnie na HBV i HIV, będących ważną składową cART.

U pacjentów z dokonaną marskością wątroby związaną z HBV (marskość niewyrównana jest przeciwwskazaniem) próbowano również stosować w różnych schematach IFNalfa oraz PEGIFNalfa. Wynika to z dowiedzionej skuteczności IFNalfa w leczeniu pacjentów z pzwz t. B oraz możliwości uniknięcia rozwoju oporności na analogi nukleozydowi. IFNalfa był skuteczny i bezpieczny u pacjentów z zaważanym włóknieniem lub wyrównaną marskością wątroby. Nie istotnie statystycznie częściej u pacjentów z marskością obserwowano konieczności zmniejszenia dawki lub wcześniejszego przerwania. Autorzy tych doniesień podkreślają jednak, że zawsze istnieje zawsze ryzyko dekompensacji funkcji wątroby zwią-

zane z zaostrzeniami aktywności choroby w trakcie leczenia. Ostateczną opcją terapeutyczną pozostaje przeszczepienie wątroby, niemniej zabieg jest możliwy jedynie u niewielkiego odsetka pacjentów (konieczny HIVRNA poniżej poziomu detekcji jak i liczba limf. CD4 >200 kom./ul). Duży problem, u zakażonych HIV, stanowi prowadzenie leczenia immunosupresyjnego, po przeszczepieniu wątroby [17–22].

Zasady leczenia zakażenia HCV u pacjentów z HIV i marskością wątroby

Nadal nie dysponujemy lekami wirusobójczymi także dla HCV. W terapii zakażenia HCV obecnie dostępne są jedynie dwie grupy leków, stosowane (poza przypadkami szczególnymi), w terapii skojarzonej: interferon alfa (wyżej wymienione preparaty oraz PEG-Intron czyli pegylowany-interferon alfa2b) i rybawiryna. A więc pod względem terapeutycznym sytuacja jest zdecydowanie gorsza niż u pacjentów z konfekcją HBV/HIV [18,19,23,24]. Także u zakażonych HCV czynna narkomania czy alkoholizm czynią leczenie HCV mało efektywne i niebezpieczne, i poza indywidualnymi przypadkami, takie leczenie nie powinno być stosowane. Terapia metadonem nie stanowi przeciwwskazania do leczenia zakażenia HCV.

U osób z HCV najskuteczniejszą opcją terapeutyczną jest stosowanie interferonu pegylowanego w połączeniu z rybawiryną. Niestety jednym z podstawowych p/wskazań do terapii IFNalfa jest niewyrównana marskość wątroby.

U pacjentów współzakażonych HCV/HIV, podobnie jak u współzakażonych HBV/HIV, także istnieje stały podstawowy dylemat wyboru między terapią cART, a terapią zakażenia HCV. Wszelkie więc decyzje terapeutyczne, szczególnie u pacjentów z dokonaną marskością wątroby, powinny być podejmowane z ogromną rozważą i ostrożnością.

Uważa się u pacjentów z koinfekcją HCV/HIV, niezależnie od stopnia nasilenia replikacji HCV, z dokonaną ale wyrównaną marskością wątroby (Child A), przy bezwzględnej konieczności włączenia terapii cART, należy w pierwszym rzucie włączyć terapię antyretrowirusową, a następnie rozważyć możliwość leczenia konfekcji HCV. U współzakażonych HIV/HCV terapię antyretrowirusową można rozpoczynać wcześniej (z liczbą limfocytów CD4 >350 kom./ul, przy dużej liczbie kopii HIVRNA w surowicy krwi), z uwagi na dowiedziony niekorzystny wpływ wysokiej wirerii HIV na progresję włóknienia i marskości wątroby [2,7,18,23,24]. Leczenie zakażenia HCV u pacjentów z wyrównaną marskością wątroby jest w praktyce możliwe i bezpieczne jedynie u tych pacjentów którzy odpowiedzieli na terapię antyretrowirusową tzn. zoobserwowano u nich wzrost liczby limfocytów CD4 >200 kom./ul i spadek HIVRNA poniżej poziomu detekcji. Z uwagi na znane niekorzystne interakcje lekowe w schemacie cART nie powinno się uwzględniać didanozyny, stawudyny, zydowudyny (niekorzystne interakcje z rybawiryną), a także atazanawiru, combiwiru czy triziwiru [18,19,24].

U pacjentów z marskością niewyrównaną (Child B i C) aktualnie dostępna terapia cART jest niezmiernie ryzykowna i zasadniczo nie powinna być prowadzona.

U pacjentów z marskością w wyrównaną i brakiem konieczności natychmiastowego włączenia cART należy zastosować terapię: PEG-IFN alfa (2a lub 2b) + rybawiryna w dawce >10,6 mg/kg cc, niezależnie od genotypu HCV, przez 12 mie-

sięcy. Leczenie uważa się za skuteczne, jeśli po 24 tygodniach od jego zakończenia nie stwierdza się obecności HCV-RNA w surowicy krwi [23,24]. Trwałą eliminację HCV uzyskuje się u <40% leczonych (biorąc wszystkie genotypy łącznie), a więc niższą niż u pacjentów nie zakażonych HIV. Eliminacja HCV ułatwia prowadzenie terapii antyretrowirusowej.

Piśmiennictwo:

1. Cheney CP,Goldberg EM,Chopra S: Cirrhosis and portal hypertension: an overview.W: Handbook of Liver Disease. 2nd edition, Friedman LS, Keeffe EB (red.),Wyd. Churchill, Livingstone, 2004I 125–37
2. Rockstroh JK: Influence of viral hepatitis on HIV infection. J Hepatol, 2006; 44: S25–27
3. Alter M: Epidemiology of viral hepatitis and HIV-coinfection. J Hepatol, 2006; 44: S6–9
4. Thio CL: Epidemiology and natural history of hepatitis B and HIV. W: HIV and viral hepatitis coinfection. Soriano V (red.),Wyd. Permanyer Publications, 2007, Mallorca, 81–90
5. Benhamou Y: Hepatitis B in the HIV-coinfected patients. J AIDS, 2007; 54:(Supl.2): S57–65
6. Chen CJ, Yang HL, Su J i wsp. For the REVEAL –HBV Study Group. Risk of hepatocellular carcinoma across a biological gradient of serum hepatitis B virus DNA level. JAMA, 2006; 295(1): 65–73
7. Kogel M, Sauter F, Voigt E, Rockstroh JK: The burden of HIV and hepatitis C virus coinfection W: HIV and viral hepatitis coinfection. Soriano V (red.), Wyd. Permanyer Publications, 2007; Mallorca, 1–12
8. Pham TNQ, Mulrooney-Cousins PM, Mercer SE i wsp: Antagonistic expression of hepatitis C virus and alpha interferon in lymphoid cells during persistent occult infection. J Viral Hepatitis, 2007; 14: 537–48
9. Shire NJ, Horn PS, Rouster SD i wsp: HCV kinetics, quasispecies, and clearance in treated HCV infected and HCV-HIV 1 coinfectd patients with hemophilia. Hepatology, 2006; 44(5): 1146–57
10. Kramer JR, Girdano TP,Soucek J, El-Serag HB: Hepatitis C coinfection increases the risk of fulminant hepatic failure in patients with HIV in the HAART era. J Hepatol, 2005; 42: 309–14
11. McGovern B: Hepatitis C in the HIV-infected patients. J AIDS, 2007; 45(Supl.2): S47–56
12. Sulkowski M, Mehta S, Torbenson D i wsp: Unexpected significant liver disease among HIV/HCV –coinfectd persons with minimal fibrosis on initial liver biopsy W: CROI, 2005, Boston, 2005; abs.121
13. Simon K: Skuteczność terapii przeciwwirusowej a problem oporności na analogi nukleozydowi i nukleotydydowe w przewlekłych zakażeniach HBV. Medycyna pod Dyplomem, 2007; 16(10): 26–31
14. Polska Grupa Ekspertów HBV (Juszczak J, Boroń-Kaczmarek A, Cianciara J, Flisiak R, Gładysz A, Halota W, Kryczka W, Małkowski P, Pawłowska M, Simon K): Leczenie przeciwwirusowe przewlekłego wirusowego zapalenia wątroby typu B. Lek w Polsce, 2007; 17(7): 101–3
15. Keeffe EB, Diterich DT, Han SH i wsp: A treatment algorithm for the management of chronic hepatitis B virus infection in the United States: an update. Clin Gastroenterol Hepatol, 2006; 4: 936–62
16. Fung SK, Lok ASF: Management of patients with hepatitis B virus-induced cirrhosis. J Hepatol, 2005; 42(1): S54–64
17. Lok A, McMahon B: Chronic hepatitis B. Hepatology, 2007; 45(2): 507–39
18. Bonacini M: Diagnosis and management of cirrhosis in coinfectd patients. J AIDS, 2007; 54(Supl.2): S38–46
19. Perronne C: Antiviral hepatitis and antiretroviral drug interactions J. Hepatol, 2006; 44: 119–25
20. Benhamou Y: Treatment algorithm for chronic hepatitis B in HIV infected patients. J. Hepatol, 2006; 44: S90–94
21. Buster E, Hansen B, Buti M i wsp: Peginterferon alpha-2b is safe and effective in HBeAg-positive chronic hepatitis B patients with advanced cirrhosis. Hepatology, 2007; 46(2): 388–94
22. Simsek H, Schiff E, Goodman Z i wsp: Efficacy of entecavir and lamivudine in chronic B patients with advanced fibrosis/cirrhosis. J Hepatol, 2007; 46(1): S197, Abstr. 518
23. Sulkowski M: Treatment algorithm for the management of hepatitis C in HIV –coinfectd persons. J Hepatol, 2006; 44(1): S49–55
24. Soriano V, Garcia-Samaniego J, Barreiro P: Treatment of chronic hepatitis C in HIV-infected patients.W: HIV and viral hepatitis coinfection Soriano V (red.),Wyd. Permanyer Publications, 2007; Mallorca, 29–46

Makro-AST jako przyczyna podwyższonej aktywności aminotransferazy asparaginianowej w surowicy krwi

Macro-AST as a cause of elevated activity of serum aspartate aminotransferase

Dariusz Marek Lebensztejn, Anna Romanowska

III Klinika Chorób Dzieci Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku

Summary: Macroenzymes are enzymes in serum that have formed high-molecular mass complex, either by self-polymerization or by association with other serum components (mainly immunoglobulins and lipids). The frequency of macro-AST is low and it has benign evolution. Although the majority of macro-AST cases have been described in asymptomatic individuals, a number of cases have been described in association with hepatitis, inflammatory bowel disease and other autoimmune diseases, hepatic and other malignancies and after specific allergen immunotherapy. We review the literature on the diagnosis and clinical significance of macro-AST in adults and children.

Słowa kluczowe: aminotransferaza asparaginianowa • makro-AST • makroenzymy

Key words: aspartate aminotransferase • macro-AST • macroenzymes

Adres do korespondencji: Dariusz Marek Lebensztejn, III Klinika Chorób Dzieci UM w Białymstoku, ul. Waszyngtona 17, 15-247 Białystok, Polska, e-mail: lebensztejn@hoga.pl

Makroenzymy to enzymy występujące w surowicy krwi, które tworzą kompleksy o wysokiej masie molekularnej na drodze polimeryzacji (self-polymerization) lub połączenia z białkami albo lipidami [1].

Pierwszym, opisanym w 1964 roku makroenzymem, była makro-amylaza [2]. Wykryto ponadto makro-aminotransferazę alaninową i asparaginianową, makro-kinazę kreatynową, makro-dehydrogenazę mleczanową, makro-fosfatazę zasadową, makro-gamma glutamylotranspeptydazę, makro-lipazę i makro-5'-nukleotydazę [1]. Przedstawiono również kazuistyczne opisy jednoczasowego współwystępowania kilku makroenzymów w surowicy krwi np. makro-kinazy kreatynowej i makro-dehydrogenazy mleczanowej u dziewczynki z wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego [3], makro-amylazy i makro-lipazy u chorej z toczniem układowym [4], makro-amylazy i makro-kinazy kreatynowej u chorego z niewydolnością krążenia [5]. Większość makroenzymów to kompleksy z immunoglobulinami (najczęściej IgG, rzadziej IgA – typ I makroenzymów) i lipidami (fosfataza zasadowa, gamma glutamylotranspeptydaza, 5'-nukleotydaza – typ II) [1,6]. Częstość występowania tej patologii nie jest w pełni określona; szacuje się, że można je stwierdzić w surowicy krwi u około 1,5–2,5% ogólnej populacji. Wydaje się, że najczęściej występującym makroenzymem jest makro-amylaza; znacznie rzadziej stwier-

dza się makro-aminotransferazę asparaginianową (makro-AST) [6,7].

Ocena aktywności aminotransferaz w surowicy krwi jest podstawową metodą biochemiczną stosowaną w diagnostyce chorób wątroby zarówno u dorosłych jak i u dzieci. Podwyższona aktywność tych enzymów zwykle świadczy o patologii wątroby; należy jednak pamiętać, że ich źródłem jest nie tylko hepatocyt ale i tkanka mięśniowa (w tym mięsień sercowy), a także w mniejszym stopniu nerki i procesy hemolityczne [8,9]. Ponadto przekraczające normę laboratoryjną aktywności AST stwierdza się niekiedy u osób bezpośrednio po znacznym wysiłku fizycznym [10].

Makro-AST po raz pierwszy zidentyfikowano w 1978 roku u 2 pacjentów dorosłych (u pierwszego z nich wykazano obecność kompleksu AST z IgG, u kolejnego nie zdiagnozowano charakteru kompleksu tego enzymu) [11]. W populacji wieku rozwojowego pierwsze opisy tego zjawiska dotyczyły 13- i 14-letniej dziewczynki z chorobą Crohna [12] i 14-letniego chłopca z wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego [13]. Wykazano, że masa cząsteczkowa makro-AST wynosi 250 kDa, a co się z tym wiąże kompleks ten charakteryzuje się wydłużonym czasem półtrwania w surowicy krwi z powodu obniżonej filtracji nerkowej [14]. Wg Stasia i wsp. [15] makro-AST jest połączeniem cytozolowej formy AST (sAST) z immunoglobuliną G.

Patogeneza powstawania makroenzymów w surowicy krwi nie jest do końca poznana. Nie potwierdzono jak dotąd predyspozycji genetycznej [16], aczkolwiek kazuistyczny opis rodzinnego występowania makro-AST u 3 członków rodziny (matka i dwóch synów) przedstawili Habor i wsp. [17]. Proponuje się 2 hipotezy powstawania makroenzymów: teorię antygenową (antygen-driven theory) i zaburzeń tolerancji immunologicznej (dysregulation of immune tolerance theory) oparte o zjawiska immunologiczne prowadzące do produkcji autoprzeciwciał [1,18]. Potwierdzeniem tych hipotez może być spostrzeżenie częstszego występowania makroenzymów u chorych ze schorzeniami o podłożu autoimmunologicznym tj. toczeń układowy, reumatoidalne zapalenie stawów, zeszytniające zapalenie stawów kręgosłupa [14]. Kazuistyczne opisy dotyczą występowania makro-AST u chorych z nieswoistymi zapaleniami jelit [12,13] czy poddanych immunoterapii swoistej [18]. Wykazano ponadto częstsze występowania makroenzymów u pacjentów ze schorzeniami nowotworowymi (rak żołądka, prostaty, sutka) [6]. W przeważającej większości przypadków obecność makro-AST jest objawem izolowanym i nie związanym z patologią wątroby; wykazano jednak obecność powyższych kompleksów enzymatycznych u pacjentów z ostrymi i przewlekłymi zapaleniami wątroby [19–21]. Stwierdzono ponadto, że surowicza aktywność AST u pacjentów z rozpoznaniem makro-AST może zmieniać się podczas długofalowej obserwacji i w niektórych okresach pozostawać nawet w granicach normy laboratoryjnej [22].

Należy podkreślić, że obecność makroenzymów stwierdza się najczęściej u osób starszych; jedynie obecność makro-AST częściej obserwowano u osób młodych [23]. Nieliczne publikacje dotyczą dzieci. Fortunato i wsp. [24] przedstawili opis 10 dzieci z podwyższoną surowiczą aktywnością AST, spośród których u 4-ga stwierdzono makro-AST (u 2-ch pacjentów wykazano obecność kompleksu AST z IgG). Wierzbicka i wsp. [25] potwierdzili obecność makroenzymu u 20% dzieci ze stwierdzaną izolowaną podwyższoną aktywnością AST w surowicy krwi. Identyczny odsetek dzieci z makro-AST wykazano w badaniach własnych [26]. Opisy pojedynczych przypadków zamieścili Perrault i wsp. [12], Tajiri i wsp. [13], Wiltshire i wsp. [27] i Vajro i wsp. [28].

Piśmiennictwo:

1. Remaley AT, Wilding P: Macroenzymes: biochemical characterization, clinical significance and laboratory detection. *Clin Chem*, 1989; 35(12): 2261–70
2. Wilding P, Cooke WT, Nicholson GI: Globulin-bound amylase: a cause of persistently elevated levels in serum. *Ann Intern Med*, 1964; 60: 1053–59
3. Pascarella F, Caropreso M, Miele E i wsp: Macro-creatine kinase and macro-lactate dehydrogenase in a girl with ulcerative colitis. *Dig Liv Dis*, 2007; 39: 780–81
4. Goto H, Wakui H, Komatsuda A i wsp: Simultaneous macroamylasemia and macrolipasemia in a patient with systemic lupus erythematosus in remission. *Internal Medicine*, 2000; 39(12): 1115–18
5. Gallucci F, Madrid E, Esposito P i wsp: Association of macroamylasemia and type I macro-creatine kinasemia. A case report. *JOP*, 2007; 8(5): 605–8
6. Sturk A, Sanders GTB: Macro enzymes: prevalence, composition, detection and clinical relevance. *J Clin Chem Clin Biochem*, 1990; 28(2): 65–81
7. Lee KN, Csako G, Bernhardt P i wsp: Relevance of macro creatine kinase type 1 and type 2 isoenzymes to laboratory and clinical data. *Clin Chem*, 1994; 40: 1278–83
8. Rutledge J, Anderson J, Fink DW i wsp: Persistent hypertransaminasemia as the presenting finding of childhood muscle disease. *Clin Pediatr*, 1985; 24: 500–3
9. Lebensztejn DM, Kaczmarek M, Semeniuk J: Elevated aminotransferases activity in blood serum as a biochemical sign of muscular dystrophy in children with suspected damage of liver cell. *Med Sci Monit*, 1997; 3: 929–31
10. Green RM, Flamm S: AGA technical review on the evolution of liver chemistry tests. *Gastroenterology*, 2002; 123: 1367–84
11. Kontinen A, Murros J, Ojala K i wsp: A new cause of increased aspartate aminotransferase activity. *Clin Chem Acta*, 1978; 84: 145–47
12. Perrault J, O'Brien JF, Tremaine WJ: Macrotransaminase of aspartate aminotransferase (AST): a benign cause of elevated AST activity. *J Pediatr*, 1990; 117: 444–45
13. Tajiri H, Nakano T, Kozaiwa H i wsp: Immunoglobulin-complexed aspartate aminotransferase with a possible association with ulcerative colitis and its activity. *J Clin Lab Immunol*, 1992; 38(1): 41–49
14. Galasso PJ, Litin SC, O'Brien JF: The macroenzymes: A clinical review. *Mayo Clin Proc*, 1993; 68: 349–54
15. Stasia MJ, Surla A, Renversez JC i wsp: Aspartate aminotransferase macroenzyme complex in serum identified and characterized. *Clin Chem*, 1994; 40(7): 1340–43

16. Klonoff DC: Macroamylasemia and other immunoglobulin-complexed enzyme disorders. *West J Med*, 1980; 85: 88-90
17. Habiør A, Holska W, Sadowski T i wsp: Familial occurrence of macromolecular aspartate aminotransferase (macro-AST). *Gut*, 2002; 51(Suppl. III): 253 (abstract)
18. Triester SL, Douglas DD: Development of macro-aspartate aminotransferase in a patient undergoing specific allergen injection immunotherapy. *Am J Gastroenterol*, 2005; 100: 243-45
19. Collins J, Ritter D, Bacon BR i wsp: Macro-aspartate aminotransferase in a female with antibodies to hepatitis C virus. *Liver*, 2002; 22(6): 501-6
20. Kanemitsu F: Aspartate aminotransferase-immunoglobulin G complex in sera of two patients with acute hepatitis and immunoblastic lymphadenopathy. *Clin Chim Acta*, 1986; 161: 353-54
21. Foust R, O'Brien JF, Schiff ER: Isolated aspartate aminotransferase elevation due to macroenzyme formation with liver biopsy correlation. *Am J Gastroenterol*, 1990; 85(1): 88-90
22. Orlando R, Carbone A, Lirussi F: Macro-aspartate aminotransferase (macro-AST). A 12 year follow-up study in a young female. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 2003; 15: 1371-73
23. Davidson DF, Watson DJM: Macroenzyme detection by polyethylene glycol precipitation. *Ann Clin Biochem*, 2003; 40: 514-20
24. Fortunato G, Iorio R, Esposito P i wsp: Macroenzyme investigation and monitoring in children with persistent increase of aspartate aminotransferase of unexplained origin. *J Pediatr*, 1998; 133(2): 286-89
25. Wierzbicka A, Janczyk W, Socha P i wsp: Seeking for macro-AST and macro-ALT in children with hypertransaminasemia of an unknown origin. *Proceedings of the 40th Annual Meeting of the ESPGHAN*; 2007 may 9-12; Barcelona, Spain: 56
26. Lebensztejn DM, Romanowska A, Skiba E i wsp: Macro-AST as a cause of isolated elevated serum activity of aspartate aminotransferase in children. *Exp & Clin Hepatol*, 2007; 3(4): 25-27
27. Wiltshire EJ, Crooke M, Grimwood K: Macro-AST: A benign cause of persistently elevated aspartate aminotransferase. *J Pediatr Child Health*, 2004; 40: 642-43
28. Vajro P, Lofrano MM, Fontanella A i wsp: Immunoglobulin complex AST (Macro-AST) in an asymptomatic child with persistent hypertransaminasemia. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 1992; 15(4): 458-60
29. Tharakan J, Hossenbocus A, Arthur MJP: Macromolecular aspartate aminotransferase. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 1998; 10(12): 1055-56
30. Levitt MD, Ellis C: A rapid and simple assay to determine if macroamylase is the cause of hyperamylasemia. *Gastroenterology*, 1982; 83: 378-82
31. Caropreso M, Fortunato G, Di Cosmo N i wsp: Long-term course of macro-aspartate aminotransferase (macro-AST) in children. *Dig Liv Dis*, 2007; 39: 66(abstract)
32. Briani C, Zaninotto M, Forni M i wsp: Macroenzymes: too often overlooked. *J Hepatol*, 2003; 38: 119

β -heksozoaminidaza w diagnostyce chorób wątroby

β -hexosaminidase in liver diseases

Sławomir Dariusz Szajda¹, Alina Kępka², Napoleon Waszkiewicz³,
Jadwiga Snarska⁴, Beata Zalewska-Szajda⁵, Magdalena Waszkiewicz⁶,
Małgorzata Borzym-Kluczyk¹, Anna Jankowska⁷, Joanna Jakimowicz-Rudy¹,
Sylwia Chojnowska⁸, Danuta Dudzik¹, Jacek Dobryniewski⁹,
Małgorzata Knaś¹, Ewa Dutkiewicz¹⁰, Anna Stypułkowska¹,
Katarzyna Raczkowska^{1,4}, Agnieszka Zaniewska¹, Justyna Marciniak¹,
Marta Bruczko¹, Maciej Sadowski¹¹, Krzysztof Zwierz¹

¹ Zakład Biochemii Farmaceutycznej, Białystok

² Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej Instytutu „Pomnik-Centrum Zdrowia Dziecka” w Warszawie

³ Klinika Psychiatrii, Białystok

⁴ I Klinika Chirurgii Ogólnej i Endokrynologicznej, Białystok

⁵ Zakład Diagnostyki Obrazowej, SPDSK w Białymstoku

⁶ Wojewódzki Szpital im J. Śniadeckiego w Białymstoku

⁷ Zakład Stomatologii Dziecięcej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

⁸ Instytut Medyczny Państwowej Wyższej Szkoły Informatyki i Przemysłowości w Łomży

⁹ Samodzielny Publiczny Psychiatryczny ZOZ w Choroszczu

¹⁰ Akademia Świętokrzyska w Kielcach, Instytut Kształcenia Medycznego, Wojewódzki Szpital Zespolony, Oddział Obserwacyjno-Zakaźny w Kielcach

¹¹ Oddział Chirurgii Ogólnej i Naczyniowej, Wojewódzki Szpital Specjalistyczny w Olsztynie

Summary: Activity of N-acetyl- β -hexosaminidase (HEX) in serum and urine may be a marker of liver disease. HEX is the lysosomal exoglycosidase which releases N-acetylglucosamine and N-acetylgalactosamine from non-reducing ends of oligosaccharide chains of glycoproteins, glycolipids and proteoglycans. Isoenzymes HEX A and HEX B have different structure, sensitivity for heating and neuraminidase treatment, as well as mobility in electric field. Activity of HEX and its isoenzymes in serum may be a marker for detection and monitoring of autoimmune hepatitis, autoimmune hepatitis with accompanying cholestasis and primary biliary cirrhosis. Activation of hepatocytes increases activity of HEX, transaminases and concentration of cholestasis indicators in serum, but activation of the Kupfer cells increases activity of lysosomal enzymes, mainly HEX. Acute and chronic damage to hepatocytes by alcohol and its metabolites increases HEX activity in serum and urine.

Słowa kluczowe: N-acetylo- β -heksozoaminidaza (HEX) • autoimmunologiczne zapalenie wątroby (AZW) • autoimmunologiczne zapalenie wątroby z cholestazą (CholAZW) • przewlekła żółciowa marskość wątroby (PZMW) • choroba alkoholowa

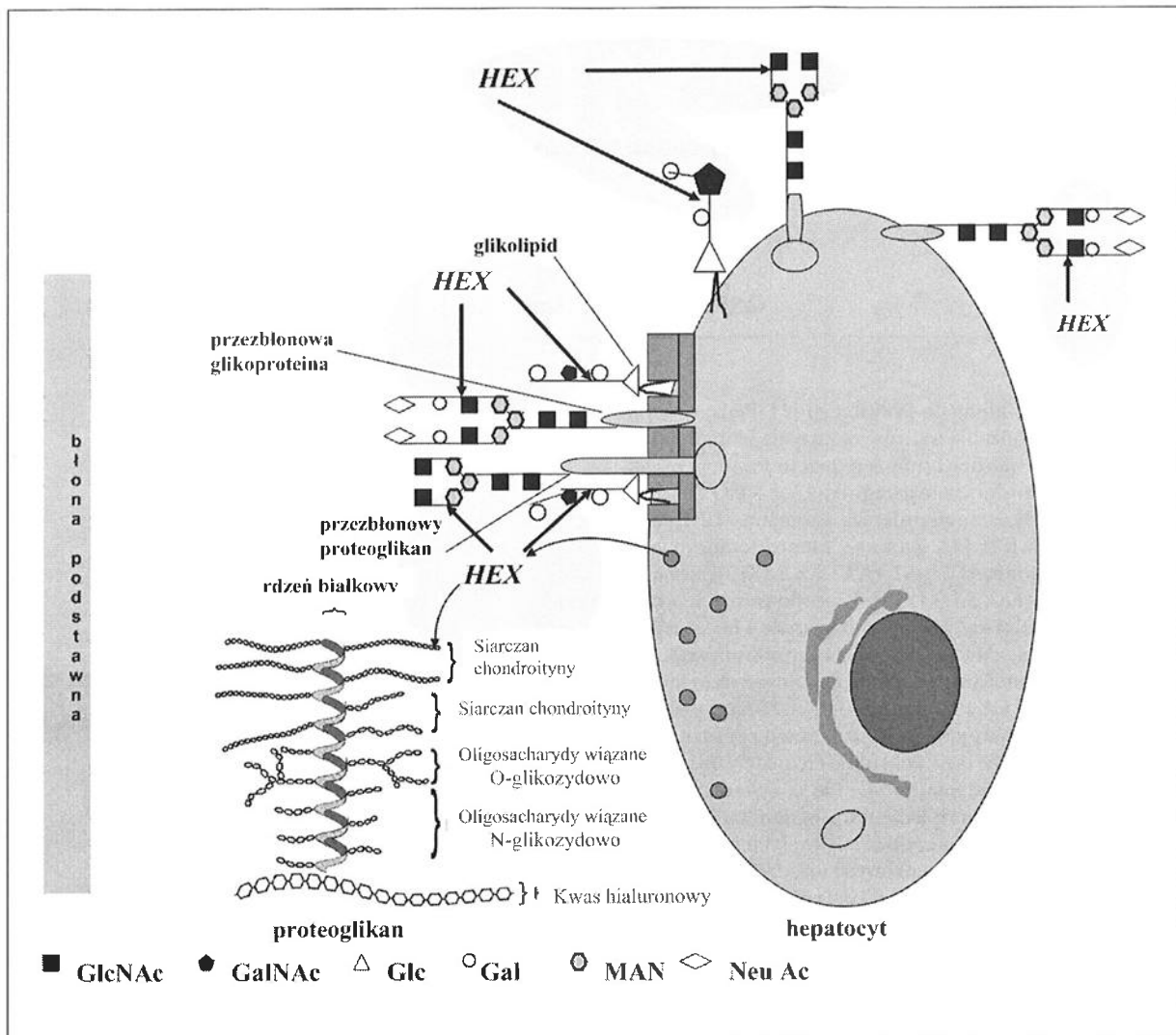
Key words: N-acetyl- β -hexosaminidase (HEX) • autoimmune hepatitis • autoimmune hepatitis with cholestasis • primary biliary cirrhosis • alcoholic disease

Adres do korespondencji: Sławomir D. Szajda, Zakład Biochemii Farmaceutycznej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku, ul. Mickiewicza 2, 15-230 Białystok, Polska, e-mail: spoak@umwb.edu.pl

Wstęp

Głównym zadaniem wątroby jest wstępna obróbka pokarmów wchłoniętych w przewodzie pokarmowym oraz wydzielanie żółci. Wątroba jest również „fabryką” przerabiającą i produ-

kującą lub wydzielającą: glukozę i glikogen, cholesterol, kwasy tłuszczowe i fosfolipidy, białka regulacyjne, białka osocza oraz niektóre aminokwasy i mocznik [1]. W wątrobie ulega ją przemianie toksyna egzo- i endogenne [2]. Wątroba magazynuje duże ilości krwi, która w razie potrzeby np. krwoto-



Rycina 3. Struktury oligosacharydowe degradowane przez HEX.

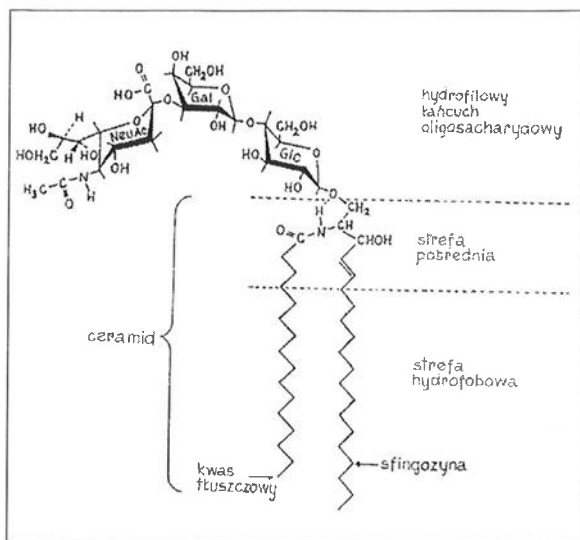
kami wielkocząsteczkowymi, zbudowanymi z łańcuchów oligosacharydowych (glikoproteiny i glikolipidy), lub poliheterosacharydowych (proteoglikany) połączonych z białkiem lub lipidem. Łańcuchy cukrowe mogą być połączone kowalencyjnie z białkiem albo lipidem wiązaniem N-glikozydowym (Rycina 1) lub O-glikozydowym.

Glikoproteiny są to białka złożone, zbudowane z rdzenia białkowego, do którego przyłączane są łańcuchy węglowodanowe (glikanowe) [30] (Rycina 3). Do glikoprotein należą białka strukturalne, transportowe, receptorowe, wydzielnicze oraz białka o właściwościach immunologicznych: immunoglobuliny, antygeny zgodności tkankowej, kodowane przez geny MHC [31]. Glikoproteiny błonowe zakotwiczone są do błony komórkowej łańcuchami polipeptydowymi. Łańcuchy oligosacharydowe glikoprotein znajdują się na zewnętrznej powierzchni błony, tworzą płaszcz (zwany glikokaliksem), chroniący powierzchnię komórki przed proteolizą, patogennymi bakteriami, wirusami i denaturacją. Uważa się, że łańcuchy oligosacharydowe glikoprotein są nośnikami informacji w procesach rozpoznawania biologicznego [32]. Transportery glikoproteinowe przenoszą przez błonę komórkową do cytoplazmy kwasy żółciowe [33], glukozę, insulinę, czynniki wzrostu oraz wychwytyją z krążenia białka

posiadające charakterystyczne fragmenty łańcucha oligosacharydowego, takie jak: ceruloplazminę, alfa 1-glikoproteiny, N-acetylo-beta-heksozaminidazę [34].

Glikolipidy są odrębną grupą glikokonjugatów, w których jedna lub kilka reszt cukrowych połączonych jest O-glikozydowo z ceramidem (Rycina 4). Zawierają od kilku do kilkunastu reszt cukrowych, m. in. N-acetylogalaktozaminę, galaktozę, fukozę, ale nie zawierają mannozy [35]. Glikolipidy stanowią główny składnik lipidowy błon cytoplazmatycznych. Oddziaływania glikolipidów z innymi składnikami błony poprzez wiązania wodorowe stabilizują strukturę błony komórkowej i decydują o jej właściwościach fizykochemicznych. Ceramid, kluczowy metabolit w biosyntezie i degradacji glikosfingolipidów uczestniczy w przetwarzaniu sygnałów zewnątrzkomórkowych, które prowadzą do proliferacji komórki, różnicowania, zatrzymania cyklu komórkowego i apoptycznej śmierci komórki [36].

Proteoglikany (Ryciny 3 i 5) są grupą glikoprotein zbudowanych z białka, do którego dołączony jest jeden lub więcej łańcuchów glikozoaminoglikanowych. Produkowane są prawdopodobnie w większości tkanek, gdzie występują zarówno w komórkach, jak i w przestrzeni pozakomórkowej



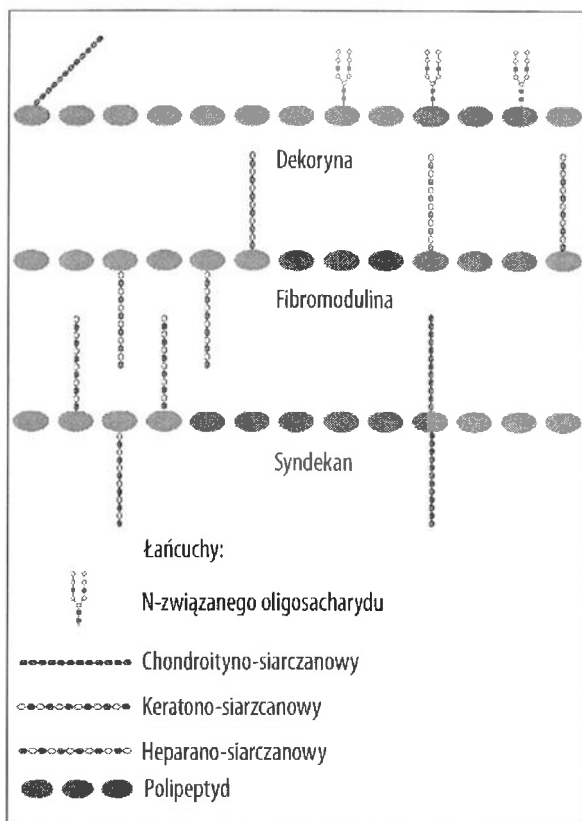
Rycina 4. Budowa glikolipidu.

[37]. Proteoglikany wątrobowe to glikoproteiny zbudowane z łańcucha polipeptydowego, do którego dołączony jest 1 (betaglikan, dekoryna), 1-3 (syndekan) czy 2-15 (perla-kan) łańcuchów glikozoaminoglikanowych (Rycina 5) [38]. Glikozoaminoglikany to liniowe polimery, zawierające od 40 do około 25000 powtarzających się disacharydowych jednostek (Rycina 6), złożonych z N-acetylowanej heksozoaminy (N-acetyloglukozoaminy lub N-acetylogalaktozoaminy), połączonej wiązaniem glikozydowym z kwasem uronowym (D-glukuronowym lub L-iduronowym) bądź z galaktozą [38]. Każda grupa hydroksylowa znajdująca się na powierzchni glikozoaminoglikanu, wiąże dwie cząsteczki wody, przy pomocy wiązań wodorowych. Dodatkowo ujemne ładunki grup karboksylowych i siarczanowych na powierzchni glikozoaminoglikanów wiążą znaczną liczbę uwodnionych kationów sodowych, co sprawia, że proteoglikany tak łatwo pochłaniają wodę (są hydrofilowe). Proteoglikany posiadają zdolność wytwarzania dużego ciśnienia osmotycznego oraz do nadania tkance turgoru. Ponadto glikozoaminoglikany proteoglikanów regulują aktywność: inhibitorów proteaz, lipoprotein osoczowych, cytokin i lipaz, a także tempo proliferacji komórek. Proteoglikany oddziałują specyficznie lub niespecyficycznie z białkami za pośrednictwem rdzenia białkowego proteoglikanu i/lub łańcuchów glikozoaminoglikanowych [39].

Katabolizm glikokoniugatów

Glikokoniugaty podlegają ciągłej wymianie obejmującej rozkład starych cząsteczek i syntezę nowych. Degradacja glikokoniugatów zachodzi głównie w lizosomach przy udziale lizosomalnych enzymów hydrolitycznych. W rozkładzie glikokoniugatów udział biorą między innymi egzoglikozydazy, które w kwaśnym środowisku lizosomu odszczepiają pojedyncze reszty cukrowe od końca nieredukującego oligosacharydu. Egzoglikozydazy katalizują reakcje rozpadu wiązań glikozydowych w łańcuchach cukrowych, a każdy produkt reakcji poprzedniej jest substratem reakcji następnej [40] (Rycina 7).

Hydroliza łańcucha oligosacharydowego zachodzi zarówno od końca nieredukcyjnego (z dala od łańcucha polipeptydowego) jak i redukcyjnego (w pobliżu łańcucha polipep-

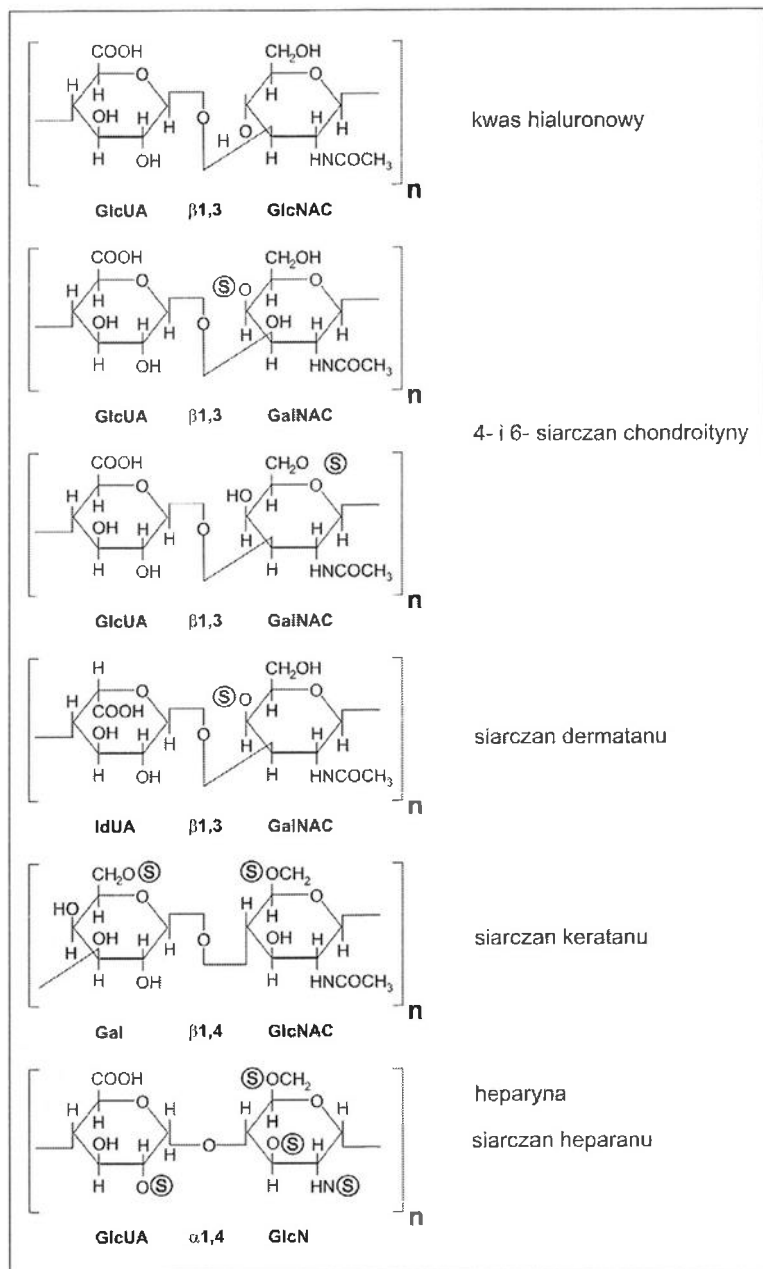


Rycina 5. Budowa proteoglikanów (według Lebensztejn i wsp.) [38].

tydowego). Rozkład glikoprotein rozpoczynają proteiny, które trawia łańcuch peptydowy, odszczepiając jednocześnie łańcuch cukrowy od asparaginy łańcucha polipeptydowego. W O-wiązanych łańcuchach oligosacharydowych glikoprotein endo- α -N-acetylogalaktozaminidaza hydrolizuje wiązanie O-glikozydowe między N-acetylogalaktozaminą a seryną lub treoniną, odszczepiając łańcuch oligosacharydowy od rdzenia białkowego. Od końca nieredukcyjnego sialidaza odszczepia kwas sialowy, a β -galaktozydaza resztę β -galaktozy. Równocześnie na końcu redukcyjnym α -fukozydaza uwalnia α -fukozę [41]. Asparatylglikozoaminidaza rozkłada wiązanie N-glikozydowe między łańcuchem cukrowym, a asparaginą [30]. Kolejnym etapem rozkładu łańcucha oligosacharydowego jest hydroliza wiązań między N-acetyloglukozoaminą (wcześniej połączoną z asparaginą), a N-acetyloglukozoaminą pozostałej części łańcucha cukrowego. W tej reakcji udział bierze endo-N-acetyloglukozoaminidaza. Jednocześnie z końca nieredukcyjnego N-acetylo- β -heksozoaminidaza odszczepia N-acetyloglukozoaminę połączoną z mannozą. Końcowym etapem katabolizmu glikoprotein jest działanie α i β mannozydaz, które odcinają reszty α i β -mannozydowe z nieredukującego końca oligosacharydu [11].

HEX jako wskaźnik cholestazy

W piśmiennictwie próby skorelowania aktywności transaminaz i enzymów cholestatycznych z aktywnością HEX nie przyniosły jednoznacznych wyników. W różnych typach marskości wątroby stwierdzano korelacje między aktywnością osoczowej HEX i aminotransferazami, podczas gdy w cholestazie tych zależności nie obserwowano [42]. Doniesienie Hultberg'a i wsp. [43] wskazuje na korelację między stężeniem bilirubiny



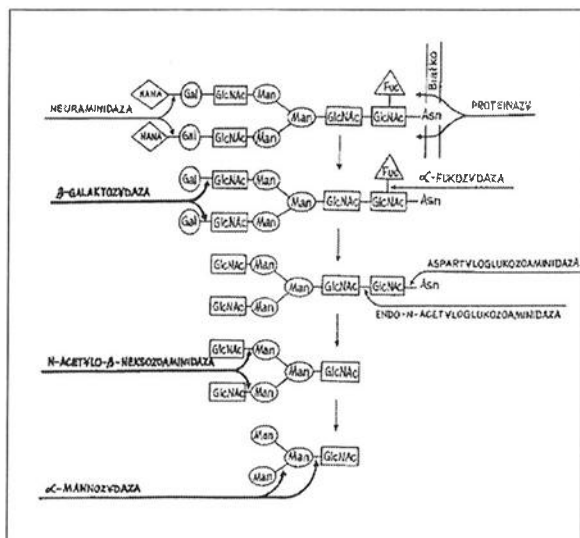
Rycina 6. Heksozamiiny w jednostkach disacharydowych glikozaminoglikanów (według Lebensztejn i wsp.) [38]. (Gal-galaktoza, GalNAc-N-acetylogalaktozamina, GlcN-glukozaamina, GlcNAc-N-acetyloglukozamina, GlcUA- kwas glukuronowy, IdUA- kwas iduronowy.

i aktywnością osoczowej HEX. Hultberg i wsp. [44] wykazali istnienie wzajemnej korelacji pomiędzy nasileniem cholestazy, bilirubiną i aktywnością HEX. Hultberg'a i wsp. stwierdzili znamiennej statystycznie dodatnią korelację pomiędzy HEX i HEX B a stężeniem bilirubiny, jednego z najważniejszych wskaźników prognostycznych w grupie chorych z przewlekłą żółciową marskością wątroby (PŻMW) [45].

HEX jako wskaźnik zapalnego uszkodzenia wątroby

Uwolnione do krążenia enzymy lizosomalne, w tym HEX, są wychwytywane przez specyficzne receptory zlokalizowane na powierzchni makrofagów, w tym również makrofagów wątrobowych rozpoznających mannozę wchodzącą w skład HEX [34]. Przyczyną wzrostu aktywności HEX i jej izoenzymów w surowicy krwi może być zahamowanie wychwytywania HEX przez makrofagi układu siateczkowo-śródbłonkowego

(mechanizm postulowany w uszkodzeniach wątroby spowodowanych zatruciem alkoholem) [46,47]. Dutkiewicz i wsp. [48] wykazali istotny wzrost aktywności HEX i jej izoenzymów A i B w surowicy krwi chorych z autoimmunologicznym zapaleniem wątroby (AZW) i pierwotnej żółciowej marskości wątroby (PŻMW) w porównaniu do osób zdrowych. Wysoka aktywność HEX i jej izoenzymów może wynikać z ich udziału w degradacji uszkodzonych komórek wątroby lub zaangażowania w toczący się proces zapalny. Dutkiewicz i wsp. [48] wyrażają opinię, że oznaczenie aktywności HEX i jej izoenzymów w surowicy krwi może być wykorzystane jako marker w diagnostyce autoimmunologicznego zapalenia wątroby oraz w diagnostyce pierwotnej żółciowej marskości wątroby. O ile aktywacja komórek wątrobowych znajduje odzwierciedlenie we wzroście HEX oraz aktywnościach transaminaz, wskaźnikach cholestatycznych w surowicy krwi, o tyle pobudzenie komórek Kupffera znajduje odzwierciedlenie tylko we wzroście aktywności enzymów lizosomalnych, głównie HEX [48,49].



Rycina 7. Miejsce N-acetylo-β-heksozoaminidazy w sekwencyjnej degradacji N-wiązanych łańcuchów oligosacharydowych glikoprotein (wg. Strecker i wsp. zmodyf.) [40].

HEX jako wskaźnik włóknienia wątroby

Obniżenie stężenia albumin i wskaźnika protrombinowego świadczy o progresji choroby do marskości bądź niewydolności wątroby wskutek przewagi procesów katabolicznych i nasilenia przebudowy tkanek [50]. Fakt ten może sugerować, że u chorych z PŻMW wzrost aktywności HEX [48], jest wyrazem nasilenia katabolizmu tkankowych glikokoniu-gatów. Zwiększoną aktywność enzymów lizosomalnych wykazano w badaniach histochemicznych biopłatów wątroby u chorych z marskością i cholestazą [50]. Potwierdza to tezę, że HEX w surowicy, jak również inne enzymy lizosomalne, mogą być wyrazem nasilenia procesu zapalnego oraz włók-nienia [44,51,52]. Koizumi i wsp. oraz Reglero i wsp. wykazali podwyższoną aktywność HEX w surowicy krwi u pacjen-tów z przewlekłym aktywnym zapaleniem wątroby, a także stwierdzili korelację z histologiczną oceną aktywności zapal-nej i włóknienia [53–55].

HEX w nadużywaniu alkoholu

Około 10% populacji Polski nadużywa alkoholu, a 2,5% populacji to osoby uzależnione. Od 30 do 50% wszystkich chorób wątroby jest spowodowana nadużyciem alkoholu etylowego [56]. Badania ostatnich 20 lat sugerują, iż N-ace-tylo-β-heksozoaminidaza (HEX) – najaktywniejsza z egzo-glikozydaz lizosomalnych, może mieć również zastosowa-nie jako tzw. nowoczesny marker nadużywania alkoholu. Zwiększona aktywność surowiczej HEX pozostaje w istotnym związku z nadużywaniem alkoholu etylowego przez alko-holików [57,58] oraz, jak stwierdziliśmy ostatnio, osoby zdro-we [59]. Spożycie przynajmniej 60 g alkoholu przez mini-mum 10 dni, zwiększa aktywność HEX w surowicy u 69–94% osób pijących, a po 7–10 dniach abstynencji aktywność en-zymatyczna wraca do poziomu sprzed spożycia [57,60,61]. Uważa się, że podwyższony poziom HEX odzwierciedla wcze-sne uszkodzenie hepatocytów przez etanol i jego metabo-lity [42,47,59]. Kolejne badania wskazywały, że osoczowa oraz surowicza HEX jest czułym markerem tak uzależnie-nia od alkoholu, jak nadużywania alkoholu [62–65]. Wzrost

aktywności surowiczej HEX podczas nadużywania alko-holu, świadczy o uszkodzeniach błon lizosomalnych w komór-kach wielu narządów, głównie: wątroby, nerek, śledziony, żołądka oraz jelit, indukowanych etanolem i jego metabo-litami (aldehydem octowym, wolnymi rodnikami tlenowy-mi, etc.) [47,56,66]. Szczególnie aktywność izoenzymu B, a ostatnio% HEX B (stosunek procentowy HEX B do całko-witego HEX), wykazują większą czułość niż uznane marke-ry nadużycia alkoholu: γ-glutamylotransferaza (GGT), ami-notransferaza asparaginianowa i alaninowa (AspAT, AlAT), średnia objętość krwinki czerwonej (MCV), a nawet trans-feryna z wadliwymi łańcuchami oligosacharydowymi (CDT- Carbohydrate Deficient Transferrin) [67]. Z uwagi na to, że wątroba jest głównym narządem odpowiedzialnym za de-toksykację etanolu, to jej komórki najczęściej ulegają uszko-dzeniu w zatruciu alkoholem [66]. Konsumpcja alkoholu zmniejsza aktywność wielu glikohydrolaz w izolowanych li-zosomach wątrobowych, zwiększając jednocześnie ich ak-tywność we krwi [68]. Zaproponowano wiele mechanizmów uszkodzenia komórek wątrobowych odpowiedzialnych za wzrost aktywności HEX we krwi indukowanych alkoholem: wzrost przepuszczalności błon lizosomalnych z następ-czym wyciekaniem HEX do komórki i następnie do krwi, opóźnie-nie eliminacji HEX z krwi, zaburzenia glikozylacji i transfe-ru lizosomalnej glikohydrolazy do organelli komórkowych, wzrost syntezy HEX przez aktywowane leukocyty, lub uwal-nianie z uszkodzonych komórek [57,58,68–70]. Wykazano, że aldehyd octowy oraz wolne rodniki tlenowe, uwalniane w trakcie intoksykacji alkoholem, mogą modyfikować biał-ka i tłuszcze błon lizosomalnych i komórkowych, zwiększa-jąc łamliwość lizosomów oraz uwalnianie hydrolaz [71,72]. Zastępowanie cząsteczek wody przez cząsteczki etanolu, a także zmniejszenie syntezy ATP podczas intoksykacji, mogą przyczynić się do destabilizacji błon lizosomalnych [71,73]. Produkty nieoksydacyjnego utleniania etanolu i estry ety-lowie kwasów tłuszczowych (FAEE-fatty acid ethyl esters), mogą zaburzać stabilność błon, prowadząc w konsekwencji do łamliwości lizosomów [74]. U zdrowego człowieka HEX jest szybko usuwana z krążenia przez specyficzny system roz-poznawania w wątrobie, przeto zaburzona funkcja wątroby w przebiegu nadużywania alkoholu, może przyczyniać się do wzrostu aktywności HEX w surowicy [75].

HEX moczu w chorobach wątroby

W diagnostyce chorób wątroby obok oznaczenia wątrobo-wych markerów w surowicy krwi można oznaczać aktywno-ści HEX w moczu chorych. Taracha E i wsp. [76] badając aktywność HEX stwierdzili, że oznaczenie aktywności HEX w moczu może być uzupełnieniem, a nawet zastąpić su-rowicze markery wykorzystywane w diagnostyce chronicznego nadużywania alkoholu. Kärkkäinen P [19] badając aktywność HEX w surowicy krwi i moczu osób nadużywających alkohol stwierdził, że oznaczenie aktywności HEX w moczu może mieć większą wartość diagnostyczną od oznaczenia tego en-zyemu w surowicy krwi oraz, że podwyższona aktywność HEX utrzymuje się dłużej w moczu niż w surowicy krwi. Badanie aktywności HEX w moczu chorych z marskością wątroby wskazuje na istotnie wyższą aktywność tego enzymu u chorych z marskością wątroby w porównaniu do osób zdrowych [77]. Amakasu E i wsp. [78] w swoim badaniu stwierdzili, że oznaczenie aktywności HEX w moczu chorych z marskością wątroby jest użyteczne w diagnostyce wczesnego uszkodze-nia nerek wynikającego z rozwoju choroby.

1. Pustkowski M: Żyjmy dłużej. <http://www.resmedica.pl/zdart5984.html>, 5 (maj) 1998
2. Tomaszewski JJ: Diagnostyka laboratoryjna. PZWL, Warszawa, 2001: 300–2
3. Chiang JY: Regulation of bile acid synthesis: pathways, nuclear receptors, and mechanisms. *J Hepatol*, 2004; 40: 539–51
4. Chouinard RA Jr, Luo Y, Osborn TF i wsp: Sterol regulatory element binding protein-1 activates the cholesterol ester transfer protein *in vivo* but is not required for sterol up-regulation of gene expression. *J Biol Chem*, 1998; 273: 22409–14
5. Gutiérrez-Salinas J, Miranda-Garduno L, Trejo-Izquierdo E i wsp: Redox state and energy metabolism during liver regeneration. *Biochem Pharmacol*, 1999; 55: 1831–39
6. Brunello F, Marcarino C, Pasquero P i wsp: The des-gamma-carboxyprothrombin for the diagnosis of hepatocellular carcinoma. *Ital J Gastroenterol*, 1993; 25: 9–12
7. Dembińska-Kieć A, Naskalski JW (red): Diagnostyka Laboratoryjna z elementami biochemii klinicznej. Urban & Partner, Wrocław, 2002; 159–60, 523, 518–617, 853–883, 933–49
8. IUBMB Enzyme Nomenclature: www.iubmb.org
9. Kokot F, Kokot S: Badania Laboratoryjne. Zakres norm i interpretacja. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa, 2002; 56–62, 113, 128, 184, 193, 212
10. Pawlak J, Zwierz K, Boroń-Kaczmarek A i wsp: Standardy postępowania w hepatologii u dorosłych. Zalecenia Polskiego Towarzystwa Hepatologicznego. Medycyna po Dyplomie, 1999; wyd. spec: 126–49
11. Winchester B: Lysosomal metabolism of glycoproteins. *Glycobiology*, 2005; 15(6pp): 1R–15R
12. Suzuki K, Sango K, Proia RL i wsp: Mice deficient of all forms of lysosomal β -hexosaminidase show mucopolysaccharidosis-like pathology. *J Neuropathol Exp Neurol*, 1997; 56: 693–703
13. Zwierz K, Zalewska A, Zoch-Zwierz A: Isoenzymes of N-acetyl-B-hexosaminidase. *Acta Biochem Pol*, 1999; 46: 739–51
14. Borzym-Kluczyk M, Radziejewska I, Olszewska E i wsp: Statistical evaluation of the isoform patterns of N-acetyl-beta-hexosaminidase from human renal cancer tissue separated by isoelectrofocusing. *Clin Biochem*, 2007; 4: 403–6
15. Elsafi ME, Hultberg B, Isaksson A i wsp: Lysosomes and human liver disease: a biochemical and immunohistochemical study of beta-hexosaminidase. *Eur J Clin Chem Clin Biochem*, 1994; 32(9): 669–73
16. Borzym-Kluczyk M, Radziejewska I, Knaś M i wsp: Electrofocusing of N-acetyl-beta-hexosaminidase (HEX) isoenzymes from liver carcinoma. *Experimental and Clinical Hepatology*, 2006 Vol. 2 no 2; 8th Scientific Conference of the Polish Association for the Study of the Liver (PASL) on: "Progress in Hepatology", Mikołajki, Poland, May 12th–14th, 2006. Abstracts Book. Proceedings Book. s. 26
17. Zwierz K, Gindzieński A: Oczyszczanie i właściwości izoenzymów N-acetylo-beta-D-glukozoaminidazy z błony śluzowej ludzkiego żołądka. Materiały XX Zjazdu PT Bioch Olsztyn, 1984; 138
18. Zwierz K, Gindzieński A, Ostrowska L, Stankiewicz-Choroszuca B: Metabolism of glycoconjugates in human gastric mucosa. A review. *Acta Med Hung*, 1989; 46(4): 275–88
19. Kärkkäinen P: Serum and urinary beta-hexosaminidase as markers of heavy drinking. *Alcohol Alcohol*, 1990; 25(4): 365–69
20. Morita A, Numata Y, Kosugi Y i wsp: Stabilities of N-acetyl-beta-D-glucosaminidase (NAG) isoenzymes in urine: advantage of NAG isoenzyme B measurement in clinical applications. *Clin Chim Acta*, 1998; 278(10): 35–43
21. Yoshida KI: Demonstration and some properties of N-acetyl-B-D-hexosaminidase (HEX) C isoenzyme in human renal tissues: Relative increase in HEX C activity in renal cell carcinoma. *Clin Chim Acta*, 1994; 226: 55–65
22. Gelger B, Arnon R: Chemical characterization and subunit structure of human N-acetylhexosaminidases A and B. *Biochemistry*, 1976; 15: 3483–87
23. Ellis BG, Price RG: Urinary enzyme excretion during renal papillary necrosis induced in rats with ethylenamine. *Chem Biol Inter*, 1975; 11: 473–76
24. Czartoryska B: Glikozydazy lizosomalne w katabolizmie glikoheteropolimerów. *Post Biochem*, 1977; 23: 229–66
25. Zwierz K, Juskiewicz J, Arciuch L i wsp: N-acetylo- β -D-heksozoamini-daza – enzym chorób Tay-Sachsa i Sandhoffa. *Post Biochem*, 1992; 38: 127–32
26. Neufeld EF: Natural history and inherited disorders of a lysosomal enzyme, beta-hexosaminidase. *J Biol Chem*, 1989; 264(19): 10927–30
27. Tse R, Wu YJ, Vavougiou G i wsp: Identification of functional domains within the alpha and beta subunits of beta-hexosaminidase A through the expression of alpha-beta fusion proteins. *Biochemistry*, 1996; 35(33): 10894–903
28. Kuznetsov G, Nigam SK: Folding of secretory and membrane proteins. *N Engl J Med*, 1998; 339(23): 1688–95
29. Tatu U, Helenius A: Interactions between newly synthesized glycoproteins, calnexin and a network of resident chaperones in the endoplasmic reticulum. *J Cell Biol*, 1997; 136(3): 555–65
30. Endge CJ, Rademacher TW, Wormald MR i wsp: Fast sequencing of oligosaccharides. The reagent-array analysis method. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992; 89: 6338–42
31. Sharon N, Lis H: Lectins as cell recognition molecules. *Science*, 1989; 246: 227–34
32. Berger EG, Buddecke E, Kamerling JP i wsp: Structure, biosynthesis and function of glycoprotein glycans. *Experientia*, 1982; 38: 1129–62
33. Zwierz K, Wielgat P, Borzym-Kluczyk M: Molekularne mechanizmy regulacji transportu substancji drobnocząsteczkowych w obrębie hepatocyta. *Post Hig Med Dośw*, 2003; 57: 91–116
34. Ullrich K, Giselman V, Mersmann G i wsp: Endocytosis of lysosomal enzymes by non-parenchymal rat liver cells. *Biochem J*, 1979; 182: 329–35
35. Kundu SK: Glycolipids: structure, synthesis, function. W: Allen HJ, Kisailus EC: Glycoconjugates, Marcel Dekker Inc., New York, 1992; 203–62
36. Riboni L, Viani P, Bassi R i wsp: Basic fibroblast growth factor-induced proliferation of primary astrocytes. *J Biol Chem*, 2002; 276(16): 12797–804
37. Bandtlow CE, Zimmermann DR: Proteoglycans in the developing brain: new conceptual insights for old proteins. *Physiol Rev*, 2000; 80(4): 1267–82
38. Lebensztejn DM, Sobaniec-Łotowska ME, Borzym-Kluczyk M i wsp: Biologia i morfologia włókienki wątroby. *Med Sci Rev Hepatologia*, 2004; 4: 5–11
39. Sadowski M, Borzym-Kluczyk M, Stypułkowska A i wsp: Macierz międzykomórkowa ściany żyły. *Przegl Flebol*, 2006; 14(4): 141–49
40. Strecker G, Michalski JC, Montreuil J: Lysosomal catabolic pathway of N-glycosylprotein glycans. *Biochimie*, 1988; 70(11): 1505–10
41. Zwierz K, Gindzieński A, Ostrowska L i wsp: Metabolizm of glycoconjugates in human gastric mucosa – a review. *Acta Med Hung*, 1989; 46: 275–88
42. Hultberg B, Isaksson A, Berglund M: Serum B-hexosaminidase isoenzyme: a sensitive marker for alcohol abuse. *Clin Exp Res*, 1991; 15: 549–52
43. Hultberg B, Isaksson A, Jansson L: B-hexosaminidase in serum from patients with cirrhosis and cholestasis. *Enzyme*, 1981; 26: 296–300
44. Hultberg B, Palsson B, Isaksson A i wsp: Beta-hexosaminidase in bile and plasma from patients with cholestasis. *Liver*, 1995; 15: 153–58
45. Habiór A, Krzeski P, Gugulski A: Primary biliary cirrhosis in Poland. *Gastroenterol Pol*, 1994; 1: 133–37
46. Halvorson MR, Campbell JL, Sprague G i wsp: Comparative evaluation of the clinical utility of three markers of ethanol intake: the effect of gender. *Alcohol Clin Exp Res*, 1993; 17: 225–29
47. Markowski T, Arciuch LP, Zwierz K i wsp: Diagnostyka laboratoryjna zespołu uzależnienia od alkoholu etylowego. *Post Hig Med Dośw*, 2001; 55: 113–20
48. Dutkiewicz E, Knaś M, Stypułkowska A i wsp: Activity of N-acetyl-beta-hexosaminidase and its isoenzymes in serum of patients with autoimmune hepatitis and primary biliary cirrhosis. *E & C Hepatology*, 2006; 2(4): 13–17
49. Skudlarek MD, Nowak EK: Processing of lysosomal enzymes in macrophages and kidney. In *Lysosomes in Biology and Pathology*. Amsterdam, Elsevier, 1984: 17–44
50. Hultberg B, Hägerstrand I, Isaksson A i wsp: Source of increased beta-hexosaminidase in rat liver cirrhosis. *Enzyme*, 1988; 40: 18–24

51. Pott G, Schneider M: Erkennung der fibroseaktivitaet bei chronischen Leberkrankheiten durch Prokollagen-Peptid typ III und N-acetyl-beta-Glukosaminidase. *Gastroenterology*, 1983; 108-12
52. Arciuch LP, Lebensztejn DM: The activity of N-acetyl-B-hexosaminidase and its isoenzymes in serum of children with chronic hepatitis. *Gastroenterol Pol*, 2003; 10: 223-25
53. Koizumi T, Mitsutani N: N-acetyl-B-glucosaminidase activity in hepatic fibrosis. *Lab Invest*, 1964; 13: 752-56
54. Reglero A, Carretero MI: Increased serum alpha-L-fucosidase and beta-N-acetylglucosaminidase activities in diabetic, cirrhotic and gastric cancer patients. *Clin Chim Acta*, 1980; 103: 155-58
55. Gressner AM, Poebruck P: Predictive values of serum N-acetyl-B-D-glucosaminidase for fibrotic liver disorders-correlation with monoamine oxidase activity. *Clin Chim Acta*, 1982; 124: 315-26
56. Waszkiewicz N, Szajda SD, Jankowska A i wsp: The Effect of Acute Ethanol Intoxication on Salivary Proteins of Innate and Adaptive Immunity. *Alcohol Clin Exp Res*, 2008; 32(4): 652-56
57. Hultberg B, Isaksson A, Tiderstrom G: Beta-hexosaminidase, leucine aminopeptidase, cystidyl aminopeptidase, hepatic enzymes and bilirubin in serum of chronic alcoholics with acute ethanol intoxication. *Clin Chim Acta*, 1980; 105: 317-23
58. Karkkainen P: Serum and urinary beta-hexosaminidase as markers of heavy drinking. *Alcohol Alcohol*, 1990; 25: 365-69
59. Waszkiewicz N, Szajda SD, Jankowska A i wsp: The effect of binge drinking session on the activity of salivary, serum, and urinary β -hexosaminidase: Preliminary data. *Alcohol & Alcoholism*, 2008; praca przyjęta do druku
60. Musshoff F, Daldrup T: Determination of biological markers for alcohol abuse. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl*, 1998; 713: 245-64
61. Sharpe PC: Biochemical detection and monitoring of alcohol abuse and abstinence. *Ann Clin Biochem*, 2001; 38: 652-64
62. Karkkainen P, Poikolainen K, Salaspuro M: Serum beta-Hexosaminidase as a marker of heavy drinking. *Alcoholism: Clin Exp Res*, 1990; 14(2): 187-90
63. Hultberg B, Isaksson A, Berglund M i wsp: Serum beta-Hexosaminidase isoenzyme: a sensitive marker for alcohol abuse. *Alcohol Clin Exp Res*, 1991; 15(3): 549-52
64. Zwierz K, Zalewska A, Zoch-Zwierz A: Isoenzymes of N-acetyl-beta-hexosaminidase. *Acta Biochim Pol*, 1999; 46(3): 739-51
65. Markowski T, Ferens-Sieczkowska M, Zwierz K i wsp: Aktywność N-acetylo- β -heksozaminidazy i γ -glutamylotransferazy w surowicy osób uzależnionych od alkoholu hospitalizowanych po okresie przewlekłego picia. *Psychiatr Pol*, 2003; 37(3): 495-502
66. Waszkiewicz N, Szajda SD, Waszkiewicz M i wsp: Sylimaryna w chorobach wątroby. *Med Sci Rev Hepatol*, 2006; 6: 92-98
67. Javors MA, Johnson BA: Current status of carbohydrate deficient transferrin, total serum sialic acid, sialic acid index of apolipoprotein J and serum beta-hexosaminidase as markers for alcohol consumption. *Addiction*, 2003; 98(Suppl.2): 45-50
68. Kharbada KK, McVicker DL, Zetterman RK i wsp: Ethanol consumption alters trafficking of lysosomal enzymes and affects the processing of procathepsin L in rat liver. *Biochim Biophys Acta*, 1996; 1291: 45-52
69. Hultberg B, Isaksson A, Berglund M i wsp: Increases and time-course variations in beta-hexosaminidase isoenzyme B and carbohydrate-deficient transferrin in serum from alcoholics are similar. *Alcohol Clin Exp Res*, 1995; 19: 452-56
70. Wehr H, Czartoryska B, Górka D i wsp: Serum beta-hexosaminidase and alpha-mannosidase activities as markers of alcohol abuse. *Alcohol Clin Exp Res*, 1991; 15: 13-15
71. Skrzydlewska E, Roszkowska A, Moniuszko-Jakoniuk J: A comparison of methanol and ethanol effects on the activity and distribution of lysosomal proteases. *Pol J Environ Stud*, 1999; 8: 251-57
72. Witek B, Kolataj A: Effect of ethanol administration on activities of some lysosomal hydrolases in the mouse. *Gen Pharmacol*, 1999; 32: 163-68
73. Klemm WR: Biological water and its role in the effects of alcohol. *Alcohol*, 1998; 15: 249-67
74. Laposata M, Szczepiorkowski ZM, Brown JE: Fatty acid ethyl esters: non-oxidative metabolites of ethanol. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 1995; 52: 87-91
75. Karkkainen P, Jokelainen K, Roine R i wsp: The effects of moderate drinking and abstinence on serum and urinary beta-hexosaminidase levels. *Drug Alcohol Depend*, 1990; 25: 35-38
76. Taracha E, Habrat B, Chrapusta SJ i wsp: Combining markers of nephrotoxicity and hepatotoxicity for improved monitoring and detection of chronic alcohol abuse. *Clin Chem Lab Med*, 2006; 44(12): 1446-52
77. Bruno CM, Raciti C, Urso G i wsp: Urinary enzymes in liver cirrhosis: useful early markers of renal damage? *Minerva Med*, 1994; 85(4): 155-59
78. Amakasu H, Kanno A, Abe M i wsp: Urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidase activity in liver cirrhosis with renal impairment. *Nippon Shokakibyo Gakkai Zasshi*, 1991; 88(1): 51-56
79. Kobata A: Principles of glycobiology. Tools for glycobiology Ed. Oxford Glyco-Systems, 1994: 3-7

Niedotlenienie wątroby

Hypoxic liver injury

Danuta Dudzik¹, Małgorzata Knaś¹, Róża Wiśniewska²,
Małgorzata Borzym-Kluczyk¹, Krzysztof Raczkowski²,
Marek Niczyporuk³, Alina Kępką⁴, Ewa Dutkiewicz⁵,
Katarzyna Knaś-Karaszewska⁶, Sławomir Szajda¹,
Maciej Sadowski⁷, Joanna Jakimowicz-Rudy¹, Krzysztof Zwierz^{1,3}

¹ Zakład Biochemii Farmaceutycznej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

² Zakład Farmakologii Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

³ Wyższa Szkoła Kosmetologii i Ochrony Zdrowia, Białystok

⁴ Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej Instytutu „Pomnik-Centrum Zdrowia Dziecka” w Warszawie

⁵ Wojewódzki Szpital Zespolony, Oddział Obserwacyjno Zakaźny, Akademia Świętokrzyska, Wydział Nauk o Zdrowiu, Kielce

⁶ NZOZ Stomatologia dr Knaś, Białystok

⁷ Oddział Chirurgii Ogólnej i Naczyniowej, Wojewódzki Szpital Specjalistyczny w Olsztynie

Summary: Hypoxic liver injury (HLI), also known as hypoxic hepatitis, is due to inadequate oxygen uptake by the centrilobular hepatocytes, resulting in apoptosis or necrosis. The pathophysiology of hepatic ischemia includes a decrease in ATP production and increase in activity of intra- and extracellular proteases. Hypoxia inducible factor (HIF-1) adapts liver cells to hypoxia by increase in expression of glycolytic enzymes, glucose transporters and proteins responsible for long life span of the liver cells. HIF-1 also increases expression of factors stimulating maturation of erythrocytes and angiogenesis. Hypoxia influence on many organs, including heart muscle and skin.

Słowa kluczowe: wątroba • niedotlenienie wątroby • hipoksja

Key words: liver • hypoxic liver injury • hypoxia

Adres do korespondencji: Danuta Dudzik, Zakład Biochemii Farmaceutycznej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku, ul. Mickiewicza 2a, 15-089 Białystok, Polska, e-mail: danutadu@umwb.edu.pl

Etiologia niedokrwiennego uszkodzenia wątroby

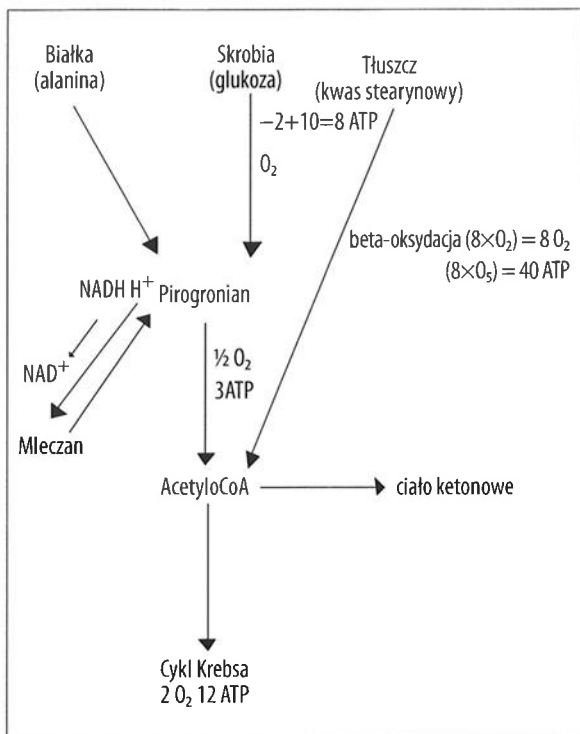
Niedotlenienie powoduje uszkodzenie wątroby określane jako hypoxic liver injury (HLI), ischemic liver, lub shock liver [1]. Brak tlenu w hepatocytach może być spowodowany: niedokrwieniem, przekrwieniem (zwolnieniem szybkości przepływu krwi wskutek utrudnionego odpływu krwi z wątroby), zmniejszeniem ilości tlenu w przepływającej krwi, zmniejszonym wychwytem lub zwiększonym zużyciem tlenu przez hepatocyty [2]. Niedokrwienie wątroby może być spowodowane zmniejszeniem podaży krwi z krążenia ogólnego, z tętnicy wątrobowej lub żyły wrotnej. Niewydolność krążenia ogólnego towarzyszy zawałom mięśnia sercowego i udarom cieplnym [3]. Zator tętnicy wątrobowej jest rzadki [4], częściej występuje zator żyły wrotnej, czyli zespół Budd-Chiari [5]. Zwolnienie szybkości krwi przepływającej przez wątrobę następuje podczas zastoju krwi w czasie przekrwienia wątroby, wskutek utrudnionego odpływu [1]. Niedotlenienie

wątroby może być spowodowane zmniejszeniem ilości tlenu w przepływającej krwi wskutek: niewydolności oddechowej [6], bezdechów sennych [7], anemii [8], zatrucia tlenkiem węgla [9] lub ksenobiotykami [10]. W czasie sepsy zwiększa się zapotrzebowanie wątroby na tlen [11], przy zmniejszeniu pobierania tlenu z krwi wskutek tworzenia się mikro zakrzepów [12].

Tlen w wątrobie

Tlen jest potrzebny w wątrobie głównie do spalania pokarmów, hydroksylacji pierścieni węglowodorowych substancji endogennych i ksenobiotyków, syntezy prostaglandyn i tromboksanów, oraz produkcji wolnych rodników.

Cukry, tłuszcze, białka i inne składniki pokarmu (np. etanol) wchłonięte w przewodzie pokarmowym, dostają się do wątroby z krwią żyły wrotnej. Wątroba częściowo rozkłada i wstępnie przetwarza składniki pokarmowe do prost-



Rycina 1. Rola tlenu w spalaniu pokarmu.

szych związków. Cukry proste (głównie glukoza) są rozkładane w cytoplazmie hepatocytu do kwasu pirogronowego (Rycina 1). Kwas pirogronowy przechodzi do mitochondrium gdzie jest dekarboksylowany, utleniany do acetylokoenzymu A i spalany w cyklu kwasów trikarboksylowych do ditlenku węgla i wody. Do spalania 1 mola glukozy w wątrobie, potrzeba 6 moli tlenu [1 mol O_2 (glikoliza) + $2 \times \frac{1}{2}$ mola O_2 (oksydacyjna dekarboksylacja dwu moli kwasu pirogronowego) + 2×2 mole O_2 (utlenienie dwu moli acetylokoenzymu A w cyklu Krebsa)]. W czasie spalania 1 mola glukozy powstaje 36 moli ATP [6 moli ATP (glikoliza) + 2×3 moli ATP (oksydacyjna dekarboksylacja dwu moli kwasu pirogronowego) + 12×2 moli ATP (utlenienie dwu moli acetylokoenzymu A w cyklu Krebsa)]. Spalenie 1 mola kwasu stearynowego (Rycina 1) wymaga 26 moli tlenu [8 moli O_2 (8 powtórzeń β -oksydacji) + 9×2 moli O_2 (utlenienie 9 moli acetylokoenzymu A w cyklu Krebsa)] i dostarcza 146 moli ATP [-2 mole ATP (aktywacja = tworzenie stearylokoenzymu A) + 8×5 moli ATP (8 powtórzeń β -oksydacji) + 9×12 moli ATP (utlenienie 9 moli acetylokoenzymu A w cyklu Krebsa)]. Tlen jest niezbędny do hy-

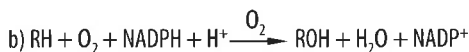
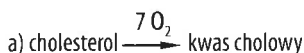
droksylacji: pierścieni węglowodorowych cholesterolu (np. podczas syntezy kwasów żółciowych [13]) (Tabela 1) i hormonów sterydowych, ksenobiotyków (węglowodory aromatyczne, leki np. kofeina, ibuprofen, po hydroksylacji łączą się z kwasem glukuronowym i są łatwiej rozpuszczalne w wodzie oraz usuwane z organizmu). Synteza prostaglandyn [14] także wymaga dostarczenia tlenu (Tabela 1). Synteza wolnych rodników, potrzebnych do zabijania przez fagocyty wchłoniętych bakterii, zużywa 3–10% dostarczonego tlenu do wątroby [15]. Głównymi procesami zużywającymi tlen w wątrobie są: synteza mocznika (35%), bezwartościowe krążenie substratów (22%), glukoneogeneza (19%) [16], synteza białka (11%), Na^+/K^+ ATP-aza (6%) i ketogeneza (4%) [17].

Przez zdrową wątrobę, która stanowi ok. 4% wagi ciała przepływa ok. 30% krwi wyrzucanej z serca, z której wątroba pobiera ok. 20% tlenu zużywanego przez cały organizm [18]. Prawdopodobnie około 90% pobieranego przez wątrobę tlenu zużywają mitochondria, a resztę siateczka plazmatyczna i peroksyzomy [19,20]. Mitochondria wątroby zużywają tlen głównie do β -oksydacji kwasów tłuszczowych, a znacznie mniej do utleniania pirogronianu, gdyż glukoza, aminokwasy (i ciała ketonowe) są utleniane głównie poza wątrobą [21,22]. Do wątroby człowieka 35% krwi i ok. 50% tlenu dostarcza tętnica wątrobową, a pozostałe 65% krwi i 50% tlenu, żyła wrotna [23]. Krew i tlen dostarczane przez tętnicę wątrobową w pierwszym rzędzie utrzymują na stałym poziomie stężenie we krwi składników pokarmowych i hormonów, a w drugiej kolejności zapewniają potrzeby energetyczne komórek wątrobowych. Ilość krwi przepływającej przez tętnicę wątrobową wzrasta w marskości (w zależności od stopnia utrudnienia przepływu krwi przez żyłę wrotną) oraz przy spadku ogólnego ciśnienia krwi [24].

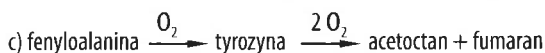
Patogeneza uszkodzenia wątroby wskutek niedotlenienia

Pomimo przeprowadzenia licznych doświadczeń, mechanizmy zachodzące w niedotlenionej wątrobie nie zostały w pełni poznane. Wiadomo, że niedobór tlenu w hepatocycie zmniejsza ilość ATP produkowanego w mitochondrium w wyniku oksydacyjnej fosforylacji. Niedobór ATP osłabia procesy zużywające energię, np. utrudnia pracę pompy sodowo/potasowej [25], co powoduje zmniejszenie stężenia Na^+ poza komórką, a zwiększenie w komórce [26,27]. Niedobór ATP utrudnia wypompowywanie Ca^{++} z cytoplazmy do siateczki endoplazmatycznej i mitochondriów i powoduje zwiększenie stężenia Ca^{++} w cytoplazmie [28]. Zwiększenie stężenia Ca^{++}

Tabela 1. Tlen w metabolizmie wątroby.



R-barbitan, wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne, kofeina, ibuprofen



Niealkoholowe stłuszczenie wątroby (NASH) – patogeneza, diagnostyka, leczenie

Non-alcoholic steatohepatitis (NASH) – pathogenesis, diagnosis, treatment

Danuta Dudzik^{1,4}, Małgorzata Knaś¹, Małgorzata Borzym-Kluczyk¹,
Oxana Lukivskaya^{a2}, Vyacheslav Buko², Ewa Dudkiewicz³,
Katarzyna Knaś-Karaszewska⁵, Sławomir Szajda¹, Joanna Jakimowicz-Rudy¹,
Sylvia Chojnowska^{1,6}, Katarzyna Niediołko-Bagniuk⁴, Krzysztof Zwierz¹

¹ Zakład Biochemii Farmaceutycznej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

² Zakład Hepatologii Doświadczalnej, Instytut Biochemii i Farmakologii, Narodowej Akademii Nauk, Grodno, Białoruś

³ Wojewódzki Szpital Zespolony, Oddział Obserwacyjno-Zakaźny, Akademia Świętokrzyska, Wydział Nauk o Zdrowiu, Kielce

⁴ Klinika Endokrynologii, Diabetologii i Chorób Wewnętrznych, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

⁵ NZOZ Stomatologia dr Knaś, Białystok

⁶ Instytut Medyczny, Państwowa Wyższa Szkoła Informatyki i Przedsiębiorczości w Łożmy

Summary: Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and non-alcoholic steatohepatitis (NASH) are metabolic liver disorders of increasing importance. There are frequently associated with obesity, diabetes mellitus, hyperlipidemia and insulin resistance. NAFLD can progress to NASH, and NASH to cirrhosis, liver failure, and hepatocellular carcinoma. Many drugs have been tried in treatment of NASH. The insulin sensitizing medicines as metformin, thiazolidinediones, antioxidant treatment, have shown promising results. Unfortunately, there is lack of controlled trials of growing numbers of anti-NASH drugs.

Słowa kluczowe: wątroba • NASH • schorzenia wątroby

Key words: liver • NASH • liver disorders

Adres do korespondencji: Danuta Dudzik, Zakład Biochemii Farmaceutycznej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku, ul. Mickiewicza 2a, 15-089 Białystok, Polska, e-mail: danutadu@umwb.edu.pl

Wstęp

Nadmierna ilość tłuszczu w wątrobie, czyli niealkoholowa stłuszczeniowa choroba wątroby (*non-alcoholic fatty liver disease* – NAFLD) jest obecnie jedną z najczęstszych przewlekłych schorzeń wątroby. Tendencję do zwiększonej zapadalności na choroby stłuszczeniowe wątroby obserwuje się zwłaszcza w krajach wysoko rozwiniętych [1].

W odpowiedzi na działanie czynnika uszkadzającego dochodzi do gromadzenia się cząsteczek tłuszczu w hepatocytach [2]. W zależności od stopnia uszkodzenia hepatocytów wyróżniamy:

- łagodne, proste stłuszczenie wątroby – niealkoholowe stłuszczenie wątroby (*non-alcoholic fatty liver disease* – NAFLD);

- stłuszczenie wątroby powikłane procesem zapalnym – niealkoholowe stłuszczeniowe zapalenie wątroby (*non-alcoholic steatohepatitis* – NASH).

Czynnikami predysponującymi do wystąpienia zmian stłuszczeniowych w wątrobie są: wiek powyżej 45 roku życia, otyłość, cukrzyca, AST/ALT >1 [3]. W zależności od czasu trwania i stopnia uszkodzenia komórek wątroby, przewlekłe NASH może przejść w zwłóknienie mięszu wątroby oraz marskość prowadzącą do rozwoju pierwotnego raka wątroby [4,5].

W 1980 roku w Klinice Mayo Ludwig i wsp. po raz pierwszy opisali objawy przewlekłej choroby zapalnej wątroby występującej u osób nie nadużywających alkoholu, na podstawie biopsji i badania histologicznego. Wprowadzono pojęcie niealkoholowego stłuszczeniowego zapalenia wątroby (*non-alcoholic steatohepatitis* – NASH) [6,7].

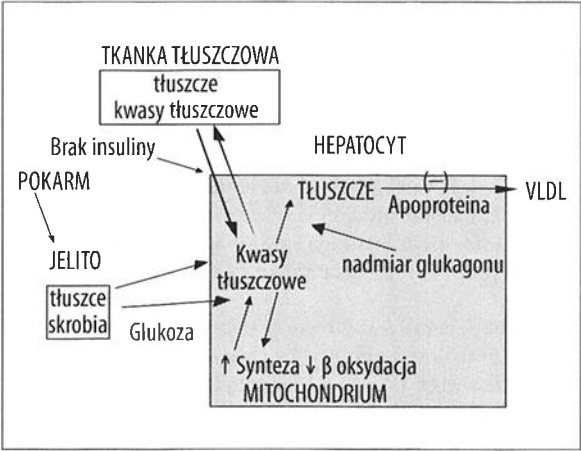
Tabela 1. Induktory NASH [1–4,6].

Pierwotne	Wtórne
• insulinooporność: – otyłość typu centralnego – zespół metaboliczny – uogólniona lipodystrofia – hipertriacylglicerolemia – hiperglikemia – zespół Mauriaci – zespół policystycznych jajników • nadciśnienie • schorzenia metaboliczne wątroby: – choroba Wilsona – choroba Webera-Christiana – choroba Wolmana – choroba Andersen – choroba spichrzeniowa glikogenu (choroba van Gierkego) – hypobetalipoproteinemia – abetalipoproteinemia – galaktozemia – tyrozynemia – ostre stłuszczenie wątroby ciężarnych – zespół Rey’a • mukowiscydoza • kacheksja - inne: • starzenie organizmu • niedokrwienie wątroby • akromegalia • zespół Cushinga • uchyłkowatość jelit • choroba zapalna jelit • przerost bakteryjny jelita cienkiego • zespół nabytego braku odporności • wirus zapalenia wątroby typu C	• dieta • szybki spadek masy ciała: – długotrwałe głodzenie – zespolenia omijające (żołądkowe, krętniczko-czecz) – resekcja znacznej części jelita – kwashiorkor • żywienie pozajelitowe • zabiegi gastroenterologiczne • leki: – tamoxifen, – amiodaron, – kortykosteroidy – syntetyczne estrogeny – L-asparaginaza – chloroquine – diltiazem – leki antyretrowirusowe (zidowudyna, didanozyna, fialurydyna) – metotreksat – kwas acetylosalicylowy – kwas walproinowy – tetracykliny – bleomycyna – hiperwitaminoza A – izoniazyd • związki hepatotoksyczne – disiarczki węgla – chlorowane węglowodory – czterochlorek węgla – sole baru – fosfor – antymon – tal – kokaina – rozpuszczalniki organiczne – związki petrochemiczne – toksyny <i>Bacillus cereus</i> – toksyny grzybów: Muchomor sromotnikowy (<i>Amanita phalloides</i>), Czubajeczki (<i>Lepiota species</i>)

Petogeneza NASH

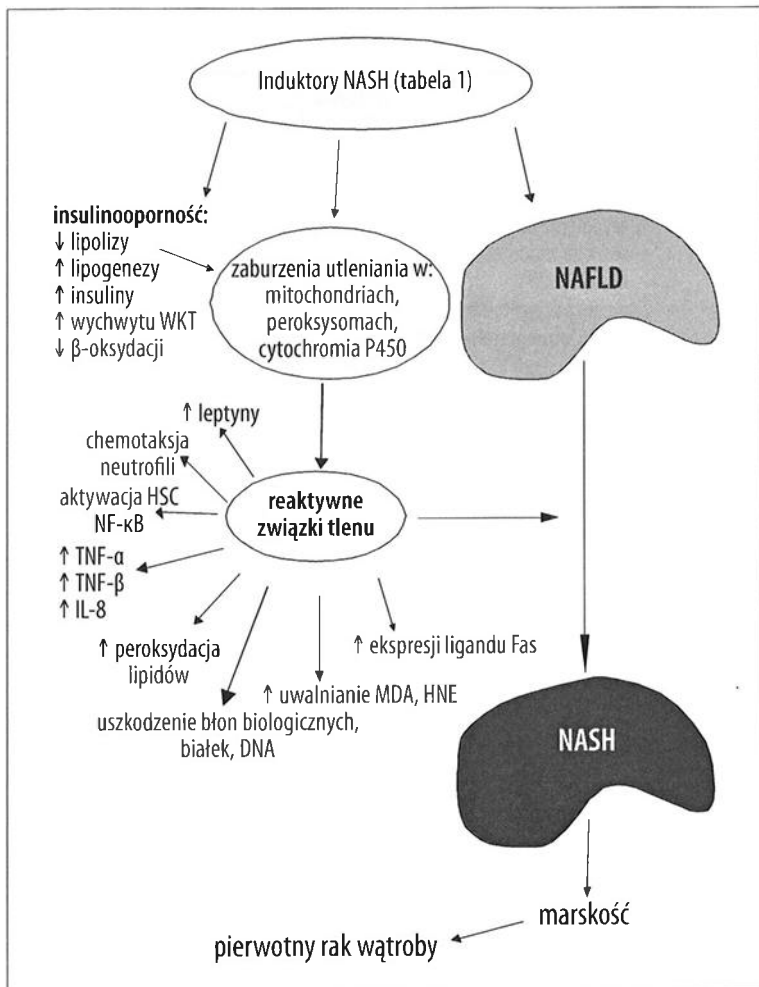
Etiopatogeneza NASH nie jest dokładnie poznana mimo licznych, wielośrodkowych badań. Wśród wielu prób wyjaśnienia etiopatogenezy NASH na szczególną uwagę zasługuje hipoteza Day’a i zaproponowany przez niego dwuetapowy model rozwoju NASH [8]. Według Day’a w pierwszym etapie istotną rolę odgrywają różnorodne czynniki wpływające na rozwój pierwotnego bądź wtórnego stłuszczenia wątroby (Tabela 1). Spośród czynników indukujących NASH zasadnicze znaczenie ma insulinooporność uważana za najważniejszy mechanizm indukujący stłuszczenie wątroby. Prowadzi ona do hiperinsulinemii oraz znacznych zaburzeń w metabolizmie lipidów:

- zwiększenia stężenia wolnych kwasów tłuszczowych (WKT);
- zwiększenia wychwytu związków tłuszczowych;
- wzmożonej lipolizy;
- zwiększenia wątrobowego wychwytu WKT;
- osłabienia mechanizmów mitochondrialnej β-oksydacji WKT;



Rycina1. Patogeneza NAFLD.

- zmniejszenia wydzielania triacylglicerolu z wątroby w postaci lipoprotein o niskiej gęstości (VLDL);



- kumulacji cząsteczek tłuszczu w komórkach wątroby (Rycina 1) [3,4,9].

Czynniki prowadzące w I etapie do zmian stłuszczeniowych wątroby, zwiększają wrażliwość narządu na uszkodzające działanie czynników działających w drugim etapie prowadzących do rozwoju NASH [4,8]. Do najważniejszych induktorów stanu zapalnego należy stres oksydacyjny, w wyniku którego dochodzi do wytworzenia reaktywnych form tlenu.

Reaktywne formy tlenu, których głównym źródłem są mitochondria prowadzą do wzmożonej peroksydacji lipidów. Dochodzi do uruchomienia lawinowej syntezy czynników prozapalnych, prowadzących do zmian w strukturze i funkcji białek, kwasów nukleinowych, a w konsekwencji do rozwoju NASH, niedokrwienia i zwłóknienia wątroby, marskości oraz pierwotnego raka wątroby [4,8] (Rycina 2).

Insulinooporność jest głównym czynnikiem prowadzącym do niekontrolowanego zwiększenia stężenia wolnych kwasów tłuszczowych (WKT) w hepatocytach. Insulinooporność i zaburzenia utleniania prowadzą do wytworzenia reaktywnych form tlenu [10,11]. Reaktywne formy tlenu prowadzą do: wzmożonej peroksydacji lipidów, indukują syntezę czynników prozapalnych – czynnika martwicy nowotworów TNF-α, TGF-β, IL-6, IL-8, zwiększają stężenia leptyny, rezyliny [1,4,8,12] uwalniają produkty peroksydacji lipidów: MDA – dialdehyd malonowy, HNE – 4-hydroksynonenal

[10], zwiększają ekspresję Fas ligandu na hepatocytach, aktywują czynnik transkrypcji NF-κB, aktywują komórki gwiaździste wątroby (HCS – Hepatic Stellate Cell), stymulują chemotaksję neutrofilów [3,4,8]. Aktywacja wymienionych czynników predysponuje do wystąpienia niealkoholowego stłuszczenia wątroby (NASH), które w zależności od czasu trwania i stopnia uszkodzenia hepatocytów może być przyczyną wystąpienia marskości i pierwotnego raka wątroby [7,8].

Objawy kliniczne i diagnostyka (Tabela 2, Rycina 3)

W przeważającej większości przypadków stłuszczenie wątroby przebiega bez typowych objawów. Uczucie zmęczenia i osłabienia może wynikać z chorób współistniejących ze stłuszczeniem, z otyłością i cukrzycą [5]. Może wystąpić hepatomegalia (75% przypadków), splenomegalia (25% przypadków), dolegliwości bólowe w prawej, górnej powierzchni brzucha [1,3].

Zasadniczym wymogiem prawidłowej diagnostyki niealkoholowego stłuszczenia wątroby jest przeprowadzenie dokładnego wywiadu. Należy wykluczyć nadmierną konsumpcję alkoholu przez pacjenta (poniżej 20 g/dobę dla kobiet i 30 g/dobę dla mężczyzn) [7] oraz inne schorzenia wątroby (wirusowe zapalenie wątroby typu B lub C, genetycznie uwarunkowane metaboliczne choroby wątroby (hemo-

Tabela 2. Diagnostyka niealkoholowego stłuszczenia wątroby [1–3,7,14].

- Wywiad: - brak nadużywania alkoholu (poniżej 20 g/dobę dla kobiet i 30 g/dobę dla mężczyzn), - wykluczenie innych schorzeń wątroby (wirusowe zapalenie wątroby typu B lub C, genetycznie uwarunkowane metaboliczne choroby wątroby (hemochromatoza, choroba Wilsona), niedobór α_1-antytrypsyny, autoimmunologiczne zapalenie wątroby) - brak równoczesnego stosowania leków - brak narażenia na działanie związków hepatotoksycznych, - brak infekcji, - dieta, - wywiad rodzinny, - wykluczenie procesów autoimmunologicznych
- Objawy kliniczne: - osłabienie, zmęczenie, - hepatomegalia, - splenomegalia, - dolegliwości bólowe w prawym, górnym obszarze brzucha
- Badania laboratoryjne: 2–4 $\times$ $\uparrow$ ALT > ALT, - bilirubina bez zmian, lub hiperbilirubinemia, - alkaliczna fosfataza bez zmian, $\uparrow$ γ-glutamylotranspeptydazy (GGTP), $\uparrow$ ferrytyny, $\uparrow$ nasyconej transferyny, - brak markerów wirusowego zapalenia wątroby typu B i C, $\uparrow$ triacylogliceroli, $\uparrow$ stężenia glukozy, - wydłużony czas protrombinowy, - hipoalbuminemia, - brak autoprzeciwciał przeciwwjądrowych (ANA $\leq$ 1/320),
- USG: - wątroba powiększona, jasna, $\uparrow$ echogeniczności
- Biopsja, badanie histopatologiczne: - cechy alkoholowego stłuszczenia wątroby, - stłuszczenie hepatocytów (wielokropelkowe) - zwyrodnienie balonowate hepatocytów, - ciałka Mallory'ego, - zwłóknienie, - martwica hepatocytów, - zwyrodnienia glikogenowe jąder hepatocytów, - lipogranuloma, - nacieki zapalne komórek wielojądrzastych i jednojądrzastych - włóknienia wokół zatok
- Tomografia komputerowa - Rezonans magnetyczny

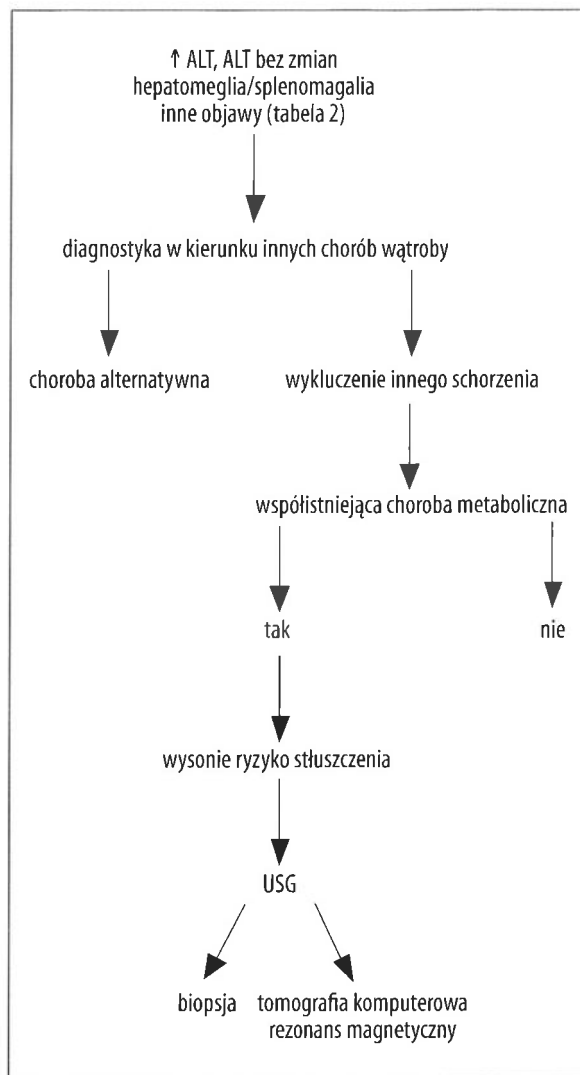
chromatozę, chorobę Wilsona), niedobór α_1 -antytrypsyny, autoimmunologiczne zapalenie wątroby) [1]. Należy również zwrócić uwagę na stosowane leki, narażenie pacjenta na działanie związków hepatotoksycznych, przebyte infekcje, dietę, oraz wywiad rodzinny [3].

W testach laboratoryjnych stwierdza się zazwyczaj 2–4-krotny wzrost aktywności aminotransferazy alaninowej (ALT), aminotransferazy asparaginowej (AST), γ -glutamylotranspeptydazy (GGTP), podwyższone stężenie ferrytyny oraz nasycenie transferyny [1,5,7]. Nie zaobserwowano zmian w poziomie bilirubiny i alkalicznej fosfatazy [13]. Określenie aktywno-

ści enzymów wątrobowych nie jest specyficznym i czułym testem diagnozy stłuszczenia wątroby.

Kolejnym etapem w diagnostyce jest wykonanie badania ultrasonograficznego, w którym można zaobserwować charakterystyczną dla stłuszczenia jasną wątrobę, którą cechuje zwiększoną echogeniczność. Ultrasonografia jest powszechnie uznana i charakteryzuje się 89–95% czułością oraz 84–93% specyficznością dla rozpoznania stłuszczenia wątroby [7].

Za złoty standard w rozpoznawaniu niealkoholowej stłuszczeniowej choroby wątroby uważa się wykonanie biopsji



Rycina 3. Algorytm postępowania diagnostycznego w kierunku NASH (Ramesh i wsp, 2005) [14].

i badania histopatologiczne wątroby. Objawy histopatologiczne alkoholowego i niealkoholowego stłuszczenia wątroby są identyczne [1]. Biopsja wątroby pozwala na określenie stłuszczenia, wykluczenie innych schorzeń wątroby oraz stanowi podstawę do prognozowania niealkoholowego stłuszczenia wątroby [1,7,14].

Najdokładniejszymi i niestety najkosztowniejnymi metodami diagnostycznymi NASH są tomografia komputerowa oraz rezonans magnetyczny. Metody te są nieinwazyjne, wyróżniają się wysoką czułością i swoistością. Stwarzają również możliwość ilościowej oceny stopnia stłuszczenia, monitorowania przebiegu choroby oraz ocenę efektów leczenia [7,14].

Niestety żadna z metod diagnostycznych nie jest w stanie odróżnić prostego niealkoholowego stłuszczenia wątroby (NAFLD) od stłuszczenia wątroby powikłanego procesem zapalnym (NASH).

Leczenie NASH

Nie ma jasnych standardów leczenia NASH. Dotychczasowe próby leczenia NASH opierają się na nielicznych grupach

pacjentów, często nie są randomizowane, bez użycia placebo [4].

Ogólnie akceptowanym sposobem leczenia NASH jest zmiana stylu życia, zmniejszenie insulinooporności, stosowanie leków hipolipidemicznych, antyoksydantów oraz leków hamujących syntezę mediatorów prozapalnych [15,16]. W przypadku szybkiego postępu choroby, wystąpienia marskości, bądź raka wątrobowokomórkowego rozważana jest transplantacja wątroby [4,13].

Zmniejszenie masy ciała

Zalecenia dotyczące zmiany stylu życia a w szczególności diety i podjęcia regularnych ćwiczeń fizycznych prowadzących do spadku masy ciała, dotyczą głównie pacjentów z NASH i cukrzycą typu 2 oraz zespołem metabolicznym [17].

Dieta

Stanowi pierwszy krok w terapii. Dieta powinna być niskokaloryczna, bogata w nienasycone kwasy tłuszczowe, naturalne antyoksydanty (witaminy C i E). Ubytek masy ciała powinien wynosić nie więcej jak 1–2 kg tygodniowo. W przypadku nagłego, drastycznego spadku masy ciała (np. w wyniku głodzenia) może dojść do wyraźnego zaostrzenia stłuszczenia [17–19].

Wysiłek fizyczny

Zalecane jest 30 minut ćwiczeń fizycznych 3–5 × w tygodniu. Pomimo niewielu badań, wykazano, że połączenie diety i ćwiczeń fizycznych zmniejsza masę ciała oraz uwalnianie czynników prozapalnych (IL-6, IL-8, TNF-α) wyraźnie zwiększa wrażliwość na insulinę, normalizuje wartości enzymów wątrobowych oraz profil lipidowy [18,19]. Niestety większość badań redukcji masy ciała nie ma dokumentacji histopatologicznej.

Jedno z nielicznych doświadczeń określających efektywność leczenia dietą i ćwiczeniami fizycznymi wykonał Huang na niewielkiej grupie pacjentów [20]. Pacjentom wykonano biopsję przed rozpoczęciem i po rocznym okresie leczenia z zachowaniem restrykcyjnej, niskokalorycznej diety i regularnych ćwiczeń fizycznych. Na podstawie przeprowadzonych badań histopatologicznych zaobserwowano poprawę w obrazie histopatologicznym stłuszczenia wątroby [19,20].

Pomimo obiecujących wyników leczenia wielu pacjentów nie jest w stanie sprostać stawianym wymaganiom dotyczącym diety oraz wysiłku fizycznego, dlatego rozpoczęto wiele badań nad wprowadzeniem alternatywnych form terapii [18].

Leki zmniejszające masę ciała

Orlistat

Jest silnym, specyficznym i długo działającym inhibitorem lipaz wytwarzanych w przewodzie pokarmowym. Działa w świetle żołądka i jelita cienkiego poprzez tworzenie wiązań kowalencyjnych z serynowym miejscem aktywnym lipazy żołądkowej i trzustkowej. Orlistat podawany w dawkach terapeutycznych hamuje w 30% lipazę żołądkową [10,15,21]. Niewielkie badania pilotażowe sugerują poprawę profilu aminotransferaz wątrobowych, wyraźne zmniejszenie masy ciała oraz poprawę obrazu histopatologicznego [22].

Sibutramina

Sibutramina, zwiększa wydatek energetyczny w wyniku nasilenia termogenezy hamując wychwyt zwrotny noradrenaliny oraz nasila poposiłkowe uczucie sytości (hamując wychwyt serotoniny), czym prowadzi do normalizacji masy ciała [15,21]. Po leczeniu NASH sibutraminą wykazano normalizację poziomu ALT i AST, a w badaniach ultrasonograficznych zmniejszenie stłuszczenia [15].

Fenfluramina i Fenteramina

Fenfluramina i Fenteramina – należą do stymulujących substancji psychoaktywnych. Są inhibitorami wychwytu zwrotnego monoamin (serotoniny, dopaminy, adrenaliny, noradrenaliny). W piśmiennictwie istnieją doniesienia o próbach stosowania fenfluraminy i fenteraminy w terapii NASH. Niestety w związku z występowaniem niebezpiecznych działań niepożądanych, zwłaszcza ze strony układu sercowo-naczyniowego zostały wycofane z lecznictwa [15].

Zabiegi chirurgiczne

Ciężka nadwaga w przebiegu NASH może być wskazaniem do interwencji chirurgicznej. Poprzez wykonanie wyłączenia żółciowo-trzustkowego dochodziło do poprawy stłuszczenia, ale z jednoczesnym zwiększeniem stopnia zwłóknienia wątroby [10]. W przypadku operacji gastric bypass z założeniem pętli Roux uzyskiwano znaczną poprawę zarówno stłuszczenia jak i zwłóknienia u pacjentów z NASH [10,15]. Jest to obiecująca alternatywna metoda leczenia, jednakże należy pamiętać, aby nie doprowadzić do zbyt szybkiego zmniejszania masy ciała, bo może nasilać objawy NASH. [18,23].

Zmniejszenie insulinooporności

Metformina

Metformina jest doustnym lekiem hipoglikemizującym, pochodną biguanidu [24]. Działa niezależnie od czynności wewnętrzwydzielniczej trzustki [21] przez zmniejszenie wchłaniania glukozy w przewodzie pokarmowym, zahamowanie glukoneogenezy, i uwalnianie glukozy z wątroby [21,24,25]. Metformina zwiększa wrażliwość komórek wątroby na działanie insuliny poprzez aktywację kinazy adeninowo-monofosforanowej zależnej od AMP, co z kolei zwiększa mitochondrialną oksydację kwasów tłuszczowych a w konsekwencji zmniejsza ich stężenie (o 20–30%) oraz zawartość frakcji VLDL cholesterolu [16,24]. Metformina zmniejsza również aktywność TNF- α cytokiny prozapalnej [25,26]. Po zastosowaniu metforminy zaobserwowano zmniejszenie hepatomegalii, zmniejszenie aktywności aminotransferaz wątrobowych, redukcję stłuszczenia, zmniejszenie stanu zapalnego [15,25]. Lepsze rezultaty daje terapia skojarzona metforminy z witaminą E, bądź dietą niskokaloryczną [15,25,]. Metformina stosowana u pacjentów z NASH zmniejsza ryzyko wystąpienia cukrzycy u osób predysponowanych [14,24,27].

Tiazolidinediony

Pobudzają jądrowy receptor aktywowany przez proliferatory peroksysomów PPAR γ (PPAR γ – Peroxisome Proliferation Activated Receptors) czyli steroidowych receptorów jądrowych.

Wyróżniamy trzy rodzaje receptorów PPAR:

- α , występujący głównie w tkance tłuszczowej, wątrobie, nerkach, jelicie, wpływający głównie na oksydację kwasów tłuszczowych oraz sekrecję lipoprotein, jest punktem uchwytu działania fibratów;
- δ , aktywny w tkance tłuszczowej, jelicie, mięśniach i makrofagach, wpływa na syntezę i magazynowanie lipidów oraz eliminację cytokin;
- γ , wykazujący ekspresję głównie w tkance tłuszczowej, wątrobie, mięśniach i skórze, wpływający na różnicowanie i dojrzewanie adipocytów, odpowiedzialny za regulację metabolizmu węglowodanów, stanowi punkt uchwytu działania tiazolidinedionów [28,29].

Aktywność receptorów PPAR indukowana jest przez stres oksydacyjny i proliferację peroksysomów, a naturalnymi aktywatorami receptorów PPAR są kwasy tłuszczowe oraz prostaglandyny [28]. PPAR tworzy heterodimery z receptorami dla retinoidów (RXR – Retinoid X Receptor). Powstałe połączenia PPAR: RXR w chwili związania z ligandem zmieniają konformację i wiążą się ze specyficznymi miejscami DNA [30]. Sekwencje te nazywane są PPREs (Peroxisome Proliferator Response Elements). PPRE wpływają na transkrypcję genów związanych z metabolizmem węglowodanów, tłuszczów i białek, przebiegiem stanów zapalnych oraz proliferację wielu rodzajów komórek. [28]. Prawdopodobnie receptory PPAR mogą również kontrolować aktywację komórek gwiaździstych w wątrobie (HSC), a przez to wpływać na poprawę obrazu zwłóknienia wątroby [31]. Aktywacja PPAR wiąże się ze zmniejszeniem stężenia krążącej leptyny, inhibicją TNF- α , zmniejszeniem transportu kwasów tłuszczowych do wątroby i zwiększonym magazynowaniem triacylogliceroli w adipocytach [28,31]. W badaniach na zwierzętach wykazano indukcję SOCS 3 (Suppressor of Cytokine Signaling 3) w wyniku aktywacji PPAR [28]. Wszystkie opisane mechanizmy działania peroksysomów aktywowanych przez proliferatory prowadzą do znacznej poprawy insulino-wrażliwości co dało podstawę do zastosowania tiazolidinedionów w terapii NASH.

Wśród tiazolidinedionów możemy wyróżnić: troglitazon, rosiglitazon oraz pioglitazon, które działają agonistycznie na receptor PPAR γ , przez co obniżają glikemię u pacjentów z cukrzycą typu 2 oraz zwiększają insulino-wrażliwość, wywierają działanie przeciwzapalne i zapobiegają tworzeniu się zmian zwłóknieniowych w mięszu wątroby, co ma szczególne znaczenie w leczeniu NASH [28].

Troglitazon

Caldwell i wsp. jako pierwsi donieśli o korzystnych efektach stosowania troglitazonu w terapii NASH. Zaobserwowano zmniejszenie aktywności aminotransferaz wątrobowych, jednakże nie było to skorelowane z poprawą obrazu histopatologicznego [32]. Podczas stosowania troglitazonu obserwowano występowanie szeregu działań niepożądanych [26,32]. Zaobserwowano, że troglitazon wywiera silne działanie hepatotoksyczne, co stało się podstawą wycofania leku z użycia [32]

Pioglitazon

Należy do silnych i wysoce selektywnych agonistów receptorów jądrowych PPAR γ – Pioglitazon redukuje aktywności aminotransferaz wątrobowych i poprawia obrazy histologiczne biopatów wątroby [28].

Sanyal i wsp. wykazali, że pioglitazon stosowany łącznie z witaminą E daje lepsze wyniki niż sam pioglitazon zwłaszcza u pacjentów ze rozpoznany NASH, poprawia ukrwienie, zmniejsza stłuszczenie i zwłóknienie wątroby. Po zastosowaniu pioglitazonu u pacjentów z NASH wykazano poprawę badań biochemicznych i histopatologicznych [33]. Przestrzeganie niskokalorycznej diety w trakcie terapii pioglitazonem poprawia wyniki leczenia [28,34,35].

Chociaż dotychczas nie wykazano działania hepatotoksycznego pioglitazonu, zalecane jest kontrolowanie aktywności aminotransferaz w trakcie leczenia [26].

Rosiglitazon

Terapia rosiglitazonem poprawia insulinowrażliwość, normalizuje poziom aminotransferaz wątrobowych, oraz korzystnie wpływa na obrazy histopatologiczne [4]. W niektórych przypadkach leczenie rosiglitazonem jest tak skuteczne, że bezpośrednio po zakończeniu leczenia nie obserwujemy u pacjentów objawów NASH [36]. Niestety w przeciągu 6 miesięcy po zakończeniu leczenia dochodzi do wzrostu poziomu aminotransferaz i nawrotu stłuszczenia wątroby, do stanu z przed leczenia. Korzystne efekty uzyskuje się tylko przy długoterminowym stosowaniu rosiglitazonu [36]. Wprawdzie rosiglitazon nie powoduje uszkodzenia wątroby, ale jego stosowanie wiąże się ze zwiększonym ryzykiem wystąpienia działań niepożądanych ze strony układu krążenia (choroba niedokrwienna serca, obrzęki, retencja płynów, niedokrwistość) [37].

W dotychczasowych badaniach na niewielkich grupach pacjentów stwierdzono, że tiazolidinediony są lekami wywierającymi istotne korzystne efekty w terapii NASH. Jednakże przed wprowadzeniem tiazolidinedionów do rutynowego stosowania niezbędne jest przeprowadzenie dalszych długoterminowych, randomizowanych badań klinicznych [26,28,31].

Zmniejszenie zawartości żelaza

Udział żelaza w patogenezie NASH nie został do końca wyjaśniony. Wykazano, że mutacje C282Y i H63D genu HFE są częste w przypadku stłuszczenia wątroby, co w konsekwencji prowadzi do zwiększonej aktywności ferrytyny, transferyny i zwiększenia stopnia magazynowania żelaza w komórkach wątroby [26,38]. Stopień zwłóknienia wątroby dodatnio koreluje z poziomem żelaza w organizmie. Kontrolne badania poziomu żelaza w przebiegu leczenia mogą mieć znaczenie w ocenie postępu choroby [38], bowiem wykazano, że każde działanie prowadzące do usunięcia nadmiaru żelaza z organizmu (np. kontrolowana flebotomia) prowadzi do redukcji procesu zapalnego w NASH [26].

Leki przeciwlipidowe

Hiperlipidemia i obniżenie stężenia frakcji VLDL cholesterolu są częste u pacjentów z NASH, dlatego ostatnio prowadzonych jest wiele badań klinicznych użycia leków przeciwlipidowych w leczeniu niealkoholowego stłuszczenia wątroby. Piśmiennictwo donosi o próbach stosowania w tej terapii fibratów oraz inhibitorów reduktazy hydroksy-metyloglutarylkoenzymu A (HMG-CoA) [15].

Fibraty

Fibraty są syntetycznymi ligandami receptora PPAR- γ . Wpływają na ekspresję regulowanych przez niego białek sterujących procesami metabolicznymi.

Fenofibrat

Fenofibrat jest lekiem stosowanym w hiperlipidemii. Ostatnio podjęto wiele badań nad ewentualnym wykorzystaniem fenofibratu w leczeniu NASH [39]. Po podaniu fenofibratu zwierzętom, wykazano zwiększenie ekspresji genów kodujących białka regulujące metabolizm tłuszczów w organizmie, oraz zmniejszenie stłuszczenia wątroby [28]. Jednakże, w niektórych badaniach zaobserwowano tendencję do zaostrzenia hepatomegalii oraz zwiększenia aktywności transaminaz wątrobowych [39].

Benzafibrat

Może mieć działanie hepatoprotekcyjne. Chroni przed pogłębianiem się stłuszczenia i stanu zapalnego [26], poprawia wrażliwość na insulinę u pacjentów z NASH [28].

Klofibrat

W przeprowadzonych dotychczas badaniach nie stwierdzono istotnego wpływu leku na niealkoholowe stłuszczenie wątroby [7,15 40].

Gemfibrozil

Badanie nad stosowaniem gemfibrozilu przeprowadzono w małych grupach pacjentów [28,40]. Basaranoglu i wsp. wykazali, że podawanie gemfibrozilu w dawce 600 mg dziennie przez okres 4 tygodni prowadzi do istotnego zmniejszenia aktywności aminotransferaz wątrobowych (u 74% pacjentów) [40]. Niestety, badania histologiczne po zakończeniu leczenia są rzadko wykonywane i niekompletne, dlatego też nie można jednoznacznie określić efektywności terapii [7,40].

Inhibitory syntezy cholesterolu

Statyny

Jedną z pierwszych reakcji na szlak biosyntezy cholesterolu katalizuje syntetaza HMG-CoA. Statyny są inhibitorami HMGCoA i należą do najefektywniejszych leków obniżających poziom cholesterolu w prewencji choroby niedokrwiennej serca. Wykazują także dodatkowe działanie przeciwzapalne i prowadzą do zmniejszenia stresu oksydacyjnego [41]. Dotychczas czynna choroba wątroby i niewyjaśnione zwiększenie aktywności aminotransferaz były przeciwwskazaniem do stosowania statyn [15]. Pomimo to podejmowane są próby wykorzystania inhibitorów syntetazy HMGCoA w terapii NASH, zwłaszcza u pacjentów z zespołem metabolicznym [11,42].

Atorwastatyna

Nieliczne wstępne badania wskazują na zmniejszenie aktywności aminotransferaz wątrobowych u pacjentów leczonych atorwastatyną [15,43].

Prawastatyna

Badanie z podawaniem 20 mg pravastatyny dziennie przez okres 6 miesięcy pacjentom z NASH potwierdzone biopsją, wykazało zmniejszenie stanu zapalnego, normalizację enzymów wątrobowych, zwłaszcza u pacjentów bez cukrzycy z prawidłową masą ciała [41].

Rosuwastatyna

Jest najnowszą postacią statyny [44]. Badania na 23 pacjentach, przyjmujących 10 mg rosuwastatyny dziennie przez 8 miesięcy wykazują potencjalne korzystne działanie leku w terapii NASH. Wstępne badania wykazały, że jest bezpieczna zarówno dla pacjentów z cukrzycą typu 2 jak i bez rozpoznanej cukrzycy [45]. Udowodniono, że dawka 10 mg na dobę jest bardziej efektywna w obniżaniu poziomu cholesterolu niż stosowanie innych statyn w większych dawkach [44].

Xuezhikang

Xuezhikang jest tradycyjnym chińskim lekiem, wyciągiem z drożdży *Monascus purpureus* Went rosnących na ryżu. Działanie preparatu opiera się na zahamowaniu aktywności reduktazy HMG-CoA (następnego enzymu działającego po syntezie HMG-CoA w czasie syntezy cholesterolu) i zmniejszeniu ekspresji TNF- α . Efekty terapeutyczne xuezhikang porównywalne są do stosowania statyn. U szczurów z niealkoholowym stłuszczeniem wątroby poddanych działaniu xuezhikang zmniejszyło się nagromadzenie kwasów tłuszczowych w wątrobie, polepszył się profil lipidowy, doszło do obniżenia stężenia markerów procesów zapalnych w surowicy krwi, nastąpiła poprawa wrażliwości na insulinę [39].

Ezetimib

Jest selektywnym inhibitorem wchłaniania cholesterolu w rąbku szczoteczkowym enterocytów, redukującym stężenie LDL. Wstępne doniesienia wskazują na możliwe korzyści stosowania ezetimibu w niealkoholowych stłuszczeniowych chorobach wątroby w monoterapii jak i w połączeniu z simvastatiną [46].

Leki hepatoprotekcyjne

Kwas ursodeoksycholowy (UDCA)

Kwas ursodeoksycholowy działa silnie żółciotwórczo, zmniejsza wydzielanie cholesterolu z żółcią. Działanie hepatoprotekcyjne wiąże się z stabilizacją błony komórkowej, oraz zmniejszeniem stopnia peroksydacji lipidów. Wzmaga również aktywność immunomodulacyjną w obrębie dróg żółciowych i wątroby [21,47,48]. Dane dotyczące zastosowania UDCA w terapii NASH są sprzeczne i pozostawiają wiele wątpliwości. Pierwsze wyniki rocznej obserwacji 40 chorych, którym podawano UDCA w dawce dziennej 13–15 mg/kg masy ciała wskazywały na znaczącą poprawę parametrów biochemicznych i histologicznych [49]. Kolejne badania na grupie 166 osób leczonych tymi samymi dawkami UDCA w przeciągu 2 lat, nie wykazały znamiennych różnic w porównaniu z placebo [50]. Zachęcające wyniki otrzymano natomiast w terapii skojarzonej UDCA z witaminą E [51,52].

UDCA nie jest obecnie zalecane w terapii niealkoholowego zwłóknienia wątroby, ze względu na konieczność przepro-

wadzenia dodatkowych randomizowanych badań klinicznych z użyciem placebo.

Betaina

Jest czwartorzędową solą amoniową glicyny. Ma zdolność oddawania grup metylowych różnym substratom np. w czasie przekształcania homocysteiny w metioninę [53]. Betaina zwiększa syntezę S-adenozylu-metioniny (SAM – S-adenosyl-L-methionine), która chroni przed magazynowaniem triacylogliceroli w komórkach wątroby, bierze udział w metabolizmie fosfolipidów i stabilizuje błonę komórkową [54,53], działa ochronnie na komórki wątroby, prowadząc do redukcji poziomu stłuszczenia i stopnia zwłóknienia wątroby [53].

Badania przeprowadzone przez Abdelmalek i wsp. prezentują obiecujące wyniki zastosowania betainy w terapii NASH. Betainę podawano przez 12 miesięcy 10 pacjentom z NASH. Po zakończonym leczeniu wykazano, że nie tylko znacznie zmniejszyła się aktywność aminotransferaz, ale zachodzą korzystne zmiany w obrazie histologicznym [54].

Silibina, Sylimaryna

Aktywne związki *Ostropestu plamistego* – *Silybum marianum* mają działanie hepatoprotekcyjne. Mechanizm działania sylimaryny związany jest z uszczelnieniem błon komórkowych, pobudzeniem regeneracji hepatocytów, zmniejszeniem ekspresji prokolagenu- α oraz TIMP-1 [19,55,56].

W badaniach przeprowadzonych zarówno na zwierzętach jak i na ludziach wykazano korzystny wpływ silibiny i sylimaryny na parametry biochemiczne wątroby. Sylibina stosowana łącznie z fosfolipidami, oraz witaminą E, zmniejszała masę ciała, poprawiała insulinowrażliwość, zmniejszała aktywność markerów procesu zapalnego w surowicy oraz poprawiała obrazy histologiczne [19].

Antyoksydanty

α -tokoferol, witamina C

Witamina E zmniejsza stopień peroksydacji lipidów wywołany stresem oksydacyjnym, aktywność cytokin prozapalnych (TNF- α , IL-1, IL-6, IL-8) oraz hamuje ekspresję genów odpowiedzialnych za produkcję kolagenu w wątrobie [57]. W badaniach pilotażowych u dzieci z NASH, którym podawano witaminę E w dawce 400–1200 IU/dziennie, wystąpiła znaczna poprawa zarówno parametrów biochemicznych jak i obrazów histopatologicznych biopsji wątroby [10]. Zastosowanie witaminy E powodowało istotny spadek aktywności aminotransferaz, γ -GTP, markerów stresu oksydacyjnego (tioredoksyny, TRX, substancji reagujących z kwasem tiobarbiturowym) oraz zmniejszenie stopnia stłuszczenia i zwłóknienia wątroby [51,58]. Wpływ na stopień zwłóknienia ma połączenie stosowania α -tokoferolu z witaminą C, chociaż nie zaobserwowano istotnej poprawy aktywności ALT [59].

Probukol

Jest lekiem obniżającym poziom lipidów w surowicy krwi, o potencjalnych właściwościach antyoksydacyjnych [60]. Pierwsze pilotażowe badanie z zastosowaniem probukolu

przeprowadzili Merat i wsp. w 2003 roku. Probukol podawano w dawce 500 mg dziennie przez 6 miesięcy 30 pacjentom z histologicznym rozpoznaniem NASH. U wszystkich chorych zaobserwowano normalizację AST i ALT w surowicy krwi, niestety nie wykonano badania histopatologicznego [61]. Wiadomo, że probukol może wywierać potencjalne działania niepożądane ze strony układu sercowo-naczyniowego ale w badaniach Merata nie odnotowano żadnych działań niepożądanych w trakcie leczenia probukolem [61].

N-acetylocysteina

Jest prekursorem glutationu chroniącym przed uszkodzeniem i stłuszczeniem hepatocytów [62]. Normalizuje aktywność aminotransferaz wątrobowych [19].

Wielonienasycone kwasy tłuszczowe

Wielonienasycone kwasy tłuszczowe stanowią kolejne źródło aktywatorów receptora PPAR- γ . Prowadzą do zmniejszenia ekspresji kluczowych enzymów biorących udział w wątrobowej biosyntezie lipidów. Podanie zwierzętom wielonienasyconych kwasów tłuszczowych zwiększało ich wrażliwość na działanie insuliny, zmniejszało stężenie wolnych kwasów tłuszczowych, poziomu triacylogliceroli w surowicy krwi, i prowadziło do zmniejszenia stopnia stłuszczenia wątroby. Podobne efekty, za wyjątkiem poprawy insulinowrażliwości wykazano we wstępnych badaniach przeprowadzonych na ludziach. Niestety, uzyskane wyniki nie były kontrolowane kontrolną biopsją wątroby po zakończonym leczeniu [28,63].

Leki hamujące uwalnianie mediatorów zapalnych

Pentoksyfilina

Jest syntetyczną pochodną ksantyny. Mechanizm działania wiąże się z hamowaniem syntezy czynnika martwicy nowotworów TNF- α . Pentoksyfilina zmniejsza stres oksydacyjny i tworzenie reaktywnych form tlenu. Pentoksyfilina zmniejsza aktywność enzymów wątrobowych oraz zmniejsza stopień stłuszczenia i stan zapalny, który towarzyszy NASH [15,64]. Obiecujące wstępne wyniki wykorzystania pentoksyfiliny w terapii NASH sugeruje przeprowadzenie prób klinicznych na większej grupie pacjentów.

Adiponektyna

Adiponektyna to polipeptydowy hormon syntetyzowany przez adipocyty. Adiponektyna poprawia zarówno obwodową jak i wątrobową wrażliwość na insulinę, zmniejsza stężenie i magazynowanie kwasów tłuszczowych w hepatocytach, aktywuje receptor PPAR oraz zwiększa oksydację kwasów tłuszczowych. Poziom adiponektyny koreluje ze stopniem rozwoju stanu zapalnego u pacjentów z NASH [28,65]

Leki hamujące endotoksyny i TNF- α

Probiotyki

Mechanizmy działania probiotyków nie zostały jeszcze do końca poznane, chociaż wiadomo, że normalizują florę bakteryjną w przewodzie pokarmowym. Zaobserwowano, że dłuższe przyjmowanie probiotyków redukowało poziom TNF- α i prowadziło do obniżenia poziomu markerów stanu zapalnego wątroby [19].

Polymyksyna B

Wstępne badania na zwierzętach wykazały, że polymyksyna B ogranicza stłuszczenie wątroby przypuszczalnie przez zmniejszenie ekspresji TNF- α , oraz chroni komórki wątroby przed szkodliwym działaniem endotoksyn bakteryjnych [18].

Transplantacja wątroby

Wskazaniem do przeprowadzenia przeszczepu wątroby w przypadku pacjentów z NASH jest szybko postępujące stłuszczenie powikłane procesem zapalnym, marskość oraz rak wątrobowokomórkowy [18,66]. W związku z doniesieniami o nawrotach objawów NASH po wykonanych zabiegach, niezbędne jest przeprowadzenie wnikliwej obserwacji parametrów biochemicznych i obrazu histologicznego wątroby po transplantacji [66,67]

Leki hamujące zwłóknienie wątroby

Kurkumina

Jest barwnikiem roślinnym występującym w kurkumie (*Curcuma longa*). Przypisuje się jej rolę potencjalnego antyoksydanta. *In vitro* hamuje proliferację komórek gwiazdzistych wątroby (HSC) poprzez regulację PPAR- α [68].

Pirfenidon

Pirfenidon jest stosunkowo nowym lekiem zapobiegającym tworzeniu się i postępowi zwłóknienia wątroby. Hamuje działanie dimetylonitrozoaminy wywołującej zwłóknienie. Zmniejsza proliferację HSC poprzez zahamowanie fosforylacji kinazy C (PKC).

Znacznie zmniejsza produkcję kolagenu typu I [69].

Gliotoksyna

Gliotoksyna jest toksyną grzybiczą hamującą aktywność czynnika jądrowego κB (NF- κB) oraz pobudzającą apoptozę w różnych komórkach układu odpornościowego z włączeniem tymocytów, makrofagów oraz limfocytów T, HSC [19,70]. Wright i wsp. wykazali istotne zmniejszenie stłuszczenia, zmniejszenie stanu zapalnego oraz stopnia zwłóknienia wątroby u szczurów poddanych terapii gliotoksyną [70].

Sho-saiko-to

Sho-saiko-to jest jednym z najpopularniejszych ziół stosowanych w tradycyjnym japońskim lecnicztwie. Znalazło zastosowanie w leczeniu przewlekłej niewydolności wątroby zwłaszcza o podłożu wirusowym. Wykazano, że posiada właściwości cytoprotekcyjne i przeciwnowotworowe. Sho-saiko-to wpływa na ekspresję metaloproteinaz, tkankowego inhibitora metaloproteinaz TIMP-1, HSC, oraz ekspresję mRNA w prokolagenie. Doniesiono o korzystnych efektach stosowania Sho-saiko-to w stanach zapalnych wątroby oraz w zmianach zwłóknieniowych związanych z niealkoholowym stłuszczeniem wątroby [19,71].

Leki blokujące receptory kanabinoidowe typu CB1

Helmy wykazał, że u myszy pozbawionych receptora kanabinoidowego CB1 nie dochodzi do stłuszczenia wątroby zależnego

od diety. Blokowanie receptora kanabinoidowego zapobiegało zwiększeniu masy ciała, poziomowi triacylogliceroli nie zmieniła się i nie dochodziło do wytworzenia insulinooporności. Po dalszych eksperymentach postawiono hipotezę, że receptory kanabinoidowe mogą regulować obwodową lipogenezę. Uważa się, że antagonistą receptora CB1 – rimonabant, który niedługo prawdopodobnie zostanie włączony do terapii otyłości, może również stać się alternatywą w leczeniu NASH [72].

Leki wpływające na układ renina – angiotensyna

Układ renina – angiotensyna jest często aktywowany u pacjentów z chronicznymi chorobami wątroby i wydaje się odgrywać kluczową rolę w powstawaniu zmian zwłóknieniowych w wątrobie [19]. Doniesiono o korzystnych efektach stosowania inhibitorów enzymu konwertującego angiotensynę I w angiotensynę II (kaptoprilu) oraz antagonistów receptora angiotensyny II – AT₁ (losartanu) w stanach zwłóknieniowych wątroby [60,73]. Oba leki korzystnie wpływają na profil enzymów wątrobowych. Losartan wpływał również na zmniejszenie aktywności cytokin prozapalnych TNF- α oraz TGF- β , natomiast nie zaobserwowano takiego działania w przypadku kaptoprilu [60,73].

Leki o innych mechanizmach działania

Kwas foliowy

W badaniu na zwierzętach wykazano, że niedobór kwasu foliowego może prowadzić do zaburzeń w metabolizmie metioniny, a w konsekwencji do rozwoju NASH.

Niestety we wstępnym badaniu z 2007 roku, przeprowadzonym na grupie pacjentów ze zdiagnozowanym NASH po 6 miesiącach leczenia kwasem foliowym w dawce 1 mg/dzień-

nie, nie zaobserwowano znaczącej poprawy parametrów biochemicznych stłuszczenia wątroby [74].

Akarboza

Akarboza jest inhibitorem α -glukozydazy o udowodnionym działaniu leczniczym w cukrzycy typu 2. Zastosowanie akarbozy w eksperymentalnym modelu NASH zmniejszało stopień stłuszczenia i procesu zapalnego, oraz aktywność cytokiny prozapalnej TNF- α , ekspresję jej mRNA, a także powodowało zahamowanie ekspresji cytochromu P4502E1 [75,76].

Metronidazol

Wstępne badania przeprowadzone na małych grupach pacjentów wykazują na korzystne działanie metronidazolu w leczeniu NASH [18].

Podsumowanie

W związku z rosnącą liczbą zachorowań, leczenie niealkoholowego stłuszczenia wątroby (NASH) staje się coraz częstszym problemem napotykanym w praktyce klinicznej. Niestety, w Polsce na dzień dzisiejszy, brak jest standardu leczenia NASH.

Literatura światowa przedstawia liczne badania podejmujące próbę wykorzystania różnych, biologicznie aktywnych związków, o odmiennych mechanizmach działania w terapii niealkoholowych stłuszczeń wątroby o podłożu zapalnym.

W oparciu o zachęcające wyniki licznych eksperymentów niezbędne jest zaplanowanie i wykonanie, kontrolowanych badań klinicznych dotyczących zwłaszcza bezpieczeństwa stosowania, poszczególnych grup leków.

Piśmiennictwo:

1. Adams LA, Angulo P, Lindor KD: Non-alcoholic fatty liver disease. CMAJ, 2005; 172(7): 899–905
2. Neuschwander-Tetri BA: Fatty liver and nonalcoholic steatohepatitis. Clinical Cornerstone, 2001; 3(6): 47–57
3. Das K, Kar P: Non-alcoholic steatohepatitis: JAPI; 2005; 53: 195–99
4. Slight K, Bourass I, Sels JP i wsp: Non-alcoholic steatohepatitis: review of a growing medical problem. Eur J Intern Med, 2004; 15: 10–21
5. Collier J: Non-alcoholic fatty liver disease. Medicine, 2006; 35(2): 86–88
6. McClain CJ, Mokshagundam SPL, Brave SS i wsp: Mechanisms of non-alcoholic steatohepatitis. Alcohol, 2004; 34: 67–79
7. Reid AE: Non-alcoholic steatohepatitis: Gastroenterology, 2001; 121: 710–23
8. Day CP: Pathogenesis of steatohepatitis. Best Pract Res Clin Gastroenterol, 2002; 16(5): 663–78
9. Larter CZ, Farrell GC: Insulin resistance, adiponectin, cytokines in NASH: which is the best target to treat? J Hepatol, 2006; 44: 253–61
10. Cortez-Pinto H, Carneiro de Moura M, Day CP: Non-alcoholic steatohepatitis: from cell biology to clinical practice. J Hepatol, 2006; 44: 197–208
11. Browning JD, Horton JD: Molecular mediators of hepatic steatosis and liver injury. J Clin Invest, 2004; 114(2): 147–52
12. Diehl AM, Li ZP, Lin HZ, Yang SQ: Cytokines and the pathogenesis of non-alcoholic steatohepatitis. Gut, 2005; 54: 303–6
13. James OF, Day CP: Non-alcoholic steatohepatitis (NASH): a disease of emerging identity and importance. J Hepatol, 1998; 29: 795–801
14. Ramesh S, Sanyal AJ: Evaluation and management of non-alcoholic steatohepatitis. J Hepatol, 2005; 42: S2–12.
15. Adams LA, Angulo P: Treatment of non-alcoholic fatty liver disease. Postgrad Med J, 2006; 82: 315–22
16. Angulo P: Treatment of non-alcoholic steatohepatitis. Best Pract & Clin Gastroenterol, 2002; 16(5): 797–810
17. Suzuki A, Lindor K, Saver JS i wsp: Effect of changes on body weight and lifestyle in nonalcoholic fatty liver disease. J Hepatol, 2005; 43: 1060–66
18. Charlton M: Nonalcoholic fatty liver disease: a review of current understanding and future impact. Clin Gastroenterol Hepatol, 2004; 2: 1048–58
19. Federico A, Trappoliere M, Loguercio C: Treatment of patients with non-alcoholic fatty liver disease: current views and perspectives. Dig Liv Dis, 2006; 38: 789–801
20. Huang MA, Greenon JK, Chao C i wsp: One-year intense nutritional counseling results in histological improvement in patients with non-alcoholic steatohepatitis: a pilot study. Am J Gastroenterol, 2005; 100(5): 1072–81
21. Pharmindex. Kompendium Leków, 2008, CMP Medica
22. Harrison SA, Ramrakhiani S, Brunt EM i wsp: Orlistat in the treatment of NASH: a case series. Am J Gastroenterol, 2003; 98(4): 926–30
23. Youssef W: Steatohepatitis in obese individuals. Best Pract Res Clin Gastroenterol, 2002; 16(5): 733–47
24. Lin H, Yang SQ, Chuckaree C i wsp: Current biochemical studies of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and non-alcoholic steatohepatitis (NASH) suggest a new therapeutic approach. Nat Med, 2000; 6(8): 998–1003
25. Day C: Non-alcoholic fatty liver disease. Evid Based Gastroenterol, 2004; 26: 393–403
26. Bugianesi E: Non-alcoholic fatty liver disease/non-alcoholic steatohepatitis (NAFLD/NASH): treatment. Best Pract & Clin Gastroenterol, 2004; 18(6): 1105–16
27. Marchesini G, Brizi M, Bianchi G i wsp: Metformin in non-alcoholic steatohepatitis. Lancet, 2001; 358: 893–94

28. Kallwitz ER, Mc Lachlan A, Cotler SJ: Role of peroxisome proliferators-activated receptors in the pathogenesis and treatment of nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*, 2008; 14(1): 22–28
29. Portincasa P, Grattagliano I, Palmieri VO, Palasciano G: Nonalcoholic steatohepatitis: recent advances from experimental models to clinical management. *Clin Biochem*, 2005; 38: 203–17
30. Zwierz K, Knaś M: Biosynteza i transport kwasów żółciowych. *Hepatol*, 2002; 5–18
31. Al-Gharabally A, O'Brien C, Acosta RC: A pilot study of pioglitazone for the treatment of non-alcoholic fatty liver disease. *Hepatitis Monthly*, 2007; 7(3): 131–37
32. Caldwell SH, Hespeneheide EE, Redick JA i wsp: A pilot study of thiazolidinedione, troglitazone, in nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Gastroenterol*, 2001; 96(2): 519–25
33. Sanyal AJ, Mofrad PS, Contos MJ i wsp: A pilot study of vitamin E versus vitamin E and pioglitazone for treatment of nonalcoholic steatohepatitis. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2004; 2: 1107–15
34. Serfaty L: Pioglitazone: the beginning of a new era for NASH? *J Hepatol*, 2007; 47: 160–62
35. Promrat K, Lutcham G, Uwaifo GI i wsp: A pilot study of pioglitazone treatment for nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatol*, 2004; 39(1): 188–96
36. Neuschwander-Tetri BA, Brunt EM, Wehmeier KR i wsp: Improved nonalcoholic steatohepatitis after 48 weeks of treatment with the PPAR- γ ligand rosiglitazone. *Hepatol*, 2003; 38: 1008–17
37. Hanriksen JH, Ring-Larsen H: Rosiglitazone: possible complications and treatment of non-alcoholic steatohepatitis (NASH). *J Hepatol*, 2008; 48: 174–76
38. Faccini FS, Hua NW, Stoohs RA: Effect of iron depletion in carbohydrate-intolerant patients with clinical evidence of nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterol*, 2002; 122: 931–39
39. Hong XZ, Li LD, Wu LM: Effects of fenofibrate and xuezhikang on high-fat diet-induced non-alcoholic fatty liver disease. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2007; 34: 27–35
40. Basarsnoglu M, Acbay O, Sonsuz A: A controlled trial of gemfibrozil in the treatment of patients with nonalcoholic steatohepatitis. *J Hepatol*, 1999; 31(2): 384
41. Rallidis LS, Drakoulis CK, Parasi AS: Pravastatin in patients with nonalcoholic steatohepatitis: results of a pilot study. *Atherosclerosis*, 2004; 174: 193–96
42. Lukivskaya O, Knas M, Dudzik D i wsp: Effect of statins on liver fibrosis reversibility and activates of lysosomal exoglycosidases. *E&C Hepatology*, 2007; 3(1): 14–17
43. Hatzitolios A, Savopoulos C, Lazaraki G i wsp: Efficacy of omega-3 fatty acids, atorvastatin and orlistat in non-alcoholic fatty liver disease with dyslipidemia. *Indian J Gastroenterol*, 2004; 23(4): 131–34
44. Ahmed MH: Rosuvastatin as treatment for non alcoholic steatohepatitis (NASH) and highly active antiretroviral therapy (HAART)-dyslipidemia: new treatment for global dangers. *Med Hypotheses*, 2006; 66(2): 440–41
45. Antonopoulos S, Mikros S, Mylonopoulou M i wsp: Rosuvastatin as a novel treatment of non-alcoholic fatty liver disease in hyperlipidemic patients. *Atherosclerosis*, 2006; 184: 233–34
46. Ahmed MH, Saad RA, Osman MM: Ezetimibe: effective and safe treatment for dyslipidemia associated with nonalcoholic fatty liver disease. *Expert Opin Drug Saf*, 2006; 5(4): 487–88
47. Knaś M, Lukivskaya O, Karaszewska K i wsp: UDCA and activity of exoglycosidases in rat liver, kidney and serum in experimental non-alcoholic steatohepatitis (NASH). *E&C Hepatology*, 2007; 3(4): 17–20
48. Knaś M, Dudkiewicz E, Szajda SD i wsp: Ursodeoxycholic acid – panacea for liver diseases? *E&C Hepatology*, 2006; 12–19
49. Bugianesi E, Marzocchi R, Villanova N, Marchesini G: Non-alcoholic fatty liver disease/non-alcoholic steatohepatitis (NAFLD/NASH): treatment. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*, 2004; 18(6): 1105–16
50. Lindor KD, Kowdley KV, Heathcote EJ i wsp: Ursodeoxycholic acid for treatment of nonalcoholic steatohepatitis: results of a randomized trial. *Hepatol*, 2004; 39(3): 770–78
51. Dofour JF, Oneta CM, Gonsvers EJ i wsp: Randomized placebo-controlled trial of ursodeoxycholic acid with vitamin E in nonalcoholic steatohepatitis. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2006; 4: 1537–43
52. Ersöz G, Günşar F, Karasu Z i wsp: Management of fatty liver disease with vitamin E and C, compared to ursodeoxycholic acid treatment. *Turk J Gastroenterol*, 2005; 16(3): 124–28
53. Houghton WC: Betaine and nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Gastroenterol*, 2003; 98(12): 2803–3(1)
54. Abdelmalek MF, Angulo P, Jorgensen RA i wsp: Betaine, a promising new agent for patients with nonalcoholic steatohepatitis: results of a pilot study. *Am J Gastroenterol*, 2001; 96(9): 2711–17
55. Jia JD, Bauer M, Cho JJ i wsp: Antifibrotic effect of silymarin in rat secondary biliary fibrosis is mediated by downregulation of procollagen alpha 1 (I) and TIMP-1. *J Hepatol*, 2001; 35(3): 392–98
56. Waszkiewicz N, Szajda S, Waszkiewicz M i wsp: Sylimaryna w chorobach wątroby. *Hepatologia*, 2006; 6: 92–98
57. Yakaryilmaz F, Gulier S, Ozenirler S i wsp: Vitamin E treatment in patient with nonalcoholic steatohepatitis: a six-month, open-label study of sixteen patients. *Curr Ther Res*, 2004; 65(3): 266–77
58. Kawanaka M, Mahmood S, Niyama G i wsp: Control of oxidative stress and reduction in biochemical markers by vitamin E treatment in patients with nonalcoholic steatohepatitis: a pilot study. *Hepatol Res*, 2004; 29: 39–41
59. Harrison SA, Torgerson S, Hayashi P i wsp: Vitamin E and vitamin C treatment improves fibrosis in patient with nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Gastroenterol*, 2003; 98(11): 2485–90
60. Comar KM, Sterling RK: Review article: drug therapy for non-alcoholic fatty liver disease. *Aliment Pharmacol Ther*, 2006; 23: 207–15
61. Merat S, Malekzadeh R, Sohrabi MR i wsp: Probuconol in the treatment of non-alcoholic steatohepatitis: a double-blind randomized controlled study. *J Hepatol*, 2003; 38: 414–18
62. Ostrowska J, Makiela M, Zwierz K: Dział stresu oksydacyjnego w uszkodzeniach wątroby. *Hepatologia*, 2004; 4: 28–32
63. Dobryniewski J, Szajda SD, Waszkiewicz N, Zwierz K: Biologia niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych (NNKT). *Przegl Lek*, 2007; 64(2): 91–99
64. Koppe SWP, Sahai A, Malladi P i wsp: Pentoxifylline attenuates steatohepatitis induced by the methionine choline defect diet. *J Hepatol*, 2004; 41: 592–98
65. Sieber J, Galle PR: Treatment of nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*, 2006; 12(14): 2161–17
66. Angulo P: Nonalcoholic fatty liver disease and liver transplantation. *Liver Transpl*, 2006; 12: 523–34
67. Kim WR, Poterucha JJ, Porayko MK i wsp: Recurrence of nonalcoholic liver transplantation. *Transpl*, 1996; 62: 1802–5
68. Xu J, Fu Y, Chen A: Activation of peroxisome proliferator-activated receptor- γ contributes to the inhibitory effects of curcumin on rat hepatic stellate cell growth. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2003; 285: G20–30
69. Di Sario A, Bendia E, Baroni GS i wsp: Effect of pirfenidone on rat hepatic stellate cell proliferation and collagen production. *J Hepatol*, 2002; 37: 584–91
70. Wright MC, Issa R, Smart DE i wsp: Gliotoxin stimulates the apoptosis of human and rat hepatic stellate cells and enhances the resolution of liver fibrosis in rats. *Gastroenterol*, 2001; 121: 685–98
71. Sakaida I, Hironaka K, Kimura T i wsp: Herbal medicine Sho-saiko-to (TJ-9) increases expression matrix metalloproteinases (MMPs) with reduced expression of tissue inhibitor of metalloproteinases (TIMPs) in rat stellate cell. *Life Sci*, 2004; 74: 2251–63
72. Helmy A: Endocannabinoids and non-alcoholic steatohepatitis. *Saudi J Gastroenterol*, 2006; 12(1): 36–37
73. Wei YH, Jun L, Qiang CJ: Effect of losartan, an angiotensin II antagonist, on hepatic fibrosis induced by CCl₄ in rats. *Dig Dis Sci*, 2004; 49(10): 1589–94
74. Charatcharoenwithaya P, Levy C, Angulo P i wsp: Open-label pilot study of folic acid in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Liver Int*, 2007; 27(2): 220–26
75. Lieber CS, Leo MA, Xu Y i wsp: Acarbose attenuates experimental non-alcoholic steatohepatitis. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004; 315: 699–703
76. Yamagishi S, Nakamura K, Inoue H: Acarbose is a promising therapeutic strategy for the treatment of patients with nonalcoholic steatohepatitis (NASH). *Med. Hypotheses*, 2005; 65: 377–79.

Stłuszczenie wątroby u dzieci z mukowiscydozą

Hepatic steatosis in children with cystic fibrosis

Mikołaj Teisseyre, Piotr Socha, Jerzy Socha

Klinika Gastroenterologii, Hepatologii i Immunologii, Instytutu „Pomnik – Centrum Zdrowia Dziecka” w Warszawie

Summary: The authors describe the principles of the diagnosis, pathogenesis and treatment of hepatic steatosis in children with cystic fibrosis. Hepatic steatosis is probably related to malnutrition, inflammatory reaction, essential fatty acid deficiency, genetic defect itself. Therapy includes: improvement of nutritional status, treatment with ursodeoxycholic acid and antioxidative agents, supplementation with lipid-soluble vitamins, dietary supplementation with omega-3 essential fatty acids.

Słowa kluczowe: mukowiscydoza • stłuszczenie wątroby • dzieci

Key words: cystic fibrosis • hepatic steatosis • children

Adres do korespondencji: Mikołaj Teisseyre, Klinika Gastroenterologii, Hepatologii i Immunologii, Instytut „Pomnik-Centrum Zdrowia Dziecka”, Warszawa, Al. Dzieci Polskich 20, 04-736 Warszawa, Polska, e-mail: m.teisseyre@chello.pl

Wstęp

Mukowiscydoza jest najczęściej występującą chorobą uwarunkowaną genetycznie spowodowaną mutacją genu CFTR (*Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator*) zlokalizowanego na 7 chromosomie. Dziedziczy się w sposób autosomalny, recesywny. Mukowiscydoza, w rasie kaukaskiej, występuje z częstością 1:2500 urodzeń. Procesem chorobowym objęte są przede wszystkim płuca i trzustka, ale także w różnym stopniu cały przewód pokarmowy wraz z wątrobą. Stopień zaawansowania zmian w układzie oddechowym warunkuje ciężkość choroby i czas przeżycia chorych. Wraz z postępowaniem w leczeniu mukowiscydozy i wydłużeniem życia wzrasta odsetek chorych z patologią wątroby i dróg żółciowych. Marskość wątroby stanowi obecnie drugą, po powikłaniach oddechowych, przyczynę zgonu u chorych na mukowiscydozę [1]. Nie wykazano bezpośredniej korelacji między rodzajem mutacji a nasileniem zmian w wątrobie. Większość mutacji genu CFTR, w tym najczęstsza w krajach europejskich mutacja delta F508, należy do alleli PI (*pancreatic insufficiency*) odpowiedzialnych za ciężki przebieg choroby z niewydolnością trzustki. Allele PS (*pancreatic sufficiency*) występują tylko u 10–15% chorych. Patologia wątroby prawdopodobnie związana jest z mutacjami odpowiedzialnymi za niewydolność trzustki [2–4].

Patologia wątroby i dróg żółciowych u chorych z mukowiscydozą

Patologia wątroby można pojawić się już w okresie noworodkowym jako przedłużająca się żółtaczka. Przebiecie cholestazy noworodkowej nie warunkuje jednak dalszego rozwoju zmian

w wątrobie. Patologia wątroby u dzieci starszych i chorych dorosłych obejmuje 3 stadia zaawansowania zmian patologicznych: stłuszczenie wątroby lub stłuszczenie z zapaleniem wątroby (hepatic steatosis, steatohepatitis), ogniskową marskość żółciową (focal biliary cirrhosis) i wielozrakową marskość wątroby (multilobular cirrhosis) [5]. Marskość wątroby, u dzieci z mukowiscydozą, charakteryzuje się rozwojem nadciśnienia wrotnego z rozwojem żyłaków przełyku, powiększeniem śledziony z objawami jej nadczynności (splenomegalia i hypersplenizm). Czynność hepatocytów pozostaje natomiast długi czas zachowana, także chorzy często nie mają istotnych zaburzeń krzepnięcia, hipoaalbuminemii ani hiperbilirubinemii. W zakresie patologii dróg żółciowych obserwuje się zwiększoną skłonność do kamicy żółciowej uwarunkowaną zmianami właściwości żółci ze wzrostem jej lepkości, a także z powodu stwierdzanej, u około 30% pacjentów, hipoplazji pęcherzyka żółciowego. Rzadziej współistnieją z mukowiscydozą stwardniające zapalenie dróg żółciowych i zwężenie przewodu żółciowego wspólnego. Opisywano także występowanie nowotworu wywodzącego się z dróg żółciowych.

Zmiany patologiczne w zakresie wątroby i dróg żółciowych ściśle są ze sobą związane. Pierwotne zaburzenie dotyczy dróg żółciowych, albowiem białko CFTR produkowane jest w komórkach nabłonka wewnątrz- i zewnątrzwątrobowych dróg żółciowych oraz pęcherzyka żółciowego. Nie jest natomiast syntetyzowane w hepatocytach i innych komórkach wątroby [6]. Zaburzenia w transporcie chloru, reabsorpcji sodu i wzrost stężenia skoniugowanych z glicyną kwasów żółciowych w obrębie wewnątrzwątrobowych przewodów żółciowych, spowodowane defektem CFTR w obrębie cholangiocyty, powoduje zmiany w składzie żółci i zmniejszenie jej

produkcji [7]. Prowadzić to może do niedrożności drobnych przewodów żółciowych. Wtórny procesem, będącym reakcją organizmu na rozwijającą się cholestazę, jest włóknienie okołowrotne doprowadzające stopniowo do marskości wątroby. Kilka hipotez próbuje wyjaśnić rozwój włóknienia okołowrotnego, które rozpoczyna się od odkładania złogów kolagenu w przestrzeniach wrotnych.

1. Uszkodzenie hepatocytów przez hydrofobowe kwasy żółciowe uwalnia pozapalne cytokiny, czynniki wzrostu oraz produkty peroksydacji lipidów, które stymulują wątrobowe komórki gwiaździste do syntezy kolagenu.
2. Stymulacja komórek gwiaździstych, przez cytokiny i czynniki wzrostu, do syntezy kolagenu spowodowana jest uszkodzeniem komórek nabolka dróg żółciowych.
3. Stan zapalny w obrębie dróg żółciowych prowadzi do migracji makrofagów, neutrofilów, limfocytów i uwalniania cytokin.

Progresja zmian w wątrobie, od cholestazy poprzez ogniskową marskość żółciową do marskości wielozrakowej jest najczęściej wieloletnim procesem.

Stłuszczenie wątroby

Stłuszczenie wątroby jest najczęściej obserwowaną zmianą patologiczną w wątrobie występującą co najmniej u 1/3 chorych na mukowiscydozę. Etiologia stłuszczenia wątroby w przebiegu mukowiscydozy nie została w pełni wyjaśniona. Nie udowodniono czy stanowi ona wstępny etap zmian w wątrobie prowadzący powoli, ale nieuchronnie do marskości wątroby, czy też stanowi odrębną patologię. Czy stłuszczenie jest procesem odwracalnym, ale jeżeli tak, to czy do regresji zmian dochodzi w wyniku leczenia farmakologicznego, żywieniowego, czy może też w wyniku samoistnej remisji? Otwarte pozostaje też pytanie czy stłuszczenie, obserwowane w mukowiscydozie, stanowi specyficzną patologię dla tej choroby, czy też jest to proces analogiczny do obserwowanego w innych zespołach chorobowych jak cukrzyca typu 2, otyłość, choroba Wilsona, nieswoiste choroby zapalne jelit, celiakia, wirusowe zapalenie wątroby typu C.

W badaniu klinicznym stwierdza się izolowaną hepatomegalię, bez splenomegalii i bez obecności wodobrzusza. W badaniu ultrasonograficznym stwierdza się hiperechogeniczną strukturę wątroby, a w badaniach laboratoryjnych podwyższona aktywność aminotransferaz. Prawdopodobna wielkość wątroby i prawidłowa aktywność aminotransferaz nie wyklucza jednak stłuszczenia wątroby.

Stłuszczenie wątroby nie związane z nadużywaniem alkoholu określa się terminem NAFL (*nonalcoholic fatty liver*). Progresja procesu chorobowego z pojawieniem się zmian zapalnych z martwicą i włóknieniem prowadzi do zespołu NASH (*nonalcoholic steatohepatitis*). NAFL i NASH określa się też wspólnym terminem NAFLD (*nonalcoholic fatty liver disease*) [8]. NASH często występuje u chorych otyłych, w cukrzycy typu 2, w dyslipidemiach, w zespole policystycznych jajników. Kluczową rolę w etiologii NASH odgrywa oporność na insulinę z hiperinsulinizmem i hiperглиkemią [9,10]. W badaniu histologicznym biopsjatu wątroby stwierdza się stłuszczenie wielokropelkowe, zwyrodnienie balonowate hepatocytów, nacieki zapalne z leukocytów i monocytołów, włóknienie okołozatokowe lub okołokomórkowe szczególnie nasilone w 3 strefie gronka, mogą być też obecne ciała szkliste Mallory'ego [11].

W rozwoju zespołu NASH wyróżnić można dwa etapy. Pierwszy to gromadzenie tłuszczów w wątrobie. Tłuszcze *per se* nie wykazują właściwości toksycznych i stanowią źródło szybko uwalnianej energii. Ich akumulacja w wątrobie nie jest jednak obojętna. Zwiększają podatność wątroby na endotoksyny i skutki niedokrwienia narządu, zaburzają procesy regeneracji i są przyczyną insulinooporności [8,12]. Wolne kwasy tłuszczowe metabolizowane są w hepatocytach w procesach peroksydacji lub mitochondrialnej -oksydacji lub gromadzone w postaci trójglicerydów. Insulinooporność nasila lipolizę w tkankach tłuszczowych, zwiększa syntezę wolnych kwasów tłuszczowych w wątrobie, zwiększa lipogenezę w wątrobie i poza nią [13]. Zaburzeniu ulega synteza apolipoprotein w wątrobie prowadząc do zmniejszenia syntezy VLDL (*very-low-density lipoprotein*) [14]. Akumulacja wolnych kwasów tłuszczowych w wątrobie nasila zarówno syntezę trójglicerydów jak i -oksydację prowadząc do wzrostu stężenia wolnych rodników i stresu oksydacyjnego. Skutki stresu oksydacyjnego stanowią drugi etap patologicznego procesu w stłuszczeniu wątroby [8]. Prozapalne cytokiny (interleukina 6, czynnik martwicy nowotworów [TNF – tumor necrosis factor], syntaza tlenu azotu), uwalniane z adipocytów i komórek Kupfera nasilają stres oksydacyjny [15]. Stres oksydacyjny zwiększa reakcję zapalną, a poprzez transformujący czynnik wzrostu (TGF – transforming growth factor) pobudza komórki gwiaździste do syntezy kolagenu i włóknienia. Stres oksydacyjny nasila proces apoptozy dodatkowo zwiększając uszkodzenie wątroby [8].

Etiopatogeneza stłuszczenia wątroby w przebiegu mukowiscydozy nie jest jednak identyczna z obserwowaną w zespole NASH odnoszącym się przede wszystkim do pacjentów otyłych i chorujących na cukrzycę typu 2. Negatywne skutki stresu oksydacyjnego prawdopodobnie również leżą u podłoża stłuszczenia wątroby w mukowiscydozie. Chorzy na mukowiscydozę nie są jednak otyli, przeciwnie często obserwuje się u nich niedożywienie. Prawdopodobnie więc inne czynniki, swoiste dla mukowiscydozy, przyczyniają się do stłuszczenia wątroby. Zmiany w składzie żółci ze zwiększeniem stężenia kwasów żółciowych hydrofobowych przyczyniają się, jak już wspomniano, do nasilenia stresu oksydacyjnego, a w konsekwencji do nasilenia zmian zapalnych z martwicą i włóknieniem okołowrotnym. Korzystny efekt leczenia stłuszczenia wątroby wysokimi dawkami preparatami kwasu ursodezoksycholowego u pacjentów mukowiscydozą, a także ze stwardniającym zapaleniem dróg żółciowych, przemawia za tą hipotezą [16,17]. Leczenie pacjentów dorosłych z zespołem NASH standardowymi dawkami kwasu ursodezoksycholowego (13–15 mg/kg/dobę) przez 2 lata nie przyniosło jednak poprawy w ocenie histologicznej i laboratoryjnej [18]. Wysokie dawki kwasu ursodezoksycholowego nie przyniosły też poprawy u chorych z pierwotną żółciową marskością wątroby [19].

W poszukiwaniu czynników odpowiedzialnych za stłuszczenie wątroby w mukowiscydozie bierze się też pod uwagę niedobór karnityny. Karnityna (3-hydroksy-4-N-trimetyloamonio-maślan) niezbędna jest do transportu mitochondrialnego długołańcuchowych kwasów tłuszczowych w wątrobie oraz wszystkich kwasów tłuszczowych w mięśniach szkieletowych i w mięśniu sercowym. Proces β -oksydacji długołańcuchowych kwasów tłuszczowych odbywa się przede wszystkim w peroksydach. Produkty utleniania, po związaniu z karnitiną (acylokarnitiną), transportowane są do mitochondriów [20]. Do klinicznych objawów niedoboru karnityny należą: zabu-

zenia czynności serca, mięśni szkieletowych i stłuszczenie wątroby. W badaniach laboratoryjnych obserwuje się hipoglikemię i hiperamonemię. Suplementacja karnityną przeciwdziała negatywnym skutkom stresu oksydacyjnego i redukcyjnego (zaburzenie stosunku NADH/NAD⁺) [20]. Karnityna hamuje peroksydację lipidów poprzez zmniejszenie syntezy oksydazy ksantynowej, zwiększa natomiast syntezę dysmutazy ponadtlenkowej (zmiatacza wolnych rodników tlenowych) [20]. Przyczyną niedoboru karnityny mogą być stany zwiększające zapotrzebowanie na ten związek, zaburzenia wchłaniania jelitowego i wiele innych. Wymienione powyżej czynniki występują właśnie w mukowiscydozie. U chorych tych obserwujemy zwiększoną pracę mięśni oddechowych i zaburzenia wchłaniania. Woś i wsp. stwierdzili niedobór karnityny u dzieci w wieku od 8 do 18 lat z mukowiscydozą [21]. Treem opisał niemowlę z niedoborem karnityny, wg autora wtórnym, spowodowanym nadmierną utratą karnityny z moczem w wyniku uszkodzenia cewek nerkowych w przebiegu niedoboru witaminy D i wtórnej nadczynności przytarczyc [22]. Hepatomegalię z hipertransaminazemią opisał Ishida u wcześniaka karmionego odżywką wzbogaconą w średniołańcuchowe kwasy tłuszczowe (MCT stanowiły 76,8% tłuszczów) [23]. O możliwości wystąpienia takiego powikłania należy pamiętać, albowiem preparaty wzbogacone w MCT stosuje się u niemowląt z cholestazą, również w przebiegu mukowiscydozy. Zazwyczaj jednak stosowane preparaty zawierają nie więcej niż 50% tłuszczów MCT, i w takim składzie nie stanowią zagrożenia dla pacjentów.

W mukowiscydozie obserwuje się niedobór niezbędnych wielonienasyconych kwasów tłuszczowych z obniżeniem stężenia kwasu linolenowego (n-6) i dokozaheksaenowego (n-3) z kompensacyjnym wzrostem stężenia kwasu eikozatetraenowego (n-9) [24]. Zaburzenia te obserwowano także u pacjentów z dobrym stanem odżywienia oraz u heterozygotycznych nosicieli mutacji CFTR. Sugeruje to, że powyższe zaburzenia lipidowe zależą nie od niedożywienia, ale od dysfunkcji białka CFTR [25–27]. Kwasy tłuszczowe odgrywają istotną rolę w integralności błon komórkowych.

Freedman i wsp. oznaczali stężenie niezbędnych kwasów tłuszczowych (linolenowego, arachidonowego, dokozaheksaenowego) w biopatach pobranych ze śluzówki nosa i odbytnicy, w zeskrabinach z nosa oraz w osoczu u chorych na mukowiscydozę oraz dla porównania u nosicieli mutacji CFTR, chorych na nieswoiste zapalenie jelit, pacjentów z zakażeniami górnych dróg oddechowych, chorych na astmę oskrzelową i u zdrowych [28]. U chorych na mukowiscydozę stwierdzono w biopatach pobranych ze śluzówki nosa istotne statystycznie obniżenie stężenia kwasu linolenowego i kwasu dokozaheksaenowego oraz wzrost stężenia kwasu arachidonowego, w porównaniu z kontrolną grupą zdrowych. W zeskrabinach śluzówki nosa autorzy stwierdzili najwyższą średnią wartość stosunku kwasu arachidonowego do dokozaheksaenowego u chorych na mukowiscydozę, a najniższą (nawet poniżej wartości dla grupy kontrolnej) u chorych na nieswoiste zapalenie jelit. Nosiciele mukowiscydozy wykazali średnią wartość tego stosunku pośrednią między chorymi na mukowiscydozę a zdrowymi. Wysokie wartości (pomiędzy stwierdzanymi w mukowiscydozie a heterozygotami mutacji CFTR) stwierdzono u chorych na astmę oskrzelową. Powyższe wyniki wskazują, że zaburzenia w zakresie metabolizmu i wchłaniania niezbędnych kwasów tłuszczowych zależą prawdopodobnie od dysfunkcji białka CFTR. Wskazuje na to fakt, że podwyższony stosunek kwasu arachidonowego do dokozaheksaeno-

wego stwierdzono również w podgrupie chorych na mukowiscydozę z zachowaną wydolnością trzustki (bez zaburzeń wchłaniania). Zaburzenia kwasów tłuszczowych stwierdzone u chorych na astmę autorzy tłumaczą dysfunkcją białka CFTR powodowaną mutacją M470V. Implikacje wynikające z powyższych zaburzeń w zakresie niezbędnych kwasów tłuszczowych nie są w pełni poznane. Niski poziom kwasu dokozaheksaenowego może odpowiadać za nadmierną reakcję zapalną. Kwas dokozaheksaenowy jest prekursorem dokozatrienów i rezolwin serii 17 S uczestniczących w zwalczaniu zapalenia [29,30]. Powyższe zaburzenia w metabolizmie kwasów tłuszczowych sprzyjają stanom zapalnym, w pośredni sposób mogą mieć też wpływ na rozwój stłuszczenia wątroby. Niedobór niezbędnych kwasów tłuszczowych wpływa też na pogorszenie czynności układu oddechowego [31].

Leczenie stłuszczenia wątroby w przebiegu mukowiscydozy

Postępowanie lecznicze w stłuszczeniu wątroby powinno przeciwdziałać wymienionym powyżej, prawdopodobnym czynnikom odpowiedzialnym za rozwój tego powikłania mukowiscydozy.

Istotnym elementem terapii jest poprawa stanu odżywienia. Uwzględnić należy zwiększone zapotrzebowanie energetyczne spowodowane zaburzeniami wchłaniania i trawienia, a także wzrostem spoczynkowego wydatku energetycznego. W przypadkach braku możliwości dostarczania odpowiedniej ilości pożywienia drogą doustną należy rozważyć wykonanie, metodą endoskopową, przesłonnej gastrostomii. Niezbędna jest suplementacja witaminami rozpuszczalnymi w tłuszczach, szczególnie u chorych z obecną cholestazą.

Kwas ursodezoksycholowy stosujemy u wszystkich pacjentów z powikłaniami wątrobowymi i żółciowymi w dawce od 15 do 40 mg/kg/dobę.

Należy zapobiegać niedoborom karnityny poprzez odpowiednią dietę. Bogate w karnitynę są mięsa wołowe i wieprzowe oraz nabiał, a najmniejszą zawartość mają warzywa i owoce [20]. Nie ma potrzeby suplementacji preparatami karnityny poza przypadkami, w których wykazemy jej niedobór.

W zapobieganiu skutkom stresu oksydacyjnego stosuje się witaminy E, C, preparaty selenu, beta karoten.

Niedobór wielonienasyconych kwasów tłuszczowych uzupełniać można olejem rybim będącym źródłem kwasów omega-3 (eikozapentaenowego i dokozaheksaenowego). Suplementacja olejem rybim zmniejsza produkcję prozapalnych metabolitów pochodzących z wielonienasyconych kwasów tłuszczowych omega-6 poprzez konkurencyjne działanie kwasu eikozapentaenowego z kwasem arachidonowym. Olej rybi wpływa też na poprawę czynności układu oddechowego [32].

W zapobieganiu stłuszczeniu wątroby jak i rozwojowi innych powikłań hepatologicznych mukowiscydozy kluczową rolę odgrywa ich wczesne rozpoznanie. Rozwój stłuszczenia wątroby może, we wczesnej fazie, przebiegać bezobjawowo. Z tego powodu, u wszystkich dzieci chorych na mukowiscydozę, konieczne jest przeprowadzanie co najmniej raz w roku badań ultrasonograficznych jamy brzusznej i podstawowych testów laboratoryjnych oceniających czynność wątroby.

1. Efrati O, Barak A, Modan-Moses D i wsp: Liver cirrhosis and portal hypertension in cystic fibrosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 2003; 15: 1073–78
2. Duthie A, Doherty DG, Williams C i wsp: Genotype analysis for delta F508, G551D and R553X mutations in children and young adults with cystic fibrosis with and without chronic liver disease. *Hepatology*, 1992; 15: 660–64
3. De Arce M, O'Brien S, Hegarty J i wsp: Deletion delta F508 and clinical expression of cystic fibrosis-related liver disease. *Clinical Genetics*, 1992; 42: 271–72
4. Augarten A, Kerem BS, Yahav Y i wsp: Mild cystic fibrosis and normal and borderline sweat test in patients with the 3849 + 10kb C->T.Mutation. *Lancet*, 1993; 342: 25–26
5. Teisseyre M, Oralewska B, Teisseyre J i wsp: Problemy terapeutyczne u dzieci z nadciśnieniem wrotnym w przebiegu mukowiscydozy. *Ped Pol*, 1998; 73: 171–76
6. Cohn JA, Strong TV, Piccioto MR i wsp: Localization of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator in human bile duct epithelial cells. *Gastroenterology*, 1993; 105: 1857–64
7. Colombo C, Crosignani A, Battezzati PM: Liver involvement in cystic fibrosis. *J Hepatol*, 1999; 31: 946–54
8. Jansen PLM: Nonalcoholic steatohepatitis. *Neth J Med*, 2004; 62: 217–24
9. Chitturi S, Abeygunasekera S, Farrell GC i wsp: NASH and insulin resistance: Insulin hypersecretion and specific association with the insulin resistance syndrome. *Hepatology*, 2002; 35: 373–79
10. Pagano C, Pacini G, Musso G i wsp: Nonalcoholic steatohepatitis, insulin resistance, and metabolic syndrome: further evidence for an etiologic association. *Hepatology*, 2002; 35: 367–72
11. Brunt EM, Ramrakhiani S, Cordes BG i wsp: Concurrence of histologic features of steatohepatitis with other forms of chronic liver disease. *Mod Pathol*, 2003; 16: 49–56
12. Boer M den, Voshol PJ, Kuipers F i wsp: Hepatic steatosis: a mediator of the metabolic syndrome. Lessons from animal models. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004; 24: 644–49
13. Kotzka J, Muller-Wieland D: Sterol regulatory element-binding protein (SREBP)-1: gene regulatory target for insulin resistance? *Expert Opin Ther Targets*, 2004; 8: 141–49
14. Charlton M, Sreekumar R, Rasmussen D i wsp: Apolipoprotein synthesis in nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*, 2002; 35: 898–904
15. Weisberg SP, McCann D, Desai M i wsp: Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest*, 2003; 112: 1796–808
16. Harnois D, Angulo P, Jorgensen RA i wsp: High-dose ursodeoxycholic acid as a therapy for patients with primary sclerosing cholangitis. *Am J Gastroenterol*, 2001; 96: 1558–62
17. Colombo C, Crosignani A, Assaisso M i wsp: Ursodeoxycholic acid therapy in cystic fibrosis-associated liver disease: A dose-response study. *Hepatology*, 1992; 16: 924–30
18. Lindor KD, Kowdley KV, Heathcote EJ i wsp: Ursodeoxycholic acid for treatment of nonalcoholic steatohepatitis: results of randomized trial. *Hepatology*, 2004; 39: 770–78
19. Angulo P, Dickson ER, Therau TM i wsp: Comparison of three doses of ursodeoxycholic acid in the treatment of primary biliary cirrhosis: a randomized trial. *J Hepatol*, 1999; 30: 830–35
20. Czech E, Hartleb M: Poglądy na funkcje metaboliczne karnityny po stu latach od jej odkrycia. *Żyw Człow Metab*, 2005; 32: 262–75
21. Woś H, Pawlik J, Pogorzelski A i wsp: Stężenie karnityn w surowicy krwi u dzieci z mukowiscydozą. *Ped Współ Gastroenterol, Hepatol, Żyw Dz*, 2002; 4: 161–65
22. Treem WR, Stanley CA: Massive hepatomegaly, steatosis, and secondary plasma carnitine deficiency in an infant with cystic fibrosis. *Pediatrics*, 1989; 83: 993–97
23. Ishida A, Goto A, Takahashi Y i wsp: A preterm infant with secondary carnitine deficiency due to MCT formula-effective treatment of L-carnitine. *Tohoku J Exp Med*, 1994; 172: 59–64
24. Farrell PM, Mischler EH, Engle MJ i wsp: Fatty acid abnormalities in cystic fibrosis. *Pediatr Res*, 1985; 19: 104–9
25. Roulet M, Frascarolo P, Rappaz I, Pilet M: Essential fatty acid deficiency in well nourished young cystic fibrosis patients. *Eur J Pediatr*, 1997; 156: 952–56
26. Strandvik B, Gronowitz E, Enlund F i wsp: Essential fatty acid deficiency in relation to genotype in patients with cystic fibrosis. *J Pediatr*, 2001; 139: 650–55
27. Christophe AB, Warwick WJ, Holman RT: Serum fatty acid profiles in cystic fibrosis patients and their parents. *Lipids*, 1994; 29: 569–75
28. Freedman SD, Blanco PG, Zaman MM et al: Association of cystic fibrosis with abnormalities in fatty acid metabolism. *New Eng J Med*, 2004; 350: 560–69
29. Hong S, Gronert K, Devchand PR i wsp: Novel docosatrienes and 17S-resolvins generated from docosahexaenoic acid in murine brain, human blood, and glial cells: autacoids in anti-inflammation. *J Biol Chem*, 2003; 278: 14677–87
30. Serhan CN, Hong S, Gronert K i wsp: Resolvins: a family of bioactive products of omega-3 fatty acid transformation circuits initiated by aspirin treatment that counter proinflammation signals. *J Exp Med*, 2002; 196: 1025–37
31. Lloyd-Still JD, Bibus DM, Powers CA i wsp: Essential fatty acid deficiency and predisposition to lung disease in cystic fibrosis. *Acta Pediatr*, 1996; 85: 1426–32
32. Panchaud A, Sauty A, Kernan Y i wsp: Biological effects of a dietary omega-3 polyunsaturated fatty acids supplementation in cystic fibrosis patients: A randomised, crossover placebo-controlled trial. *Clin Nutr*, 2006; 25: 418–27

Udział niedoboru glikozylacji w patologii wątroby na przykładzie wrodzonych zaburzeń glikozylacji (CDG), galaktozemii i fruktozemii

The contribution of glycosylation deficiency to liver pathology – an example of congenital disorders of glycosylation (CDG), galactosemia and fructosemia

Maciej Adamowicz¹, Piotr Socha²

¹ Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej, Instytut „Pomnik Centrum Zdrowia Dziecka” w Warszawie

² Klinika Gastroenterologii, Hepatologii i Immunologii, Instytut „Pomnik Centrum Zdrowia Dziecka” w Warszawie

Summary: Glycosylation is a common modification of proteins. Sugar glycans attached to protein by N- or O-glycoside bond are responsible for many important functions of plasma, cell membrane, connective tissue and other glycoproteins. Deficit of glycosylation characterizes the group of inborn errors of metabolism named congenital disorders of glycosylation (CDG). The defects of N-glycan biosynthesis localized in different subcellular compartments within the group of 21 CDG variants, constitute the basis of complex clinical picture with prevalence of multiorgan symptoms and abnormalities of numerous laboratory parameters. The diagnosis of CDG on clinical basis is difficult due to the extreme heterogeneity of phenotypes. The biochemical hall-mark of CDG is the abnormal pattern of transferrin isoforms routinely determined in lab by isoelectric focusing (IEF) method. Deficiency of transferrin glycosylation was observed also in other inborn errors of sugar metabolism, galactosemia and hereditary fructose intolerance. Hypoglycosylation of transferrin in these diseases is transient, depends of the toxic sugars in the diet and disappears during dietary treatment. Liver disease constitutes an important part of the complex phenotypes of CDG, galactosemia and fructosemia.

Słowa kluczowe: glikozylacja • wrodzone zaburzenia glikozylacji • galaktozemia • fruktozemia • izoformy transferyny • choroba wątroby

Key words: glycosylation • congenital disorders of glycosylation • galactosemia • fructosemia • transferrin isoforms • liver disease

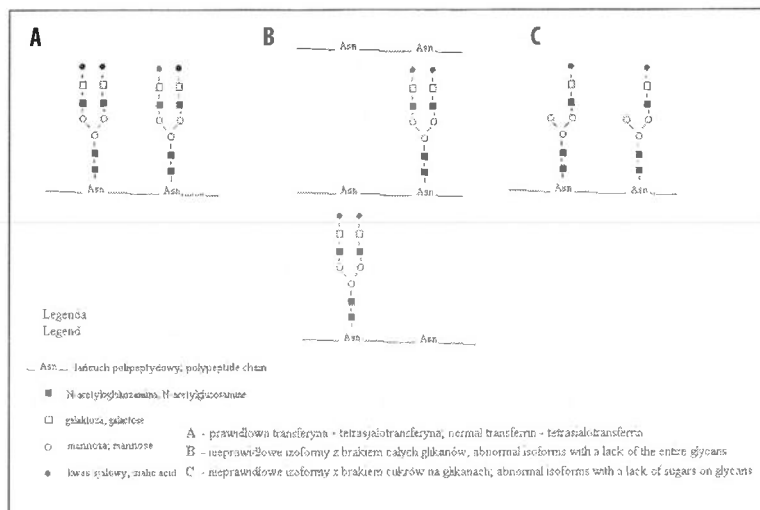
Skróty: CDG – wrodzone zaburzenia glikozylacji; LLO – pierwotny oligosacharyd związany z nośnikiem lipidowym; OST – transferaza oligosacharydowa; %CDT – transferyna z niedoborem węglowodanów; PMM – fosfomannomutaza; PMI – izomeraza fosfomannozowa, IEF – elektroogniskowanie.

Adres do korespondencji: Maciej Adamowicz, Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej Instytut „Pomnik Centrum Zdrowia Dziecka, Al. Dzieci Polskich 20, 04-730 Warszawa, Polska, e-mail: Adamowicz@wp.pl

Wstęp

Glikozylacja jest najczęściej występującą potranslacyjną modyfikacją białek. Większość białek organizmu to w istocie glikoproteiny złożone z części polipeptydowej i oligosacharydowych glikanów. Glikany są przyłączone do reszt apara-

giny polipeptydu wiązaniem N-glikozydowym albo do seryn lub treonin wiązaniem O-glikozydowym. N-glikany złożone są głównie z N-acetylglukozaminy, mannozy, galaktozy, fukozy i kwasu sjałowego. Ich synteza obejmuje kilka etapów zlokalizowanych w cytoplazmie, retikulum endoplazmatycznym (ER) i aparacie Golgiego. W procesie glikozylacji pod-



Rycina 1. Schemat transferyny prawidłowej (A) oraz transferyny z obniżoną glikozylacją, w pierwszym (B) i drugim typie CDG (C).

stawowej na fosforanie dolicholu zakotwiczonym w błonie ER syntetyzowany jest pierwotny czternastocukrowy oligosacharyd (LLO) złożony z dwóch reszt N-acetyloglukozaminy, dziewięciu mannoz i trzech glukozy. LLO jest przenoszony *en bloc* przez enzymatyczny kompleks transferazy oligosacharydowej (OST) na nowopowstający polipeptyd. Następnie glikoproteina poprzez transport pęcherzykowy przechodzi do aparatu Golgiego. Jeszcze w obrębie ER a następnie w aparacie Golgiego glikany podlegają procesowi glikozylacji końcowej. Polega ona na usuwaniu końcowych reszt glukozy, części mannoz oraz dodawaniu nowych cukrów, N-acetyloglukozaminy, galaktozy, fukozy i kwasu sjałowego. W taki sposób zmodyfikowane N-glikoproteiny, z glikanami o różnej długości i różnym stopniu rozgałęzienia ale wspólnej strukturze rdzenia złożonego z dwóch reszt N-acetyloglukozaminy i trzech mannoz, są kierowane do swoich miejsc przeznaczenia w komórce albo poza komórkę [1]. Synteza O-glikanów jest mniej skomplikowana, odbywa się w obrębie aparatu Golgiego i polega na sukcesywnym przyłączaniu do polipeptydu kolejnych cukrów, N-acetylogalaktozaminy, N-acetyloglukozaminy, galaktozy, fukozy i kwasu sjałowego [2].

Glikozylacja jest powszechnie występującą modyfikacją białek a jej biologiczna rola jest niezwykle istotna w procesach rozwoju, wzrostu i funkcji organizmu. Glikany umożliwiają prawidłowe fałdowanie cząsteczek białka w obrębie ER, kierują glikoproteiny do właściwych przedziałów komórkowych albo poza komórkę, w krążeniu zabezpieczają glikoproteiny przed proteolizą i decydują o czasie ich eliminacji przez wątrobę. Biorą również udział w utrzymywaniu struktury i integralności tkanek, odpowiadają za procesy rozpoznawania komórka – komórka i komórka – substancja podstawowa oraz modulują aktywności wielu aktywnych glikoprotein jak enzymy, receptory błonowe, transportery, czynniki wzrostu i hormony [3]. Eksperymentalne zablokowanie N-glikozylacji u zwierząt laboratoryjnych jest letalne na wczesnych etapach życia płodowego [4].

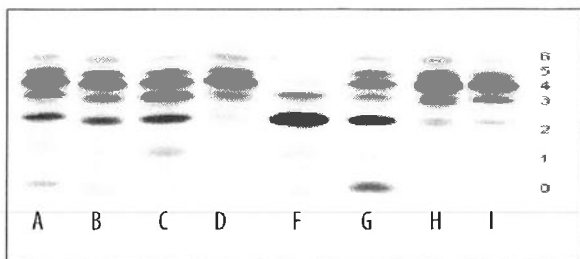
Wydaje się oczywiste, że niedobory glikozylacji białek mogą zaburzać funkcję wielu narządów i tkanek stanowiąc podłoże złożonej symptomatologii klinicznej i patologii narządowej.

Niedobór N-glikozylacji charakteryzuje grupę uwarunkowanych genetycznie wad metabolizmu nazywanych wrodzonymi zaburzeniami glikozylacji (CDG). Defekty zlokalizowane na różnych etapach syntezy glikanów obniżają glikozylację glikoprotein zmieniając ich strukturę i zaburzając funkcję. Wyodrębnione w ostatnich latach warianty CDG różnią się lokalizacją defektu w obrębie komórki, symptomatologią kliniczną i patologią narządową. Typ I CDG z trzynastoma podtypami (CDG-Ia – CDG-IL) obejmuje defekty syntezy pierwotnego oligosacharydu (LLO) zlokalizowane w cytoplazmie i retikulum endoplazmatycznym. Do typu II, z ośmioma podtypami (CDG-IIa,b,c,d,f, COG1,7,8), zaliczane są defekty glikozylacji terminalnej zlokalizowane w ER i aparacie Golgiego oraz defekty wewnątrzkomórkowego transportu glikoprotein zaburzające również O-glikozylację. Niedobory glikozylacji o nieustalonej przyczynie są klasyfikowane jako CDG-x [5–7].

Rozpoznawanie CDG na podstawie obrazu klinicznego jest trudne a nawet niemożliwe z powodu dużego zróżnicowania fenotypów. W większości podtypów występują objawy neurologiczne i dysmorfia w połączeniu z mniej lub bardziej nasilonymi objawami narządowymi. Markerem biochemicznym większości wariantów CDG są nieprawidłowe izoformy transferyny oznaczane metodą elektroogniskowania (IEF). Profil nieprawidłowych izoform umożliwia wstępną klasyfikację wykrytych przypadków. Podwyższenie frakcji asjało- i disjałotransferyny, oceniane ilościowo jako %CDT [1]¹⁾, wskazuje na brak całych glikanów na transferynie, dwóch albo jednego. Jest to charakterystyczne dla defektów wczesnych etapów N-glikozylacji. Wzory izoform z podwyższeniem frakcji trisjało- i monosjałotransferyny odpowiadają niedoborowi końcowych cukrów na glikanie sugerując defekty glikozylacji terminalnej [8,9] (Rycina 1,2).

Obniżenie glikozylacji transferyny występuje również w innych wrodzonych wadach metabolizmu cukrów, w galaktozemii i fruktozemia. Hipoglikozylacja transferyny w tych chorobach jest przejściowa i ustępuje w trakcie leczenia odpowiednimi dietami eliminacyjnymi [10–14]. Obniżenie glikozylacji transferyny występuje także w alkoholizmie. W chorobie alkoholowej hipoglikozylacja transferyny, o dużo

¹⁾ %CDT – ang. carbohydrate-deficient transferrin jest sumą procentowych udziałów we wzorze izoform frakcji asjało-, monosjało i disjałotransferyny. Służy wyłącznie do oceny hipoglikozylacji w I typie CDG



Rycina 2. Wzory izoform transferyny w IEF: D, H, I – prawidłowe izoformy, A, B, G – nieprawidłowe izoformy w typie I CDG, C, F – nieprawidłowe izoformy w typie II CDG. 0–6 – izoformy od asjalo- do heksasjalotransferyny.

mniejszym nasileniu niż w CDG, jest przejściowa i ustępuje po dwutygodniowej abstinencji [9].

W wielu wariantach CDG oraz w galaktozemii i fruktozemii zaburzenie funkcji wątroby o zróżnicowanym nasileniu stanowi ważny komponent wielonarządowej patologii.

W pracy ograniczymy się do omówienia najczęściej wykrywanych podtypów CDG, rzadkich wariantów przebiegających z objawami ze strony układu pokarmowego, zaburzeń glikozylacji o nieustalonej przyczynie (CDG-x) z przewagą objawów ze strony wątroby oraz galaktozemii i fruktozemii.

Deficyt mutazy fosfomannozowej (deficyt PMM, CDG-Ia, OMIM 212065)

Enzym katalizuje w cytozolu reakcję przemiany Man-6-P do Man-1-P. Jego niedobór obniża stężenie GDP-mannozy zaburzając syntezę pierwotnego oligosacharydu. Nieprawidłowe, krótsze LLO, są złym substratem dla OST co powoduje, że nie wszystkie asparaginy polipeptydu są glikozylovane. W efekcie glikoproteiny są pozbawione całych glikanów. W elektroogniskowaniu transferyny obserwuje się podwyższenie frakcji asjalotransferyny (izoforma transferyny bez dwóch glikanów) i frakcji disjalotransferyny (izoforma z jednym glikanem) (Rycina 2).

Deficyt PMM, z ponad 500 przypadkami, jest najczęściej rozpoznawanym wrodzonym zaburzeniem glikozylacji, głównie w krajach europejskich [8,15–18]. Symptomatologia choroby jest zróżnicowana i zależy od wieku pacjentów. W okresie noworodkowym i niemowlęcym występują często zagrażające życiu, objawy ze strony wielu układów. W okresie dziecięcym i młodzieńczym przeważa ataksja w wyniku atrofii mózdzku i neuropatia obwodowa z zanikiem mięśni kończyn dolnych oraz upośledzenie rozwoju ruchowego i intelektualnego. Okres wieku dorosłego charakteryzuje trwałe inwalidztwo z utraconą ataksją, niedobór wzrostu, zmniejszenia kości i hipogonadyzm u kobiet.

Większość dzieci rodzi się o czasie, po ciąży bez powikłań i normalnym porodzie. Ocena w skali Apgar jest zadowalająca, masa ciała jest zwykle w normie jednak u wszystkich noworodków występuje wiotkość tułowia. U części pacjentów obserwuje się zmiany w rozłożeniu tłuszczu w tkance podskórnej, wklęsłe sutki oraz dysmorfie w postaci wydatnej żuchwy i dużych, nisko osadzonych dysplastycznych uszu. W okresie niemowlęcym dominuje zahamowanie wzrostu, wiotkość, zaburzenie fiksacji wzroku, oczopląs i zez [19,20]. U blisko połowy dzieci w tym okresie przeważają objawy narządowe.

Pacjenci, przed postawieniem rozpoznania byli kierowani do kliniki pediatrycznej z powodu biegunki, wymiotów, trudności z karmieniem, zahamowania rozwoju z niedoborem masy ciała i wzrostu, zapalenia osierdzia, tubulopatii, zespołu nerczycowego, enteropatii z utratą białka oraz niewydolności wątroby z hepatomegalią. Śmiertelność w grupie dzieci z objawami narządowymi wynosiła 50% [16]. U wszystkich pacjentów, obserwowano nieprawidłowe parametry krzepnięcia, głównie przedłużony APTT, obniżoną aktywność czynnika XI, AT III, białka C i białka S. Koagulopatia rzadko prowadziła do zakrzepicy albo krwawień. U wszystkich dzieci podwyższone były aminotransferazy. Ich aktywności przekraczały 2–30-krotnie zakresy wartości referencyjnych, były wysokie w okresie noworodkowym i niemowlęcym, normalizowały się w 5–7 roku życia i osiągały najwyższe wartości podczas epizodów gorączkowych. U większości dzieci nie obserwowano cech cholestazy. U wszystkich pacjentów z wielonarządową postacią choroby występowało powiększenie wątroby. W postaci neurologicznej hepatomegalię obserwowano tylko u części pacjentów. W badaniach biopsyjnych wątroby przeprowadzonych u dzieci w różnym wieku obserwowano zmiany histologiczne o zróżnicowanym stopniu nasilenia w postaci zapalenia okołotrotnego z obecnością komórek jednojądrzastych, zwłóknienia, stłuszczenia, zwłóknienia z towarzyszącym stłuszczeniem a także zwłóknienia z cechami marskiej przebudowy narządu [16,21–23]. Zmiany te nie postępowały i w żadnym przypadku nie prowadziły do pełnego obrazu marskości wątroby. Obraz w mikroskopie elektronowym był bardziej charakterystyczny a nieprawidłowości występowały głównie w obrębie lizosomów hepatocytów. Lizosomy zawierały blaszkowato-błoniaste wtręty definiowane jako ciała mieloidalne albo mielinosomy (*myeloid body*, *myelinosomes*), podobne do struktur obserwowanych w chorobie Niemann-Picka typu C [21,24–26]. Tego rodzaju zmiany występowały również w innych defektach wczesnych etapów N-glikozylacji (CDG-Ic, If i Ix), nie były obecne w fibroblastach ani nie występowały w CDG typu II [25,26].

Stalą cechą biochemiczną deficytu PMM jest obecność nieprawidłowych izoform wielu glikoprotein surowicy. Poza transferyną, dotyczy to również α 1-antytrypsyny, α 1-kwaśnej glikoproteiny, ceruloplazminy, α 1-antychymotrypsyny, ferrytyny, składników dopełniacza, ATIII i TBG. Obniżonej glikozylacji glikoprotein często towarzyszy ich obniżony poziom w surowicy. Niektóre glikoproteiny surowicy wykazują podwyższone stężenia. Do tej grupy należą hormony przysadki, TSH, FSH, oraz enzymy lizosomalne [19,27]. W wielu przypadkach obserwowano obniżony poziom albuminy, która nie jest glikoproteiną. Hipoalbuminemia nie była związana z biegunką, enteropatią sekrecyjną, zespołem nerczycowym czy obrzękami. Innymi nieprawidłowościami biochemicznymi to obniżone poziomy metali (Cu, Fe, Zn), lipidów i lipoprotein (cholesterol, apoB) oraz podwyższone stężenia, insuliny bez hipoglikemii i hormonu wzrostu z niedoborem wzrostu [19]. Wartości %CDT pozostawały w szerokim zakresie przekraczając 5–11 razy zakres normy i korelowały z ciężkością przebiegu choroby [12].

Deficyt izomerazy fosfomannozowej (deficyt PMI, CDG-Ib, OMIM 602579)

Izomeraza jest enzymem cytoplazmatycznego szlaku syntezy GDP-mannozy. Enzym bezpośrednio poprzedza PMM i katalizuje konwersję fruktozo-6-P do mannozo-6-P. Man-6-

P może być syntetyzowany nie tylko z substratów szlaku glikolizy ale także przez bezpośrednią fosforylację egzogennej mannozy. Omijanie bloku metabolicznego poprzez podawanie pacjentom mannozy stanowi podstawę leczenia choroby [28–30].

Deficyt PMI jest chorobą rzadko rozpoznawaną. Od czasu wykrycia pierwszych przypadków w 1998 roku opisano zaledwie 20 pacjentów z niedoborem enzymu, ale wydaje się, że choroba nie jest rozpoznawana ze względu na niespecyficzne objawy kliniczne [28,31–33].

Obraz kliniczny CDG Ib jest zróżnicowany. Choroba może przebiegać łagodnie i ustępować samoistnie nawet bez leczenia mannozą a jedynymi objawami są powtarzające się w okresie niemowlęcym i w dzieciństwie wymioty i biegunka prowadzące do odwodnień. W większości przypadków o łagodnym przebiegu wątroba jest powiększona. Podwyższona, w różnym stopniu, jest aktywność aminotransferaz a ich poziom znacząco wzrasta podczas towarzyszących chorób infekcyjnych [31,33]. Obraz kliniczny deficytu PMI u pacjentki opisanej przez autorów francuskich dominowała, widoczna od 3-ego roku życia, hepatomegalia z prawidłową aktywnością aminotransferaz, której towarzyszyła hipoglikemia z podwyższonym poziomem insuliny [34]. Hipoglikemia obserwowana również u innych pacjentów odpowiadała na glukagon a poziom insuliny obniżał się w trakcie leczenia diazoksydem [16,34,35]. Ciężki przebieg choroby, prowadzący nawet do zgonów w wieku od 4 miesięcy do 6 lat pacjentów nie leczonych mannozą, charakteryzowały: niedobór masy ciała i wzrostu biegunka sekrecyjna nie poddają się leczeniu, wymioty, enteropatia z utratą białka i wodobrzusze, hepatomegalia z wysoką aktywnością aminotransferaz, hipoglikemia z podwyższonym poziomem insuliny oraz zaburzenia krzepnięcia z zakrzepicą i krwotokami o różnej lokalizacji z niską aktywnością czynników krzepnięcia, ATIII, białka S i białka C. [16,28,33,35–37]. U pacjentów z ciężkim przebiegiem choroby w wątrobie stwierdzano zwłóknienie, stłuszczenie oraz cechy marskiej przebudowy narządu [16]. W lżejszych przypadkach obraz histologiczny przypominał wrodzone zwłóknienie z obecnością przebudowy i proliferacji przewodów żółciowych (*ductal plate malformation*), ale tylko z nieznacznym rozrostem tkanki łącznej w obrębie dróg wrotno-żółciowych. Obserwowano również stłuszczenie oraz ogniska powielonych przewodów żółciowych przypominających kompleksy Meyenburga (zmiany hamartomatyczne obserwowane w torbielowatości wątroby) [23,33]. W mikroskopie elektronowym, podobnie jak w deficycie PMM, w lizosomach hepatocytów widoczne były błoniasto-błaskowate wtręty [21,29]. Badania biopsyjne i/albo autopsyjne jelita cienkiego i okrężnicy pacjentów o ciężkim przebiegu choroby wykazywały zanik kosmków jelitowych sugerujący celiakię, torbielowate rozdzęcie krypt z zanikiem albo całkowitym brakiem nabłonka błony śluzowej, naciek zapalny oraz poszerzenie naczyń chłonnych błony śluzowej [28,29,33,37]. W enterocytach, w mikroskopie elektronowym, obserwowano w obrębie poszerzonego retikulum endoplazmatycznego złogi o wyglądzie pęczków rurek, które uznano za precypitat nieprawidłowych glikoprotein [32]. Część pacjentów jest skutecznie leczona doustnie podawaną mannozą w dawkach 100–200 mg/kg 3–6 × dziennie. Objawy kliniczne ustępowały już po kilku tygodniach leczenia a po kilku miesiącach normalizowała się większość parametrów biochemicznych [29,30,33].

Deficyt alfa 1,3 glukozylotransferazy (hALG6, CDG-Ic, OMIM 603147)

Glukozylotransferaza przenosi pierwszą resztę glukozy na LLO w świetle ER. Niedobór enzymu prowadzi do syntezy nieprawidłowych LLO pozbawionych trzech reszt glukozy. Nieprawidłowe LLO są suboptymalnym substratem dla OST co prowadzi do niedoboru całych N-glikanów na białku [38].

Rozpoznano ponad trzydzieści przypadków deficytu glukozylotransferazy. Choroba z przewagą objawów neurologicznych przypomina CDG-Ia, ale u większości pacjentów ma łagodniejszy przebieg. Przeważa opóźnienie rozwoju psychoruchowego, hipotonia mięśniowa oraz epizody drgawek. U części noworodków widoczna jest nieznaczna dysmorfia twarzy: szeroka nasada nosa, wysokie czoło i duże, nisko osadzone uszy. Nie obserwowano typowych dla CDG-Ia zmian w tkance tłuszczowej. Niemowlęta wykazywały trudności z karmieniem, u wszystkich występował zez zbieżny, u części podwyższone były aminotransferazy, szczególnie podczas infekcji, z wartościami AST do 2000 U/L i ALT do 500. U większości pacjentów nie obserwowano neuropatii obwodowej, zmian w siatkówce, zaniku mózdzku, powiększenia wątroby i innych zaburzeń narządowych [39]. W kilku przypadkach choroba miała ciężki przebieg prowadząc do zgonu z powodu zaburzeń krzepnięcia i nie poddającym się leczeniu napadom padaczkowym [40]. Choroba może mieć również przebieg nietypowy. Pierwszym objawem u trojga niemowląt była nawracająca enteropatia z utratą białka występująca po epizodach nieżytu żołądkowo-jelitowego [21,41]. Badanie histologiczne biopsji jelita cienkiego wykazało brak siarczanu heparanu na boczno-podstawnej powierzchni enterocytów. Zmiany ograniczone były wyłącznie do jelita cienkiego i nie występowały w okrężnicy, żołądku i przełyku. Autorzy opisu wskazują na niedobór proteoglikanów z siarczanem heparanu na błonach enterocytów jelita cienkiego pacjenta jako na bezpośrednią przyczynę enteropatii [41].

Deficyt α 1,3-glukozylotransferazy (ALG 8, CDG-Ih, OMIM 608104)

Glukozylotransferaza dodaje drugą resztę glukozy do LLO w świetle ER. Niedobór enzymu, prowadzi do syntezy mniejszych LLO, które nieefektywnie glikozylują białko [42].

Opisano zaledwie czterech pacjentów z deficytem enzymu. Obraz kliniczny charakteryzuje brak objawów ze strony układu nerwowego, dysmorfia, zaburzenia układu sercowo-naczyniowego z obrzękami i zaburzeniami elektrolitowymi oraz objawy wątrobowo-jelitowe z enteropatią z utratą białka przypominające CDG-Ib. Z czworga dzieci, troje zmarło w wieku kilku dni albo miesięcy z powodu niewydolności oddechowo-krążeniowej z zaburzeniami gospodarki elektrolitowej i uogólnionymi obrzękami. Badanie sekcyjne przeprowadzone u dziecka w wieku 3 miesięcy wykazało niedorozwój płuc, torbielowate poszerzenie zewnątrz- i wewnątrz-wątrobowych przewodów żółciowych, cechy cholestazy oraz obecność mikrocyst w nerkach. Pomocne w różnicowaniu z CDG-Ib mogą być cechy dysmorfii, występujące w różnych konstelacjach jak: wysokie czoło i/albo asymetryczna czaszka, szpary powiekowe skierowane do dołu, nisko osadzone uszy, hiperteloryzm, krótka szyja, duże, niezarośnięte ciemniaczko, wnetrostwo, kampaodaktylia i nieprawidłowa budowa stóp. U wszystkich dzieci stwierdzono hipalbuminemię, obniżo-

na aktywność czynników krzepnięcia, anemię i zaburzenia elektrolitowe. U trojga dzieci obserwowano trombocytopenię, u dwójga obniżony poziom T4 a u jednego obniżone poziomy TBG, ceruloplazminy i α 1-antytrypsyny. Próby leczenia choroby mannozą nie powiodły się [42,43].

Wrodzone zaburzenia glikozylacji o nieustalonej przyczynie (CDGx)

Liczba przypadków z dobrze udokumentowanym biochemicznym zaburzeniem glikozylacji ale o nieustalonej przyczynie stale rośnie i tylko mała ich część jest publikowana. Pacjenci zgodnie z obowiązującą nomenklaturą, na podstawie analizy struktury transferyny, zaliczani są do I albo II typu CDG (CDG-Ix, CDG-IIx) (5). Pacjenci, u których hipoglikozylacji transferyny towarzyszy obniżenie O-glikozylacji oceniane na podstawie analizy wzoru izoform apolipoproteiny C-III, są klasyfikowani jako złożony defekt glikozylacji [44].

Fenotyp tej grupy chorych jest ogromnie zróżnicowany. Obejmuje objawy, odchylenia i nieprawidłowości opiswane w już znanych defektach glikozylacji, nowe, nieopisane prezentacje kliniczne a uszkodzenie wątroby stanowi ważny jego składnik. Poniżej przedstawiamy kilka przykładów zaburzeń glikozylacji o nieustalonej przyczynie z przewagą cech uszkodzenia wątroby.

Menton i współpracownicy opisali pacjenta z przewlekłą biegunką sekrecyjną w okresie noworodkowym, cechami dysmorfii, hipotonią, hepatosplenomegalią, trombocytopenią i nieprawidłowymi parametrami układu krzepnięcia. Pacjent zmarł w wieku 2 lat z powodu niewydolności wątroby. Izoformy transferyny sugerowały rozpoznanie typu I CDG [45].

Autorzy pracy we własnym materiale obserwowali złożony defekt N- i O-glikozylacji u 12 letniego chłopca z fenotypem klinicznym i biochemicznym naśladującym wczesną wątrobową postać choroby Wilsona. Na rozpoznanie wskazywały cechy przewlekłego zapalenia wątroby, nieprawidłowe parametry metabolizmu miedzi, niski poziom ceruloplazminy i Cu w surowicy, oraz podwyższone wydalanie Cu z moczem. Rozpoznanie choroby Wilsona było kwestionowane z powodu nietypowej odpowiedzi na rutynowe leczenie cynkiem, braku mutacji w genie *ATP7B* mimo poszukiwania mutacji metodą sekwencjonowania genu oraz zawartości miedzi w tkance wątrobowej poniżej wartości dyskryminacyjnej dla choroby Wilsona (pacjent 131 μ g/g, chorzy >250). Również nietypowy dla choroby Wilsona był wysoki poziom cholesterolu w surowicy. W trakcie leczenia obserwowano zmiany zwyrodnieniowe stawów biodrowych z zaburzeniami chodu i epizod niedokrwistości, co skłoniło do dalszego poszukiwania przyczyn choroby. Obserwowane niezgodności wyjaśniła analiza izoform transferyny. Wzór izoform typu 2 sugerował defekt późnych etapów N-glikozylacji. Analiza izoform apoC-III, wykazała również obniżenie O-glikozylacji. Na tej podstawie rozpoznano złożony defekt N- i O-glikozylacji. W badaniu histologicznym wątroby obserwowano cechy nieznacznego stłuszczenia, w mikroskopie elektronowym widoczne było poszerzenie cystern aparatu Golgiego na biegunkach żółciowych hepatocytów [46]. Podobny fenotyp naśladujący wczesną postać choroby Wilsona, przedstawiła Mandato [47]. Nieprawidłowy wzór izoform transferyny z podwyższonymi frakcjami trisjalo- i disjalo- u brata i siostry był identyczny jak u własnego pacjenta. U dzieci stwierdzo-

no również obniżoną glikozylację apoC-III, oraz podwyższony poziom cholesterolu. Zawartości miedzi w tkance wątrobowej odpowiadały rozpoznaniu choroby Wilsona. Choroba wątroby nie postępowała, wraz z wiekiem uległy normalizacji parametry uszkodzenia wątroby. Mandato sugeruje występowanie u rodzeństwa nieznanego defektu transportu w obrębie aparatu Golgiego zaburzającego późne etapy N-glikozylacji, O-glikozylację, metabolizm miedzi i metabolizm cholesterolu. Autorka przedstawia także dwójkę innych dzieci z przewlekłym zapaleniem wątroby o łagodnym przebiegu i niewyjaśnionym defektem N- i O-glikozylacji. W pierwszych latach życia rozpoznano łagodną hipertransaminazemię, której towarzyszyło nieznaczne obniżenie poziomów alfa1-AT, ceruloplazminy i haptoglobiny oraz cechy koagulopatii z przedłużonym czasem protrombinowym, APTT i obniżonymi aktywnościami wielu czynników krzepnięcia. Badanie histologiczne wątroby wykazało stłuszczenie i zwłóknienie [47].

Hepatopatia stanowi ważny składnik złożonego obrazu klinicznego u innego dziecka ze wstępnym rozpoznaniem CDGx z własnego materiału. Fenotyp kliniczny obejmuje sekwencję Pierre Robina, przewlekłe zapalenie wątroby i kardiomiopatię rozstrzeniową. Obserwowano obniżony poziom α 1-antytrypsyny sugerujący genetyczny niedobór oraz stężenie ceruloplazminy na dolnej granicy normy (15 mg/l, [ref. 15–60]) z towarzyszącym obniżeniem poziomu miedzi w surowicy (43 μ g/dl, [ref. 70–140]) co sugerowało rozpoznanie choroby Wilsona. Obraz histologiczny wątroby nie był specyficzny. W kolejnych badaniach obserwowano cechy stłuszczenia prostego, skąpe nacieki limfoidalne, cholestazę o małym nasileniu oraz zgrupowania hepatocytów o jasnej cytoplazmie bogatej w glikogen poddający się trawieniu diastazą. Elektroogniskowanie transferyny wykazało znaczną hipoglikozylację. Występował typ 2 izoform transferyny sugerujący defekt późnych etapów glikozylacji. Potwierdziła to analiza izoform α 1-antytrypsyny. Badanie struktury transferyny metodą spektrometrii masowej (LC-MS) wskazało natomiast na niedobór całych glikanów na transferynie. Dane te sugerują obecność defektu, który zaburza zarówno wczesne jak i późne etapy N-glikozylacji.

Galaktozemia klasyczna (deficyt urydyliotransferazy galaktozo-1-fosforanowej, deficyt GALT, OMIM 230400)

Klasyczna galaktozemia wydaje się być dobrze poznaną enzymopatią spowodowaną niedoborem GALT, drugiego enzymu na drodze metabolizmu endogennej galaktozy. Brak aktywności enzymu zatrzymuje metabolizm galaktozy na etapie galaktozo-1-fosforanu. Gal-1-P gromadzi się w komórkach większości tkanek a jego wysokie stężenie uważane jest za przyczynę większości nieprawidłowości biochemicznych. W komórkach chorych zwiększa się również stężenie galaktozy oraz produktów jej redukcji, galaktitolu oraz utleniania, kwasu galaktonowego. Galaktoza, galaktitol i kwas galaktonowy w odróżnieniu od Gal-1-P, łatwo przechodzą przez błony komórkowe i są wydalone z moczem.

W obrazie klinicznym klasycznej galaktozemii dominują cechy uszkodzenia wątroby. Pierwsze objawy występują zwykle już w 2–4 dobie życia dziecka po pierwszym karmieniu mlekiem. Przeważa żółtaczką, skaza krwotoczna, powiększenie wątroby albo hepatosplenomegalia, obrzęki. Zaburzeniom tym towarzyszą trudności z karmieniem, wymioty, biegun-

ka, sennaść, obniżone napięcie mięśniowe i brak przyrostu masy ciała. Objawy nasilają się wraz z upływem czasu i podażą mleka i mogą prowadzić do zgonu jeżeli mleko nie zostanie odstawione w odpowiednim czasie. Może występować posocznica wywołana przez *E. coli*. Do stałych objawów okresu noworodkowego należą zaburzenia ze strony nerek, w postaci tubulopatii z uogólnioną aminoacydurią, glikozurią, galaktozurią, albuminurią, kalcurią i kwasicą metaboliczną oraz narządu wzroku, w postaci zmętnienia soczewki albo pełnej ślepoty. Stałą cechą jest występowanie anemii hemolitycznej. Wylęgniowanie z diety galaktozy powoduje szybkie ustąpienie objawów oraz normalizuje większość parametrów biochemicznych. Leczenie nie prowadzi jednak do całkowitej normalizacji biochemicznej. Pomimo ściśle przestrzeganej diety niektóre parametry biochemiczne pacjentów jak stężenie Gal-1-P w krwinkach czerwonych, galaktitolu i kwas galaktonowego w moczu pozostają stale powyżej zakresu wartości prawidłowych. Choroba postępuje pomimo ustąpienia ciężkich objawów okresu noworodkowego po wprowadzeniu diety eliminacyjnej i u dużej części pacjentów przybiera postać łagodnej, przewlekłej choroby neurodegeneracyjnej z obecnością objawów mózdkowych i pozapiramidowych, zaburzeniem mowy i koordynacji wzrokowo-ruchowej. Objawom neurologicznym towarzyszy uszkodzenie gonady żeńskiej oraz obniżenie mineralizacji kości. Zaburzenia te zwykle nazywane są odległymi następstwami ciężkiej intoksykacji okresu noworodkowego, chociaż nie wydaje się to uzasadnione z powodu braku dowodów na związek wczesnych uszkodzeń ze zmianami w okresach późniejszych. Nieprawidłowe wyniki badań MRI i CT potwierdzają przyczyny zaburzeń neurologicznych wykazując zaniki kory w obrębie jąder podkorowych i pnia mózgu, nieprawidłowości w obrębie substancji białej, poszerzenie komór mózgu oraz hipoplazję mózdku [48,49]. W badaniach autopsyjnych wykonanych u pacjentów zmarłych w wieku od 6 dni do 18 tygodni przeważała patologia wątroby w postaci marskości wrotnej ze stłuszczeniem [50]. Zmiany w wątrobie są odwracalne. Zaawansowane włóknienie wrotno-żółciowe z cechami marskości drobnoguzkowej i stłuszczeniem obserwowane u miesięcznego dziecka karmionego mlekiem całkowicie ustępowało po trzech miesiącach diety eliminacyjnej [51].

Badania ostatnich lat wykazały, że nasilenie wszystkich wyżej opisanych późnych objawów i zaburzeń u pacjentów z chorobą rozpoznaną w okresie noworodkowym i z właściwie prowadzoną dietą eliminacyjną nie koreluje z czynnikami uznawanymi wcześniej za prognostyczne jak czas rozpoczęcia leczenia i stężenie gal-1-P w krwinkach czerwonych. Pomimo licznych badań patomechanizm klasycznej galaktozemii nie został do końca wyjaśniony. W dalszym ciągu nie ma jasnej odpowiedzi jakie mechanizmy biochemiczne prowadzą do burzliwych objawów okresu noworodkowego i niemowlęcego ani nie są znane przyczyny późnych objawów, które występują pomimo prawidłowego leczenia [48]. Badania przeprowadzone w ostatnich latach na mysim modelu klasycznej galaktozemii, z uszkodzonym genem *GALT*, wykazały, że tkankowa akumulacja Gal-1-P nie jest warunkiem wystarczającym do wystąpienia objawów chorobowych. Mysz z brakiem aktywności *GALT* nie wykazywały objawów choroby, pomimo że gromadziły Gal-1-P w krwinkach czerwonych, komórkach wątroby, nerek i mózgu, w ilościach dużych, porównywalnych ze stężeniami obserwowanymi u chorych dzieci karmionych mlekiem [52]. Brak aktywności enzymatycznej *GALT* może nie być również wystarczającym warunkiem do

rozwoju choroby u człowieka. Opisano przypadki bezobjawowego deficytu *GALT* u ludzi pozostających na normalnej diecie [50,53]. Dane te wskazują, że defektu pojedynczego genu nie prowadzi do ujawnienia choroby jeżeli nie towarzyszą mu odpowiednie „warunki metaboliczne” wynikające z podłoża genetycznego, specyficznego dla gatunku a nawet pojedynczego organizmu w obrębie gatunku.

Rola glikozylacji w patomechanizmie galaktozemii nie była badana chociaż nieprawidłowości w glikozylacji lipidów i białek były znane od dawna. W tkance mózgowej zmarłych pacjentów obserwowano niedobór i nieprawidłową strukturę galaktolipidów [54], fibroblasty pacjentów wykazywały obniżoną galaktozylację białek [55], nieprawidłowe były izoformy enzymów lizosomalnych w surowicy [56]. Najbardziej spektakularnym dowodem wskazującym na obniżoną N-glikozylację glikoprotein w galaktozemii było wykazanie nieprawidłowości we wzorze izoform transferyny u niemowląt z pełnoobjawową postacią choroby pozostających na diecie mlecznej. Wzór izoform ze znacznie podwyższonymi frakcjami asjalo- i disjalo- był identyczny jak ich obraz w najcięższych postaciach wrodzonych zaburzeń glikozylacji I typu. Nieprawidłowy wzór izoform transferyny normalizował się po 1–2 tygodniach leczenia dietetycznego [10,12,14]. Nieprawidłowe izoformy wskazujące na obniżoną glikozylację obserwowano również w innych glikoproteinach surowicy syntetyzowanych przez wątrobę jak α 1AT a także FSH, glikoproteinie syntetyzowanej przez przysadkę. Nieprawidłowe izoformy FSH obserwowano u pacjentek leczonych, ze stężeniami gal-1-P wskazującymi na restrykcyjne przestrzeganie diety [57]. Analiza struktury transferyny metodą spektrometrii masowej pacjentów nie leczonych wykazała brak całych glikanów a także obecność glikanów pozbawionych końcowych reszt kwasu sialowego i galaktozy. Struktura transferyny normalizowała w trakcie leczenia dietetycznego [58]. Taki obraz pozwala uznać galaktozemię za genetycznie uwarunkowane zaburzenie glikozylacji, wtórne do pierwotnego defektu. Jaeken zaliczył klasyczną galaktozemię do wrodzonych zaburzeń glikozylacji biorąc pod uwagę podobieństwa fenotypów klinicznych i biochemicznych tych chorób sugerując udział hipoglikozylacji w patogenezie galaktozemii [56]. Wydaje się prawdopodobne, że hipoglikozylacja glikoprotein, która towarzyszy ciężkim objawom u dzieci pozostających na diecie mlecznej i ustępuje wraz z nią w trakcie leczenia, odpowiada przynajmniej za część wczesnej, wielonarządowej patologii choroby. Zaburzona glikozylacja może również być podłożem późnych, neurologicznych objawów. Kwestie te, podobnie jak biochemiczny mechanizm odpowiadający za hipoglikozylację białek w galaktozemii, pozostają do ustalenia.

Nieprawidłowy wzór izoform transferyny w nie leczonej galaktozemii może być wykorzystany jako test diagnostyczny. Jest on szczególnie przydatny w sytuacji klinicznej kiedy dziecko miało przetoczoną krew i rutynowe oznaczenie aktywności *GALT* w erytrocytach nie jest diagnostyczne dając wynik „fałszywie” prawidłowy. W materiale autorów pracy %CDT jako laboratoryjny wskaźnik hipoglikozylacji, okazał się przydatny w rozpoznawaniu nie leczonej galaktozemii, jednak jego specyficzność była ograniczona wiekiem dziecka i rodzajem diety. Można uznać, że oznaczenie %CDT jest specyficzne dla galaktozemii jeżeli: a) jest wykonywane u dzieci w wieku ponad 8d. życia pozostających od urodzenia na diecie mlecznej, b) jest wykonywane co najmniej dwukrotnie, przed rozpoczęciem leczenia dietetycznego i po 7–10

dniach diety. Typ I wzoru izoform transferyny z podwyższoną wartością %CDT przed leczeniem dietetycznym i normalizacja wzoru izoform w trakcie diety sugeruje rozpoznanie galaktozemii. Transfuzja krwi przed badaniem nie ma wpływu na wartość diagnostyczną testu [12,14].

Wrodzona nietolerancja fruktozy (deficyt aldolazy fruktozo-1-fosforanowej, fruktozemia, HFI – hereditary fructose intolerance, OMIM 229600)

Wrodzona nietolerancja fruktozy jest spowodowana deficytem aldolazy B [59]. Enzym, specyficzny dla wątroby, jelita i nerek rozkłada fruktozo-1-P na dwie triozy, aldehyd glicerolowy i fosfodihydroksyaceton. Metabolity te wchodzi w cyklę glikolizy i glukoneogenezy. W niedoborze aldolazy B, przy normalnej podaży fruktozy w diecie, w komórkach wątroby, nerek i jelit gromadzi się fruktozo-1-P zaburzając wiele szlaków metabolicznych. Fru-1-P hamuje glukoneogenezę i glikogenolizę. Prowadzi to do hipoglikemii nie reagującej na glukagon. Inhibicja glukoneogenezy jest również przyczyną akumulacji mleczanu, pirogronianu i alaniny co odpowiada częściowo za kwasicę metaboliczną i aminoacydurię. Jednak główną przyczyną kwasicy, aminoacyduri i innych objawów zespołu Fanconiego obserwowanych w nie leczonej fruktozemia jest zaburzenie transportu kanalikowego spowodowane niedoborami energetycznymi. Akumulacja fruktozo-1-fosforanu ma poważne konsekwencje energetyczne: 1) obniża się stężenie ATP w wyniku jego szybkiego zużycia do syntezy Fru-1-P, 2) obniża się poziom fosforanu nieorganicznego, który jest zatrzymywany w puli fosforylowanego cukru, 3) oraz, wtórnie, zmniejszeniu ulegają komórkowe zasoby nukleotydów adeninowych w wyniku nasilonego katabolizmu spowodowanego aktywacją deaminazy AMP poprzez obniżony poziom fosforu. Nadmierny katabolizm puryn prowadzi do hiperurikemii ale obserwowano także hipourikemię prawdopodobnie w wyniku tubulopatii [14]. Szybkie zużycie ATP po podaniu fruktozy jest przyczyną hipermagnezemu. Magnez pozostaje związany z ATP w stosunku ekwimolarnym i uwalnia się z kompleksu ATP-Mg w trakcie zużycia ATP w reakcjach fosforylacji [59]. Komórkowa akumulacja Fru-1-P okazała się również przyczyną obniżenia N-glikozyłacji obserwowanego w nie leczonej fruktozemia. Fruktozo-1-P hamuje aktywność izomerazy fosfomannozowej obniżając syntezę GDP-mannozy [60].

Obraz kliniczny wrodzonej nietolerancji fruktozy przedstawia się następująco. Objawy występują w trakcie diety zawierającej fruktozę i mogą być dwójakiego rodzaju. W okresie niemowlęcym choroba może przybierać postać ostrego zespołu intoksykacji z bólem brzucha, wymiotami i objawami hipoglikemii, które pojawiają się w przeciągu minut po podaniu dziecku toksycznego cukru i mogą prowadzić do zgonu jeżeli fruktoza nie zostanie odstawiona. Częściej fruktozemia manifestuje się w okresie niemowlęcym jako zespół chronicznego zatrucia charakteryzujący się zahamowaniem rozwoju fizycznego, nawracającymi wymiotami, hepatomegalią oraz zaburzeniem funkcji wątroby i nerek. Często objawom ze strony wątroby i jelit towarzyszą krwawienia o różnej lokalizacji, rzadziej występuje skąpomocz, zaburzenia oddychania, stany gorączkowe i krzywica. Chore dzieci mogą rozwijać odruchową niechęć do słodkich pokarmów co w sposób naturalny chroni je przed występowaniem zagrażających objawów intoksykacji. U starszych dzieci i w okresach późniejszych objawy kliniczne mogą nie występować a choroba

przejawia się wyłącznie jako powiększenie wątroby z niedoborem wzrostu. Objawy, ich nasilenie i czas kiedy się pojawiają mogą być bardzo różne i zależą od ilości fruktozy w diecie i czasu kiedy cukier jest podawany [59]. Choroba jest trudna do rozpoznania na podstawie objawów klinicznych. Może naśladować objawy zwężenia odźwiernika, przepuklinę rozworu przełykowego, zatrucie pokarmowe a także inne choroby metaboliczne jak zaburzenia beta-oksydacji i CDG [13,61,62].

Badania laboratoryjne wskazują na zaburzenie funkcji wątroby i uszkodzenie cewek nerkowych o charakterze zespołu Fanconiego. We krwi stwierdza się podwyższony poziom fruktozy, magnezu, kwasu mlekowego i alaniny oraz obniżone stężenie fosforu i glukozy. W moczu uogólnioną aminoacydurię, proteinurię, kalcurię, fruktozurię i zwiększone wydalane dwuwęglanów [59,61].

Badania histopatologiczne wątroby u pacjentów nie leczonych wykazywały okołowrotne i wewnątrz-zrazikowe zwłóknienie, które prowadziło do marskości jeżeli dieta z dużą zawartością fruktozy była kontynuowana [63]. Zmiany w ultrastrukturze hepatocytów po obciążeniu fruktozą pojawiały się bardzo szybko. Już po dwóch godzinach widoczne były struktury przypominające cytolizosomy albo wakuole autofagocytarne [64].

Rozpoznanie fruktozemii początkowo opierało się na wynikach testów z doustnym albo dożylnym obciążeniem fruktozą. W teście doustnym pacjentom podawano 0,5 g fruktozy na kg masy ciała i mierzono przez okres 3 godzin, w odstępach półgodzinnych, stężenia fruktozy, glukozy, kwasu mlekowego, kwasu pirogronowego i fosforu. Podobna procedura obowiązywała w teście dożylnego obciążenia fruktozą. Chorzy z deficytem aldolazy B wykazywali spadek stężenia glukozy i fosforu oraz wzrost stężeń fruktozy, kwasu mlekowego i pirogronowego [65]. Ostatnio ze względu na zagrażającą życiu, ciężką hipoglikemię, która występuje po podaniu fruktozy testy z obciążeniem nie są zalecane. Uważa się, że nowoczesna diagnostyka fruktozemii, z powodu braku dostępu do prostych nieinwazyjnych testów diagnostycznych powinna opierać się na badaniach molekularnych. Jednak ze względu na występowanie w obrębie genu aldolazy B ponad czterdziestu różnych mutacji diagnostyka molekularna choroby nastręcza sporo trudności i nie jest powszechnie dostępna [66]. Wykrycie u pacjentów z nie leczoną fruktozemia nieprawidłowego wzoru izoform transferyny zwróciło uwagę na możliwość zastosowania IEF transferyny w diagnostyce laboratoryjnej choroby [11,14]. Obraz nieprawidłowych izoform nie różnił się od wzorów w typie I CDG i galaktozemii oraz podobnie jak w galaktozemia, normalizował się w trakcie leczenia dietą eliminacyjną. Jednak całkowita normalizacja następowała po dłuższym czasie leczenia niż w galaktozemia (3–4 tygodnie) i nie obejmowała wszystkich pacjentów. U części pacjentów podwyższone wartości %CDT, nawet do 20%, utrzymywały się w trakcie leczenia [12,14].

Niedobór N-glikozyłacji w patogenezie fruktozemii nie był brany pod uwagę, chociaż jego rola wydaje się istotna. Na poziomie biochemicznym fruktozemia jest wtórnym, zależnym od diety deficytem PMI, który jest zaliczany do grupy CDG jako podtyp Ib. Podobne w obu chorobach są objawy kliniczne i nieprawidłowości biochemiczne. Na tej podstawie wydaje się uzasadnione uznanie hipoglikozyłacji glikoprotein za jeden z elementów złożonego patomechanizmu wrodzonej nietolerancji fruktozy.

Uwagi końcowe

Jak wynika z powyżej przedstawionych przykładów wrodzone niedobory glikozylacji białek spowodowane defektami enzymatycznymi na drodze syntezy N-glikanów zaburzają funkcje wielu układów i narządów. Uszkodzenie wątroby stanowi ważny element złożonej patologii tych chorób. Niespecyficzne objawy ze strony przewodu pokarmowego i wątroby z niedoborem masy ciała i wzrostu są często pierwszą manifestacją choroby i chore dzieci często trafiają na oddziały gastroenterologiczne. Inne objawy narządowe oraz objawy ze strony układu nerwowego mogą być widoczne później. Uszkodzenie wątroby w CDG jest bardzo zróżnicowane, począwszy od ciężkiej niewydolności o śmiertelnym przebiegu po obraz przewlekłego zapalenia ustępującego wraz z wiekiem. Przewlekłe zapalenie wątroby z obniżonym poziomem ceruloplazminy i/albo α 1-antytrypsyny może sugerować rozpoznanie wczesnej postaci choroby Wilsona albo deficyt alfa1-antytrypsyny.

Przyczyną klasycznej galaktozemii i wrodzonej nietolerancja fruktozy są wczesne defekty metabolizmu cukrów. Obecność toksycznych dla chorych cukrów w diecie powoduje akumulację pośrednich metabolitów zaburzających wiele szlaków metabolicznych w tym glikozylację białek. Konsekwencją tych zaburzeń jest wielonarządowa patologia z dominacją cech uszkodzenia komórki wątrobowej.

Ponieważ obniżenie glikozylacji białek jest istotą patologii w CDG, wydaje się bardzo prawdopodobne, że niedobór glikozylacji w galaktozemii i fruktozemii, chociaż wtórny do pierwotnych defektów, jest ważnym komponentem złożonego patomechanizmu tych chorób.

Oznaczanie izoformy transferyny, powszechnie wykorzystywane do rozpoznawania większości wariantów CDG, może być również pomocne w rozpoznawaniu galaktozemii i fruktozemii. Wydaje się uzasadnione oznaczanie izoform transferyny we wszystkich przypadkach chorób wątroby o niewyjaśnionej etiologii, szczególnie jeżeli towarzyszą im objawy, odchylenia czy nieprawidłowości ze strony innych narządów i układów. W praktyce klinicznej w diagnostyce różnicowej CDG należy uwzględnić galaktozemię i fruktozemię.

Chociaż oznaczenie izoform transferyny może być uznane za wstępne badanie w kierunku CDG, nie obejmuje ono wszystkich podtypów i w przypadku niejasnego przebiegu choroby należy rozważać wykonanie specjalistycznych badań dodatkowych jak analiza profilu oligosacharydów moczu metodą TLC (diagnostyka CDG-IIb) czy też ocena fukozylacji i sjalizacji glikoprotein błony leukocytów przy wykorzystaniu cytometrii przepływowej (diagnostyka CDG-IIc, CDG-III).

Piśmiennictwo:

1. Kornfeld R, Kornfeld S: Assembly of asparagine-linked oligosaccharides. *Annu Rev Biochem*, 1985; 54: 631
2. Van den Steen P, Rudd PM, Dwek RA, Opdenakker G: Concepts and principles of O-linked glycosylation. *Crit Rev Biochem Mol Biol*, 1998; 33: 151
3. Varki A: Biological roles of oligosaccharides: all of the theories are correct. *Glycobiology*, 1993; 3: 97
4. Marek KW, Vijay IK, Marth J: A recessive deletion in the GlcNAc-1-phosphotransferase gene results in peri-implantations embryonic lethality. *Glycobiology*, 1999; 9: 1263
5. Participants of the 1st International Workshop on CDG: Carbohydrate-deficient glycoprotein syndromes become congenital disorders of glycosylation: an updated nomenclature for CDG. *Glycobiology*, 2000, 10, III
6. Freeze H: Genetic defects in the human glycome. *Nat Rev Genet*, 2006; 7: 537
7. Jaeken J, Matthijs G: Congenital disorders of glycosylation: a rapidly expanding disease family. *Annu Rev Genomics Hum Genet*, 2007; 8: 261
8. Marquard T, Denecke J: Congenital disorders of glycosylation: review of their molecular bases, clinical presentation and specific therapies. *Eur J Pediatr*, 2003; 162: 359
9. Stibler H: Carbohydrate-deficient transferrin in serum: A new marker of potentially harmful alcohol consumption reviewed. *Clin Chem*, 1991; 37: 2029
10. Spaapen J, Jaeken J, Carchon H, Stibler H, 1993; LJM, Vulsma T, Theunissen PMVM, van der Meer SB, Jaeken J: Galactosaemia, a carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome. SSIEM, 30th Annual Symposium, Leuven, Sept. 8–11, 1992 (abstr.), 8
11. Adamowicz M, Pronicka E: Carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome-like transferrin isoelectric focusing pattern in untreated fructosaemia. *Eur J Pediatr*, 1996; 155: 347
12. Adamowicz M: Przydatność izoform transferyny w rozpoznawaniu wrodzonych zaburzeń glikozylacji (CDG) oraz galaktozemii i fruktozemii. Praca doktorska, AM Warszawa, 2007
13. Adamowicz M, Płoski R, Rokicki D i wsp: Transferrin hypoglycosylation in hereditary fructose intolerance: using the clues and avoiding the pitfalls. *J Inherit Metab Dis*, 2007; 30: 407
14. Pronicka E, Adamowicz M, Kowalik A i wsp: Increased serum carbohydrate deficient transferrin (CDT%) and its normalisation on dietary treatment as useful biochemical testing for fructosaemia and galactosaemia. *Pediatr Res*, 2007; 62: 101
15. Brionez P, Vilaseca MA, Schollen E i wsp: Biochemical and molecular studies in 26 Spanish patients with congenital disorder of glycosylation type Ia. *J Inherit Metab Dis*, 2002; 25: 635
16. De Lonlay P, Seta N, Barrot S i wsp: A broad spectrum of clinical presentations in congenital disorders of glycosylation I: a series of 26 cases. *J Med Genet*, 2001; 38: 14
17. Di Rocco M, Barone R, Adami A i wsp: Carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome: the Italian experience. *J Inherit Metab Dis*, 2000; 23: 391
18. Erlandson A, Bjursell C, Stibler H i wsp: Scandinavian CDG-Ia patients: genotype/phenotype correlation and geographic origin of founder mutations. *Hum Genet*, 2001; 108: 359
19. Jaeken J, Matthijs G, Barone R, Carchon H: Carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome type I. *J Med Genet*, 1997; 34: 73
20. Jaeken J, Stibler H, Hagberg B: The Carbohydrate-deficient Glycoprotein Syndrome. A new inherited multisystemic disease with severe nervous system involvement. *Acta Paediatr Scand*, 1991; 375(Suppl.): 1
21. Damen G, de Klerk H, Huijman J i wsp: Gastrointestinal and other clinical manifestations in 17 children with congenital disorders of glycosylation type Ia, Ib, and Ic. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 1999; 29: 104
22. Kristiansson B, Borulf S, Conradi N i wsp: Intestinal, pancreatic and hepatic involvement in carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome type I. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 1998; 27: 23
23. Zentilin Boyer M, de Lonlay P, Seta N i wsp: Hypotrophie et manifestation digestives des syndromes congénitaux de la glycosylation. *Archives de Pédiatrie*, 2003; 10: 590
24. Conradi N, de Vos R, Jaeken J i wsp: Liver pathology in the carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome. *Acta Paediatr Scand*, 1991; Suppl. 375: 50
25. Grünwald S, de Vos R, Jaeken J: Abnormal lysosomal inclusions in liver hepatocytes but not in fibroblasts in congenital disorders of glycosylation (CDG). *J Inherit Metab Dis*, 2003; 26: 49
26. Iancu TC, Mahajnah M, Manov I i wsp: The liver in congenital disorders of glycosylation: ultrastructural features. *Ultrastruct Pathol*, 2007; 31: 189
27. Barone R, Carchon H, Jansen E i wsp: Lysosomal enzyme activities in serum and leukocytes from patients with carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome type A (phosphomannomutase deficiency). *J Inherit Metab Dis*, 1998; 21: 167
28. Jaeken J, Matthijs G, Saudubray JM i wsp: Phosphomannose isomerase deficiency: a carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome with hepato-intestinal presentation. *Am J Hum Genet*, 1998; 62: 1535

29. Harms HK, Zimmer K-P, Kurnik K i wsp: Oral mannose therapy persistently corrects the severe clinical symptoms and biochemical abnormalities of phosphomannose isomerase deficiency. *Acta Paediatr*, 2002; 91: 1065
30. Hendriksz CJ, McClean P, Henderson MJ i wsp: Successful treatment of carbohydrate deficient glycoprotein syndrome Ib with oral mannose. *Arch Dis Child*, 2001; 85: 339
31. De Koning TJ, Nikkels PGJ, Dorland L i wsp: Congenital hepatic fibrosis in 3 siblings with phosphomannose isomerase deficiency. *Virchows Arch*, 2000; 437: 101
32. Niehues R, Hasilik M, Alton G i wsp: Carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome type Ib. Phosphomannose isomerase deficiency and mannose therapy. *J Clin Invest*, 1998; 101: 1414
33. Westphal V, Kjaergaard S, Davis JA i wsp: Genetic and metabolic analysis of the first adult with congenital Disorder of glycosylation type Ib: long-term outcome and effects of mannose supplementation. *Mol Genet Metab*, 2001; 73: 77
34. Penel-Capelle D, Dobbelaere D, Jaeken J i wsp: Congenital disorder of glycosylation Ib (CDG-Ib) without gastrointestinal symptoms. *J Inher Metab Dis*, 2003; 26: 83
35. Babovic-Vuksanovic D, Patterson MC, Schwenk WF i wsp: Severe hypoglycemia as a presenting symptom of carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome. *J Pediatr*, 1999; 135: 755
36. Pedersen PS, Tygstrup I: Congenital hepatic fibrosis combined with protein-losing enteropathy and recurrent thrombosis. *Acta Paediatr Scand*, 1980; 69: 571
37. Pelletier V, Galleano N, Brochu P i wsp: Secretory diarrhea with protein-losing enteropathy, enterocolitis cystica superficialis, intestinal lymphangiectasia, and congenital hepatic fibrosis: a new syndrome. *J Pediatr*, 1986; 108: 61
38. Imbach T, Burda P, Kuhnert P i wsp: A mutation in human ortholog of the *Saccharomyces cerevisiae* ALG6 gene causes carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome type I-c. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999; 96: 6982
39. Grünwald S, Imbach T, Huijben K i wsp: Clinical and biochemical characteristics of congenital disorders of glycosylation type Ic, the first recognized endoplasmic reticulum defect in N-glycan synthesis. *Ann Neurol*, 2000; 47: 776
40. Grünwald S, Matthijs G, Jaeken J: Congenital disorders of glycosylation. A review. *Pediatr Res*, 2002; 52: 618
41. Westphal V, Murch S, Kim S i wsp: Reduced heparan sulfate accumulation in enterocytes contributes to protein-losing enteropathy in a congenital disorder of glycosylation. *Am J Pathology*, 2000; 157: 1917
42. Chantret I, Dancourt J, Dancourt J i wsp: A deficiency in dolichyl-P-glucose: Glc1Man9GlcNAc2-PP-dolichyl-3-glucosyltransferase defines a new subtype of congenital disorders of glycosylation. *J Biol Chem*, 2003; 278: 9962
43. Schollen E, Frank CG, Keldermans L i wsp: Clinical and molecular features of three patients with congenital disorders of glycosylation type Ih (CDG-Ih) (ALG8 deficiency). *J Med Genet*, 2004; 41: 550
44. Wopereis S, Morava E, Coucke P i wsp: Defective protein glycosylation in patients with cutis laxa syndrome. *Eur J Hum Genet*, 2005; 13: 414
45. Menton K, Michaud L, Dobbelaere D i wsp: Neonatal severe intractable diarrhoea as the presenting manifestation of an unclassified congenital disorder of glycosylation (CDG-x). *Arch Dis Child*, 2001; 85: F217
46. Adamowicz M, Socha P, Rokicki D i wsp: A combined defect of N- and O-glycosylation in 12 years old boy with Wilson's disease phenotype. *J Inher Metab Dis*, 2005; 28(Suppl.1): 203
47. Mandato C, Brive L, Miura Y i wsp: Cryptogenic liver disease in four children: a novel congenital disorder of glycosylation. *Pediatr Res*, 2006; 59: 293
48. Bosch AM: Classical galactosaemia revisited. *J Inher Metab Dis*, 2006; 29: 516
49. Holton JB, Walter JH, Tyfield LA: Galactosemia. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D (red.). *The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease*. 8th edn. New York: McGraw-Hill, 2001; 1553
50. Hsia DY, Walker FA: Variability in the clinical manifestation of galactosemia. *J Pediatr*, 1961; 59: 872
51. Applebaum MN, Thaler MM: Reversibility of extensive liver damage in galactosemia. *Gastroenterology*, 1975; 69: 496
52. Ning C, Reynolds R, Chen J i wsp: Galactose metabolism in mice with galactose-1-phosphate uridylyltransferase deficiency: sucklings and 7-week old animals fed a high-galactose diet. *Mol Genet Metab*, 2001; 72: 306
53. Panis B, Bakker JA, Sels J-PJE i wsp: Untreated classical galactosemia patient with mild phenotype. *Mol Genet Metab*, 2006; 89: 277
54. Haberland C, Perou M, Brunngraber EG, Hof H: The neuropathology of galactosemia. A histopathological and biochemical study. *J Neuropathol Exp Neurol*, 1971; 30: 431
55. Ornstein KS, McGuire EJ, Berry GT i wsp: Abnormal galactosylation of complex carbohydrates in cultured fibroblasts from patients with galactose-1-phosphate uridylyltransferase deficiency. *Pediatr Res*, 1992; 31: 508
56. Jaeken J, Kint J, Spaepen L: Serum lysosomal enzyme abnormalities in galactosaemia. *Lancet*, 1992; 340(12): 1472
57. Prestoz LLO, Couto AS, Shin YS, Petry KG: Altered follicle stimulated hormone isoforms in female galactosemia patients. *Eur J Pediatr*, 1997; 156: 116
58. Sturiale L, Barone R, Fiumara A i wsp: Hypoglycosylation with increased fucosylation and branching of serum transferrin in untreated galactosemia. *Glycobiology*, 2005; 15: 1268
59. Steinmann B, Gitzelmann G, Van den Berghe G: Disorders of fructose metabolism. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D (red.). *The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease*. 8th edn. New York: McGraw-Hill, 2001; 1489
60. Jaeken J, Pirard M, Adamowicz M i wsp: Inhibition of phosphomannose isomerase by fructose-1-phosphate: an explanation for defective N-glycosylation in hereditary fructose intolerance. *Pediatr Res*, 1996; 40: 764
61. Baerlocher K, Gitzelmann R, Steinmann B, Gitzelmann-Cumarasamy N: Hereditary fructose intolerance in early childhood: a major diagnostic challenge. *Helv Paediatr Acta*, 1978; 33: 465
62. Stormon MO, Cutz E, Furuya K i wsp: A six-month-old infant with liver steatosis. *J Pediatr*, 2004; 144: 258
63. Odièvre M, Gautier M, Rieu D: Intolerance héréditaire au fructose du nourrisson. Evolution des lésions histologiques hépatiques sous traitement diététique prolongé (étude de huit observations). *Arch F Pediatr*, 1969; 26: 433
64. Phillips MJ, Little JA, Ptak TW: Subcellular pathology of hereditary fructose intolerance. *Am J Med*, 1968; 44: 910
65. Steinmann B, Gitzelmann R: The diagnosis of hereditary fructose intolerance. *Helv Paediatr Acta*, 1981; 36: 297
66. Gruchota J, Pronicka E, Korniszewski L i wsp: Aldolase B mutations and prevalence of hereditary fructose intolerance in Polish population. *Mol Genet Metab*, 2006; 87: 376

Współczesne poglądy na temat etiopatogenezy niedrożności dróg żółciowych

Current concepts on pathogenesis of biliary atresia

Piotr Czubkowski, Joanna Pawłowska

Klinika Gastroenterologii, Hepatologii i Immunologii, Instytut „Pomnik-Centrum Zdrowia Dziecka”, Warszawa

Summary: Biliary atresia is the progressive hepatobiliary disorder leading to cirrhosis in the majority of patients. We know almost everything about the consequences but very little about pathogenesis of this enigmatic disease. Recently huge efforts were undertaken so as to push forward our knowledge about the pathways of development and progression of disorder. Inflammatory mechanisms and genetic profile are top candidates for future research, providing new insight into our understanding the character of biliary atresia.

Słowa kluczowe: niedrożność dróg żółciowych • cholestaza • gen • immunologia • zapalenie

Key words: biliary atresia • cholestasis • gene • immunity • inflammation

Adres do korespondencji: Piotr Czubkowski, Klinika Gastroenterologii, Hepatologii i Immunologii, Instytut „Pomnik-Centrum Zdrowia Dziecka”, Warszawa, Polska, e-mail: gsb@turbogolf.pl

Wstęp

Prawdopodobnie największym wyzwaniem współczesnej hepatologii dziecięcej jest wyjaśnienie etiologii i mechanizmów patogenetycznych leżących u podłoża niedrożności dróg żółciowych (NDŻ) – postępującego, zapalnego włóknienia i obliteracji zewnątrz oraz wewnątrzwątrobowych przewodów żółciowych, w większości przypadków prowadzącego do konieczności wykonania przeszczepu wątroby [1]. Tylko u części pacjentów udaje się zahamować postęp choroby, dzięki chirurgicznemu przywróceniu odpływu żółci z wątroby. Operacja polega na całkowitym usunięciu zwłóknianych pozostałości dróg żółciowych i wszyciu w powierzchnię wątroby jelitowej pętli Roux-Y (zabieg Kasai).

W 1974 roku Benjamin Landing, patolog dziecięcy, zaproponował tezę [2], iż niedrożność dróg żółciowych, idiopatyczne noworodkowe zapalenie wątroby oraz torbiele dróg żółciowych są wynikiem uszkodzenia różnych odcinków dróg żółciowych przez pewien patogen i nadał im wspólną nazwę „noworodkowej cholangiopatii zaporowej” (ang. *infantile obstructive cholangiopathy*). Jednak badania prowadzone przez kolejne 30 lat praktycznie wykluczyły istnienie jednego czynnika odpowiedzialnego za rozwój choroby, a NDŻ jest obecnie uważana za fenotypową odpowiedź rozwijającej się wątroby oraz dróg żółciowych na różne czynniki prenatalne i perinatalne [3,4].

Rozważając możliwe mechanizmy patogenetyczne (Rycina 1) należy pamiętać o charakterze klinicznym choroby, której początek objawów zawsze ma miejsce we wczesnym okresie niemowlęcym, uszkodzenie dotyczy wyłącznie dróg żółciowych (z wyjątkiem przypadków z dodatkowymi wadami wrodzonymi), a choroba nie nawraca w przeszczepionej wątrobie [5].

Uważa się, że NDŻ nie jest chorobą wrodzoną z wyjątkiem wąskiej grupy pacjentów, u których dodatkowo obecne są wady anatomiczne. Świadczy o tym brak korelacji odnośnie wystąpienia choroby u bliźniąt monozygotycznych oraz niezwykle rzadkie przypadki rodzinnego występowania NDŻ [6,7]. Nie wyklucza to jednak możliwości somatycznych mutacji genów regulatorowych odpowiedzialnych za rozwój dróg żółciowych, czy też genetycznej predyspozycji nieprawidłowej odpowiedzi immunologicznej na czynniki zewnętrzne w trakcie morfogenezy.

W zależności od typu klinicznego proponowanych jest kilka mechanizmów uszkodzenia dróg żółciowych (Tabela 1).

Większość przypadków NDŻ (80%) stanowi typ niemowlęcy, w którym w wyniku działania pewnego czynnika (np. wirusowego lub toksycznego) zostaje zapoczątkowana destrukcyjna odpowiedź immunologiczna, uszkadzająca prawidłowo rozwinięte drogi żółciowe.

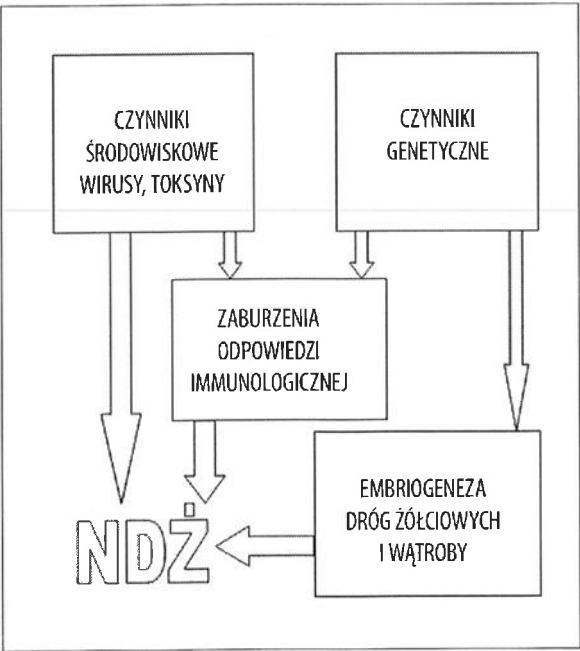
Drugi typ choroby (20%) – embrionalny, związany jest najprawdopodobniej z defektem morfogenezy płodowej być może przez mutacje w genach regulujących rozwój dróg żółciowych i/lub proces lateralizacji narządów trzewnych [8].

Defekt morfogenezy

Czynnikiem mogącym powodować postępujące uszkodzenie dróg żółciowych jest wyciek żółci poza obręb kanalików, do tkanki okołoprzewodowej. Ten mechanizm jako pierwszy zaproponowali w 1901 roku Rolleston i Hayne, nadając mu nazwę „zstępujące zapalenie dróg żółciowych [9].

Podobne obserwacje opisali Tan i wsp. stwierdzając obecność wynaczynionej żółci w pozostałościach dróg żółciowych u pacjentów z NDŻ, prawdopodobnie przedostającej się przez ubytki w nabłonku dróg żółciowych [10,11]. Następnie zaproponowali hipotezę, iż między 11 a 13 tygodniem życia płodowego istnieje faza rozwojowa szczególnie podatna na uszkodzenie powstających kanalików żółciowych. W tym okresie, zaburzenia przebudowy płytki kanalikowej (ang. *ductal plate malformation*), mogą prowadzić do nieprawidłowej tubulizacji tworzących się przewodów żółciowych i ich zwiększonej podatności na przerwanie wraz z początkiem produkcji żółci między 12–13 tygodniem ciąży. Wynaczyniona do przylegających, okołoprzewodowych tkanek żółć prowadzi do postępującego zapalenia, włóknienia i obliteracji bardziej dystalnych zewnątrzwątrobowych dróg żółciowych [12].

Prawidłowy rozwój wewnątrzwątrobowych dróg żółciowych zależy od interakcji między mezenchymą i wnekowymi przewodami żółciowymi, tworząc płytkę kanalikową. Płytkę kanalikową pochodzi od grupy prymitywnych komórek wątrobowych różnicujących się w jednowarstwow pierścien



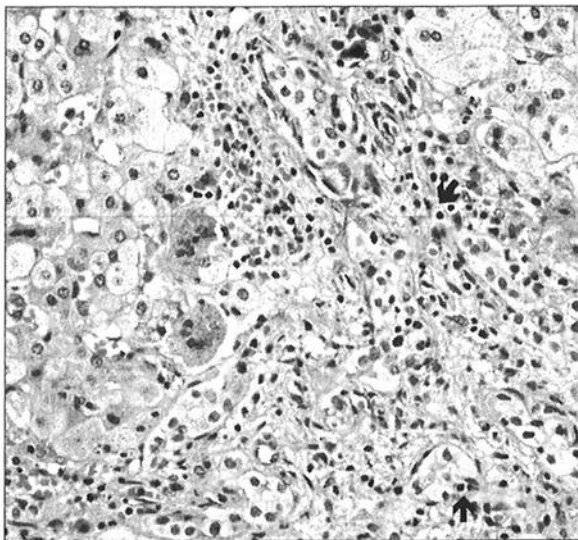
Rycina 1. Ogólny schemat możliwych czynników etiologicznych.

prekursorów komórek przewodów żółciowych, leżących między parenchymą, a mezenchymą wątrobową. Do 5 tygodnia życia płodowego komórki te otaczają żyłne odgałęzienia wrotne z mezenchymą w wątrobie [13,14].

Przebudowa pierścienia komórkowego odbywa się przez kolejne 6–7 tygodni. Pojedyncza warstwa komórek staje się częściowo podwójną, a następnie rozwój punktowych posze

Tabela 1. Potencjalne mechanizmy patogenetyczne w NDŻ.

Mechanizm	Argumenty przemawiające	Typ kliniczny
Defekt morfogenezy	- Współwystępowanie pozawątrobowych zaburzeń embrionalnych - Nieprawidłowa przebudowa płytki kanalikowej - Mutacje genów odpowiedzialnych za lateralizację narządową (<i>CFC1, ZIC3</i>) oraz zaburzenia lateralizacji - Wzmoczona ekspresja genów regulatorowych u dzieci z embrionalną formą choroby - Model zwierzęcy niedrożności dróg żółciowych i odwrócenia trzew u myszy pozbawionej genu <i>INV</i> (ang. <i>INV knockout mice</i>)	Płodowy (embrionalny) 20% przypadków
Zaburzenia odpowiedzi immunologicznej	- Zwiększona ekspresja wewnątrzkomórkowych cząsteczek adhezyjnych - Zwiększona częstość alleli HLA-B12, B8 i DR3 - Dominujący fenotyp Th1 nacieków zapalnych w wątrobie - Możliwość zapobiegania zapalnej niedrożności dróg żółciowych u myszy z deficytem IFN-gamma	Niemowlęcy (nabyty) 80% przypadków
Proces autoimmunologiczny	Zwiększona częstość alleli HLA-B12, B8 i DR3	
Infekcja wirusowa	- Cytomegalowirus, reowirus, rotawirus i inne zakażenia stwierdzone u dzieci z NDŻ - Niedrożność dróg żółciowych u noworodka mysiego wywołana zakażeniem rotawirusowym	
Defekt krążenia płodowego	Wewnątrzmaciczna dewaskularyzacja może powodować uszkodzenie dróg żółciowych	
Czynniki toksyczne	Czasowo-regionalne skupienie przypadków	



Rycina 2. Typowy obraz histologiczny NDŻ. Fragment poszerzonej przestrzeni wrotno-żółciowej z przylegającymi dwoma zrazikami. W zrazikach obecne są: zwyrodnienie balonowate hepatocytów, ogniskowa transformacja olbrzymiokomórkowa z drobnymi złogami żółci wewnątrzkomórkowymi. W przestrzeni wrotno-żółciowej widoczne są: drobne nacieki zapalne limfoidalne, proliferacja przewodów żółciowych z obecnością czopów żółci w świetle. Pojedyncze komórki limfoidalne wnikają pomiędzy komórki nabłonkowe przewodów żółciowych (strzałki). H.E. powiększenie 200×. Dzięki uprzejmości dr n. med. Joanny Kuszyk.

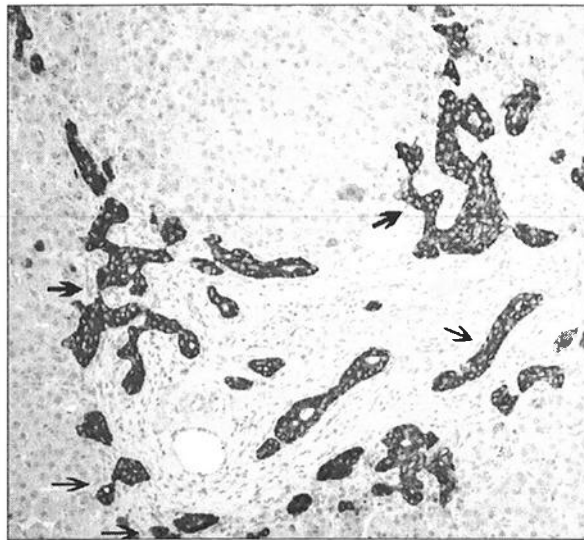
zeń przestrzeni między warstwami komórek daje początek przewodom żółciowym.

Nieprawidłowy remodeling płytki kanalikowej prowadzi do zmian typu ang. *ductal plate malformation* (DPM) obserwowanych we wrodzonym włóknieniu wątroby, niektórych dysplazjach dróg żółciowych [14] oraz w części przypadków NDŻ (Ryciny 2,3).

Hipotetycznie obecność struktur DPM u pacjentów z NDŻ, może wynikać z zaburzeń drogi sygnałowej pomiędzy czynnikami wzrostu i różnicowania hepatocytów, a odpowiednimi receptorami [15,16], bądź z defektu jednej z wewnątrzkomórkowych cząsteczek adhezyjnych, odgrywających kluczową rolę w reorganizacji komórek mezenchymalnych otaczających światło przewodów żółciowych [17].

Kontrola nad morfogenezą dróg żółciowych i wątroby jest przypisywana wielu współdziałającym ze sobą genom, jak do tej pory nie ustalono jednak jasnego związku [18]. Zapewne nie bez znaczenia jest również polimorfizm genów regulujących przebudowę płytki kanalikowej takich jak m.in. *HNF6*, *HNF1-B* [19,20] czy *JAGGED1* [21]. Szczególnie interesujący jest gen *JAGGED1* którego mutacje są podstawą zespołu Alagille'a. Ostatnio zostały zidentyfikowane mutacje tego genu u 9 spośród 102 pacjentów z NDŻ, u których nie stwierdzono fenotypowych cech zespołu [21]. Rokowanie u tych pacjentów było gorsze niż w pozostałych przypadkach, co może sugerować udział drogi sygnałowej *Notch* jako dodatkowego czynnika modulującego przebieg NDŻ.

Wady związane z symetrią narządów trzewnych (BASM ang. *Biliary Atresia Splenic Malformation*, niedokonany zwrot jelit,



Rycina 3. Barwienie immunohistochemiczne z użyciem przeciwciał antyCK7 wykonane na tkance mrożonej. Przestrzeń wrotno-żółciowa z proliferującymi przewodnikami żółciowymi (cienkie strzałki) oraz strukturami typu DPM (grube strzałki). Dzięki uprzejmości dr n. med. Joanny Kuszyk.

odwroćcie trzew) współistniejące z NDŻ sugerują, iż także geny odpowiedzialne za embriogenetyczną lateralizację, odgrywają kluczową rolę w prawidłowym rozwoju dróg żółciowych.

Pierwotny model zwierzęcy u myszy oparty był o mutację proksymalnego regionu chromosomu 4 lub o całkowitą delecję genu *INV* [22,23]. Oprócz zaburzeń lateralizacji narządów jamy brzusznej, stwierdzono również zaburzenia rozwoju dróg żółciowych co zainicjowało badania nad ludzkim genem *INV* ostatnio zmapowanym przez Shon i wsp. [24]. Badaniem objęto 64 pacjentów z odwroćciem trzew. Ponieważ nie znaleziono żadnych mutacji u 7 chorych z NDŻ i zaburzeniami lateralizacji, wydaje się mało prawdopodobne aby gen *INV* był odpowiedzialny za przypadki embrionalnej postaci NDŻ.

Dotychczas opisano przeszło 30 różnych białek biorących udział w lateralizacji narządów, jednak tylko kilka było przebadanych u pacjentów z NDŻ. Na uwagę zasługują gen *CFC1* – produkujący ludzką białek CRYPTIC [25] oraz *ZIC3* [26], których mutacje stwierdzono ostatnio u niektórych pacjentów z NDŻ.

Zaburzenia odpowiedzi immunologicznej

Limfocyty T pomocnicze (Th) generalnie dzielą się na 2 podtypy: Th1 regulujące immunologiczną odpowiedź komórkową oraz Th2 odpowiedzialne za odpowiedź humoralną. Do zainicjowania odpowiedzi immunologicznej limfocyty T CD4+ muszą napotkać odpowiednie, „wrogie” antygeny związane cząsteczkami MHC II na powierzchni komórek prezentujących antygen (ang. *Antygen Presenting Cell* – APC). Ostatnio kilku autorów dowiodło, iż cholangiocyty, które normalnie wykazują ekspresję tylko cząstek MHC I, u pacjentów z NDŻ zostają nieprawidłowo wydrukowane do ekspresji jednej z głównych molekuł MHC II – HLA-DR, stając się zarazem funkcjonalnym odpowiednikiem komórek APC [27–29].

Jeden z proponowanych mechanizmów zakłada [30], że czynnik wirusowy lub toksyczny uszkadzając nabłonek prze-

wodów żółciowych, zmienia antygeny powierzchniowe na „wrogie”, które następnie zostają zaprezentowane przez makrofagi limfocytom T powodując odpowiedź autoimmunologiczną uszkadzającą drogi żółciowe.

Fenotypowa charakterystyka limfocytów naciekających przestrzenie wrotne wskazuje na przewagę komórek T CD4+ nad T CD8+ [31], co może potwierdzać udział limfocytów CD4+ Th1 w patogenezie NDŻ. Komórki te wykazują stan pobudzenia ze wzmożoną ekspresją markerów aktywacji i proliferacji limfocytów Th takich jak receptor interleukiny 2 (CD25) i transferyny (CD71) [32,33]. Ponadto ICAM-1, której ekspresja w komórkach przewodów żółciowych jest wzmożona u pacjentów z NDŻ [34], za jeden ze swoich ligandów ma LFA-1 (ang. *leukocyte functional antigen*) obecny na limfocytach naciekających przewody żółciowe. Wzajemne interakcje tych dwóch molekuł również odgrywają rolę w regulacji odpowiedzi immunologicznej.

Inną grupą komórek mającą potencjalnie duży udział w procesach zapalenia i włóknienia są komórki Kupfera (makrofagi wątrobowe). Ich zwiększona liczba u dzieci z NDŻ, ekspresja HLA-DR oraz wydzielanie interleukiny 18 pobudzającej produkcję interferonu γ (INF γ) i różnicowanie limfocytów Th1 przemawiają za ich działaniem prozapalnym w patogenezie NDŻ [35].

Odmienne podejście do patogeny NDŻ zaproponował Bezerra i wsp. [36], który przeprowadził analizę 12.651 genów w biopsjach wątroby pacjentów z NDŻ stwierdzając charakterystyczny wzorec transkrypcyjny zawierający w większości (55,2%) geny funkcjonalnie związane z zapalną aktywacją limfocytów i produkcją INF γ . Można więc hipotetycznie założyć, iż obecny w wątrobie stan zapalny nie jest wtórną odpowiedzią na pewien czynnik zewnętrzny, a wynikiem uwarunkowanego genetycznie procesu zapalnego pierwotnie uszkadzającego drogi żółciowe.

Od lat problemem w badaniach NDŻ jest brak odpowiedniego modelu zwierzęcego, na którym można prześledzić przebieg kliniczny choroby. Ostatnio stworzono model myszy indukowany zakażeniem rotawirusowym [37]. Stwierdzono wysokie powinowactwo rotawirusa do komórek dróg żółciowych oraz zdolność do inicjacji zapalenia dróg żółciowych przez komórki CD4+, CD8+ oraz wzmożoną produkcję INF γ . Następnie stworzono identycznie wyindukowany model u myszy nie produkującej INF γ (wskutek mutacji genu *INF*). Obserwowano przejściową żółtaczkę związaną bezpośrednio z zakażeniem, która wkrótce ustąpiła dając długotrwałe przeżycie bez uszkodzenia dróg żółciowych.

Proces autoimmunologiczny

Postępujący charakter choroby mimo uzyskania odpływu żółci po zabiegu Kasai, może przemawiać za dynamicznym procesem toczącym się w drogach żółciowych. Pierwotny czynnik uszkadzający powoduje odsłonięcie i ekspozycję zmienionych i rozpoznawanych jako obce antygenów na komórkach epitelialnych wyścielających drogi żółciowe, co może prowadzić to do utrzymującego się procesu autoimmunologicznego [1,38].

Kryteria określające proces autoimmunologiczny zaproponowane przez Witebsky'ego, a następnie zweryfikowa-

ne przez Rose w 1993 roku [38] zawierają: obecność nacieków limfocytarnych, autoprzeciwciał lub antygenów, związek z innymi chorobami autoimmunologicznymi pacjenta lub ich występowanie w rodzinie, i w końcu związek z HLA (ang. *human leukocyte antigens*). Badania w kierunku obecności autoprzeciwciał są nieliczne i na razie ograniczone jedynie do wstępnych wyników. Vasiliasukas i wsp. [39] stwierdził dodatnie przeciwciała ANCA u 10 z 11 pacjentów z NDŻ oraz wyższe poziomy IgM-ANCA w porównaniu z dziećmi i dorosłymi chorującymi na inne choroby wątroby. Ciekawą obserwacją jest również fakt, iż dzieci z NDŻ po przeszczepie wątroby mają 2,5% ryzyko wystąpienia *de novo* AIH po LTx [40,41].

Polimorfizm genetyczny szczególnie dotyczący HLA uznawany jest za znaczący czynnik usposabiający do chorób o podłożu autoimmunologicznym takich jak stwardniające zapalenie dróg żółciowych czy autoimmunologiczne zapalenie wątroby. Jednak badania dotyczące pacjentów z NDŻ nie przyniosły do tej pory zgodnych wyników. Pojedyncze doniesienia wskazują na większą częstość występowania HLA-Cw4/7, HLA-B12 oraz HLA B8 i DR3 [42,43].

Etiologia wirusowa

Doniesienia o czasowo-regionalnym skupieniu zachorowań na NDŻ mogą przemawiać za teorią uszkodzenia dróg żółciowych w skutek działania zewnętrznego/wirusowego czynnika środowiskowego w okresie ciąży [43]. Nieliczne prace nad wirusami zapalenia wątroby typu A, B i C nie potwierdzają ich znaczenia, choć antygeny HBV były wykrywane w wątrobach pacjentów z NDŻ [44]. Wirus różyczki z uwagi na brak wzrostu zachorowań podczas epidemii raczej nie odgrywa roli etiologicznej.

Cytomegalowirus (CMV) przez wiele lat był wymieniany jako możliwy czynnik etiologiczny z uwagi na relatywnie większy odsetek infekcji u dzieci z NDŻ i noworodkowym zapaleniem wątroby (NZW) [45]. Fishler i wsp. wykazali większą częstość występowania przeciwciał przeciw CMV u matek niemowląt z NDŻ, a co więcej stwierdzili DNA wirusa w wątrobach 9 z 18 dzieci z NDŻ [46]. Jednak grupa kanadyjska opisująca badania metodą hybrydyzacji *in situ* oraz metodą PCR wycinków pobranych z wątroby od 12 dzieci pod kątem obecności CMV-DNA nie potwierdziła obecności cząstek wirusa [47]. Ostatnio Fjaer i wsp. u 9 z 10 dzieci z NDŻ stwierdzili wykładniki zakażenia wirusowego: CMV wykryto w surowicy 4 dzieci, a wirusa Epstein-Barr u 5 dzieci. CMV-DNA obecne było w 2 biopsatach wątrobowych, EBV-DNA w jednym [48]. Rola CMV nie była do tej pory zweryfikowana w badaniach na większej liczbie pacjentów.

Zainteresowanie wirusami z grupy *reovirus* i *rotavirus* wynika głównie z badań prowadzonych na zwierzętach. Szczególnie reovirus typ 3 oraz rotavirus typ C mogą mieć związek z NDŻ. U myszy, oba patogeny powodują uszkodzenie dróg żółciowych utrzymujące się po wygaśnięciu aktywnej infekcji i morfologicznie odpowiadające zmianom w NDŻ u dzieci [49,50]. Jednak wyniki kolejnych badań u niemowląt zarówno oparte o oznaczenia przeciwciał w surowicy, jak i analizę tkanki wątrobowej są rozbieżne [51-53]. Udział innych wirusów, takich jak HPV (ang. *Human papilloma virus*), HHV-6 (ang. *Human herpesvirus 6*) oraz retrowirusów również nie jest jak do tej pory potwierdzony i wymaga dalszych badań [54-57].

Zaburzenia ukrwienia

Propozycje naczyniowo-niedokrwienieniowej etiologii NDŻ oparte są głównie na badaniach eksperymentalnych [58]. Przewody żółciowe zaopatrywane są w krew wyłącznie z tętnicy wątrobowej. Zaburzenia ukrwienia mogą prowadzić do przewężeń podobnie jak u pacjentów po przeszczepie wątroby. Niektórzy autorzy przedstawiają również anomalie rozgałęzień tętnicy wątrobowej w NDŻ [59] co nie wiąże się jednak z pogorszeniem rokowania (obserwacje własne).

Uszkodzenie toksyczne

Ekspozycja matek w ciąży na toksyny zewnętrzne była rozważana pod kątem patogenyzy NDŻ, ale do tej pory w piśmiennictwie nie ma żadnych dowodów popierających tę hipotezę. Jedyny interesujący raport dotyczy toksycznego uszkodzenia wątroby u jagniąt i cieląt, klinicznie przypominający NDŻ. Harper i wsp. [60] opisał dwa szczyty zachorowań w ciągu 4 tygodni od urodzenia u 300 jagniąt oraz 9 cieląt w Nowej Walii i Australii. Drogi żółciowe i pęcherzyk żółciowy były całkowicie zwłókniałe, a w wątrobie obecna była proliferacja przewodów żółciowych, zapalenie i włóknienie, co wiązano z toksycznym działaniem fitotoksyn i mitotoksyn na pastewnych terenach zalewowych w latach o szczególnie niskim poziomie wody.

Mechanizmy obumierania komórek

Śmierć komórek może się odbywać w mechanizmie nekrozy lub apoptozy. Pierwszy proces związany jest z natychmiastowym obumarciem komórki w wyniku działającego czynnika uszkodzającego. Apoptoza to zaprogramowany mechanizm stopniowego obumarcia komórki, który po raz pierwszy zaproponowali w 1972 roku John Kerr, Andrew Wyllie i Alastair Currie [61]. Próbę wyjaśnienia udziału mechanizmów apoptozy w NDŻ rozpoczął Funaki i wsp. [62] sugerując jej rolę w przebudowie embrionalnej tworzących się dróg żółciowych. Ostatnio coraz częściej przedstawiany jest model uszkodze-

nia cholestatycznego wątroby z udziałem drogi sygnałowej zapoczątkowanej generacją wolnych rodników tlenowych [63]. Toksyczne działanie hydrofobowych kwasów żółciowych zapoczątkowuje kaskadę reakcji prowadzących do aktywacji powierzchniowych receptorów śmierci komórkowej (CD95/Fas oraz TRAIL) oraz uwolnienie mitochondrialnych czynników promujących apoptozę [64].

Ostatnio Mao-Meng i wsp. wykazali, iż początkowe stadia niedrożności dróg żółciowych mogą być związane z nasiloną reakcją zapalną, uszkodzeniem DNA oraz mitochondriów, co objawiało się podwyższeniem immunoreaktywnej 8-hydroxydeoxyguanozyny oraz spadkiem liczby mitochondriów [65].

Podsumowanie

Niewyjaśniona patogenyza NDŻ związana z ograniczeniami badań molekularnych oraz z wieloletnim brakiem odpowiedniego modelu zwierzęcego choroby to główne przyczyny pytań jakie nagromadziły przez lata zmagania z tą enigmatyczną chorobą. Np. jak wiele dzieci z rozpoznaniem niedrożności dróg żółciowych ma inną chorobę wątroby, naśladującą swoim obrazem klinicznym oraz charakterem uszkodzenia NDŻ? Co odpowiada za postęp choroby w grupie pacjentów, u których uzyskano prawidłowy pooperacyjny odpływ żółci i co decyduje o optymalnym momencie zabiegu operacyjnego?

W ciągu ostatniej dekady ogromny postęp i nacisk, szczególnie ze strony ośrodków amerykańskich na współpracę w ramach wielośrodkowych badań nad NDŻ pozwala mieć nadzieję, iż w najbliższych latach odkryte zostaną kolejne elementy niezbędne do ostatecznego wyjaśnienia patogenyzy NDŻ. W chwili obecnej badania skupiają się głównie na biologicznych mechanizmach uszkodzenia wątroby, szczególnie na nieprawidłowej odpowiedzi zapalnej oraz uwarunkowaniu genetycznym. Próby ustalenia zewnętrznych czynników sprawczych jak na razie zeszły na drugi plan.

Piśmiennictwo:

1. Sokol RJ: Swiss Outcomes in Biliary Atresia: Are There Lessons to Be Learned? *J Pediatr Gastr Nutr*, 46: 238–240
2. Landing BH: Considerations of the pathogenesis of neonatal hepatitis, biliary atresia and choledochal cyst – the concept of infantile obstructive cholangiopathy. *Prog Pediatr Surg*, 1974; 6: 113–39
3. Pawłowska J: Dziecko z niedrożnością dróg żółciowych u progu XXI wieku. *Ped Pol*, 2000; 75(2): 99–102
4. Balistreri WF, Grand R, Hoofnagle JH i wsp: Biliary Atresia: Current Concepts and Research Directions. Summary of a symposium. *Hepatology*, 1996; 23: 1682–92
5. Bezerra JA: Potential Etiologies of biliary atresia. *Pediatr Transplant*, 2005; 9: 646–51
6. Schweitzer P, Kerrmans J: Discordant findings in extrahepatic bile duct atresia in 6 sets of twins. *Z Kinderchir*, 1988; 43: 72–75
7. Hyams JS, Glaser JH, Leichtner AM i wsp: Discordance for biliary atresia in two sets of monozygotic twins. *J Pediatr*, 1985; 107: 420–22
8. Mack C, Sokol R: Unraveling the pathogenesis and etiology of biliary atresia. *Pediatr Res*, 2005; 57(5): 87R–94R
9. Rolleston HD, Hayne LB: A case of congenital hepatic cirrhosis with obliterative cholangitis (congenital obliteration of the bile ducts). *BMJ*, 1901; 1: 758–60
10. Tan CE, Driver M, Howard ER i wsp: Extrahepatic biliary atresia: a first trimester event? Clues from light microscopy and immunohistochemistry. *J Pediatr Surg*, 1994; 29: 808–14
11. Tan CE, Davenport M, Driver M, Howard ER: Does the morphology of the extrahepatic biliary remnants in biliary atresia influence survival? A review of 205 cases. *J Pediatr Surg*, 1994; 29(11): 1459–64
12. Tan CE, Moscoso GJ: The developing human biliary system at porta hepatis level between 11 and 25 weeks of gestation: A way to understanding biliary atresia. Part 2. *Pathol Int*, 1994; 44: 600–10
13. Vijayan V, Tan CE: Developing human biliary system in three dimensions. *Anat Rec*, 1997; 249: 389–98
14. Desmet VJ: Congenital diseases of intrahepatic bile ducts. Variations on the theme "ductal plate malformation". *Hepatology*, 1992; 16: 1069–83
15. Lemaigre FP: Development of biliary tract. *Mech Dev*, 2003; 120: 81–87
16. Schmidt C, Bladt F, Goedecke S i wsp: Scatter factor/hepatocyte growth factor is essential for liver development. *Nature*, 1995; 373: 699–702
17. Stamatoglou SC, Enrich C, Manson MM, Hughes RC: Temporal changes in the expression and distribution of adhesion molecules during liver development and regeneration. *J Cell Biol*, 1992; 116: 1507–15
18. Knisely AS: Biliary tract malformations. *Am J Med Genet*, 2003; 122: 343–50
19. Clotman F, Lannoz VJ, Reber M i wsp: The onecut transcription factor HNF6 is required for normal development of the biliary tract. *Development*, 2002; 129: 1819–28
20. Coffinier C, Gresh L, Fiette L i wsp: Bile system morphogenesis defects and liver dysfunction upon targeted deletion of HNF1beta. *Development*, 2002; 129: 1829–39

21. Kohsaka T, Yuan ZR, Guo SX i wsp: The significance of human jagged 1 mutations detected in severe cases of extrahepatic biliary atresia. *Hepatology*, 2002; 36: 904–12
22. Mazziotti MV, Willis LK, Heuckeroth RO i wsp: Anomalous development of the hepatobiliary system in the INV Mouse. *Hepatology*, 1999; 30: 372–78
23. Yokoyama T, Copeland NG, Jenkins NA i wsp: Reversal of left-right asymmetry: A situs inversus mutation. *Science*, 1993; 260: 679–82
24. Shon P, Tsuchiya K, Lenoir D i wsp: Identification, genomic organization, chromosomal mapping and mutation analysis of the human INV gene, the ortholog of a murine gene implicated in left-right axis development and biliary atresia. *Hum Genet*, 2002; 110: 157–65
25. Bamford RN, Roessler E, Burdine RD i wsp: Loss-of-function mutations in the EGF-CFC gene CFC1 are associated with human left-right laterality defects. *Nat Genet*, 2000; 26: 365–69
26. Ware SM, Peng J, Zhu L i wsp: Identification and functional analysis of ZIC3 mutations in heterotaxy and related congenital heart defects. *Am J Hum Genet*, 2004; 74: 93–105
27. Broome U, Nemeth A, Hultcrantz R, Scheynius A: Different expression of HLA-DR and ICAM-1 in livers from patients with biliary atresia and Byler's disease. *J Hepatol*, 1997; 26: 857–62
28. Kobayashi H, Puri P, O'Brian DS i wsp: Hepatic overexpression of MHC class II antigens and macrophage-associated antigens (CD68) in patients with biliary atresia of poor prognosis. *J Pediatr Surg*, 1997; 32: 590–93
29. Nakada M, Nakada K, Kawaguchi F i wsp: Immunologic reaction and genetic factors in biliary atresia. *Tohoku J Exp Med*, 1997; 81: 41–47
30. Schreiber RA, Kleinman RE: Genetics, immunology and biliary atresia: an opening or a diversion? *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 1993; 16: 111–13
31. Mack CL, Tucker RM, Sokol RJ i wsp: Biliary atresia is associated with CD4+ Th1 cell mediated portal tract inflammation. *Pediatr Res*, 2004; 56: 79–87
32. Davenport M, Gonde C, Redkar R i wsp: Immunohistochemistry of the liver and biliary tree in extrahepatic biliary atresia. *J Pediatr Surg*, 2001; 36: 1017–25
33. Dillon P, Belchis D, Tracy T i wsp: Increased expression of intracellular adhesion molecules in biliary atresia. *Am J Pathol*, 1994; 145: 263–67
34. Tracy TF Jr, Dillon P, Fox ES i wsp: The inflammatory response in pediatric biliary disease: macrophage phenotype and distribution. *J Pediatr Surg*, 1996; 31: 121–25
35. Urushihara N, Iwagaki H, Yagi T i wsp: Elevation of serum interleukin-18 levels and activation of Kupfer cells in biliary atresia. *J Pediatr Surg*, 2000; 35: 446–49
36. Bezerra JA, Tiao G, Ryckman FC i wsp: Genetic induction of proinflammatory immunity in children with biliary atresia. *Lancet*, 2002; 360: 1563–59
37. Shivakumar P, Campbell KM, Sabla GE i wsp: Obstruction of extrahepatic bile ducts by lymphocytes is regulated by INF-gamma in experimental biliary atresia. *J Clin Invest*, 2004; 114: 322–29
38. Rose N, Bona C: Defining criteria for autoimmune diseases (Witebsky's postulates revised). *Immunol Today*, 1993; 14(9): 426–28
39. Vasiliauskas E, Targan S, Cobb L i wsp: Biliary atresia – an autoimmune disorder? *Hepatology*, 1995; 22: 87
40. Kerker N, Hadzic N, Davies ET i wsp: *De novo* autoimmune hepatitis after liver transplantation. *Lancet*, 1998; 351: 409–13
41. Hernandez HM, Kovarik P, Whittington PF, Alonso EM: Autoimmune hepatitis as a late complication of liver transplantation. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 2001; 32: 131–36
42. Rosenthal P, Woolf GM, Tyan DB: A striking association between HLA-C and biliary atresia. *Gastroenterology*, 1995; 108: A1158
43. Silveira TR, Salzano FM, Donaldson PT, Mieli-Vergani G i wsp: Association between HLA and extrahepatic biliary atresia. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 1993; 16: 114–17
44. Tanaka M, Ishikawa, T, Samaguchi M: The pathogenesis of biliary atresia in Japan: immunohistochemical study of HBV – associated antigen. *Acta Pathol Jpn*, 1993; 43: 360–66
45. Tarr PI, Haas JE, Christie DL: Biliary atresia, cytomegalovirus and age at referral. *Pediatrics*, 1996; 97(6 Pt 1): 828–31
46. Fishler B, Ernst A, Forsgren M i wsp: The viral association of neonatal cholestasis in Sweden: a possible link between cytomegalovirus infection and extrahepatic biliary atresia. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 1998; 27: 57–64
47. Jevon JP, Dimmick JE: Biliary atresia and cytomegalovirus infection: a DNA study. *Pediatric Develop Pathology*, 1999; 2: 11–14
48. Fajer RB, Bruu A-L, Nordbo SA: Extrahepatic biliary atresia and viral involvement. *Pediatr Transplant*, 2005; 9: 68–73
49. Bangaru B, Morecki R, Glaser JH i wsp: Comparative studies of biliary atresia in the human newborn and reovirus-induced cholangitis in weanling mice. *Lab Invest*, 1980; 43: 456–62
50. Riepenhoff-Talty M, Schaeckel K, Clark HF i wsp: Group A rotaviruses produce extrahepatic biliary obstruction in orally inoculated newborn mice. *Pediatr Res*, 1993; 33 (4 Pt 1): 394–99
51. Morecki R, Glaser JH, Cho S i wsp: Biliary atresia and reovirus typ 3 infection. *N Engl J Med*, 1982; 307: 481–84
52. Brown WR, Sokol RJ, Levin MJ i wsp: Lack of correlation between infection with reovirus 3 and extrahepatic biliary atresia and neonatal hepatitis. *J Pediatr*, 1988; 113: 670–76
53. Riepenhoff-Talty M, Gouvea V, Evans MJ i wsp: Detection of group C rotavirus in infants with extrahepatic biliary atresia. *J Infect Dis*, 1996; 174: 8–15
54. Drut R, Drut RM, Gomez MA i wsp: Presence of human papillomavirus in extrahepatic biliary atresia. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 1998; 27: 530–35
55. Drut R, Gomez MA, Drut RM i wsp: Human papillomavirus, neonatal giant cell hepatitis and biliary duct atresia. *Acta Gastroenterol Latinoam*, 1998; 28: 27–31
56. Domiati-Saad R, Dawson DB, Margraf LR i wsp: Cytomegalovirus and human herpesvirus 6, but not human papillomavirus, are present in neonatal giant cell hepatitis and extrahepatic biliary atresia. *Pediatr Dev Pathol*, 2000; 3: 367–73
57. Mason AL, Xu L, Guo L i wsp: Detection of retroviral antibodies in primary biliary cirrhosis and other idiopathic biliary disorders. *Lancet*, 1998; 351: 1620–24
58. Klippel CH: A new theory of biliary atresia. *J Pediatr Surg*, 1972; 7: 651–54
59. Ho CW, Shioda K, Shirasaki K i wsp: The pathogenesis of biliary atresia: a morphological study of the hepatobiliary system and the hepatic artery. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 1993; 16: 53–60
60. Harper P, Plant JW, Linger DB: Congenital biliary atresia and jaundice in lambs and calves. *Aust Vet J*, 1990; 67: 18–22
61. Margaret CC, Winterford CM, Walker NI: Apoptosis. *Am J Surg Pathol*, 1997; 21: 88–101
62. Funaki N, Sasano H, Shizawa S i wsp: Apoptosis and cell proliferation in biliary atresia. *J Pathol*, 1998; 186: 429–33
63. Sokol RJ, M Devereaux, R Dahl, E Gumprecht: "Let the bile be" Understanding Hepatic Injury in Cholestasis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 2006; 43: S4–9
64. Guicciardi ME, Gores GJ: Apoptosis: a mechanism of acute and chronic liver injury. *Gut*, 2005; 54: 1024–33
65. Mao-Meng T, Tsu-Ksung L, Fang-Ying K i wsp: Early stage of biliary atresia is associated with significant changes in 8-hydroxydeoxyguanosine and mitochondrial copy number. *J Pediatr Gastr Nutr*, 2007; 45: 329–34

Zaburzenia hemodynamiczne w obrębie krążenia układowego jako przyczyna powikłań nadciśnienia wrotnego u chorych z marskością wątroby

Hemodynamic abnormalities in systemic circulation as source of complications of portal hypertension in cirrhotic patients

Marek Hartleb

Katedra i Klinika Gastroenterologii i Hepatologii, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Summary: In patients with cirrhosis and portal hypertension the splanchnic vasodilatation is the principal pathology in systemic circulation. Progressive fall in peripheral vascular resistance is responsible for neurohormonal dysregulation, which is associated with activation of potent vasoconstrictor and sodium-retaining mechanisms. Peripheral vasodilatation, increased activity of sympathetic system and hypervolemia form a hyperdynamic circulation in both the systemic and pulmonary vascular bed. High-output state leads to portal cardiomyopathy affecting systolic and diastolic cardiac functions. Pulmonary dysfunction involves diffusing abnormalities with the development of the hepatopulmonary syndrome and less frequently portopulmonary hypertension. Late cirrhosis is associated with abnormalities in blood distribution resulting in coexistence of hyper- and hypo- perfused organs. Hypoperfused kidneys underlie functional renal failure (hepatorenal syndrome). Despite lack of specific therapy for cardiac and pulmonary complications of portal hypertension, pertinent constriction of splanchnic arterial vasculature prevents many disastrous effects of hyperdynamic circulation.

Słowa kluczowe: marskość wątroby • nadciśnienie wrotne • zespół wątrobowo-nerkowy • zespół wątrobowo-płuczny • nadciśnienie wrotno-płucne • kardiomiopatia wrotna • nadciśnieniowa gastropatia wrotna

Key words: liver cirrhosis • portal hypertension • hepatorenal syndrome • hepatopulmonary syndrome • portopulmonary hypertension • portal cardiomyopathy • hypertensive portal gastropathy

Adres do korespondencji: Prof. Marek Hartleb, Katedra i Klinika Gastroenterologii i Hepatologii, Śląski Uniwersytet Medyczny, ul. Medyków 14, 40-752 Katowice, Polska, e-mail: lakmus@poczta.wprost.pl

Wstęp

Obraz kliniczny u chorych z marskością wątroby jest zdominowany przez powikłania nadciśnienia wrotnego, którymi są wodobrzusze, krwawiące żylaki przełyku lub encefalopatia. Patologia naczyniowa w marskości wątroby nie ogranicza się jednak do układu wrotnego. Przyczyną zaburzeń hemodynamicznych w krążeniu układowym są zmiany na obwodzie układu tętniczego o nierozpoznanej do końca patogeniezie. Polegają one na wazodilatacji tętniczek i tworzeniu przetok tętniczo-żylnych. Zmiany te są najbardziej nasilone na poziomie mikrokrażenia trzewnego. Spadek obwodowe-

go oporu tętniczego jest odpowiedzialny za rozwój krążenia hiperdynamicznego, którego cechami są niskie ciśnienie tętnicze, zwiększona pojemność minutowa oraz przyspieszona akcja serca.

Konsekwencją obwodowej wazodilatacji tętniczej jest spadek efektywnej objętości krwi w obrębie centralnego łóżyska naczyniowego, prowadzący do pobudzenia hormonalnych mechanizmów wazopresyjnych i sodoretencyjnych. Mechanizmy te mają charakter adaptacyjny i przez długi okres skutecznie przeciwdziałają spadkowi układowego ciśnienia tętniczego i perfuzji narządowej. Wysokie stężenia wazokonstryktorów

we krwi z współistniejącą wazodilatacją trzewną mają wyjątkowo niekorzystny wpływ na ciśnienie krwi w żyłę wrotnej, bowiem pierwszy czynnik zwiększa wewnątrzwątrobowy opór naczyniowy, a drugi jest odpowiedzialny za wzrost napływu krwi do układu wrotnego [1].

Krążenie hiperdynamiczne połączone z redystrybucją krwi do trzewnego układu żylnego zagraża prawidłowej pracy serca i perfuzji narządów. Zjawisko to prowadzi do wielonarządowej dysfunkcji pochodzenia naczyniowego. Do narządowych powikłań nadciśnienia wrotnego zalicza się 1) niewydolność nerek jako objaw zespołu wątrobowo-nerkowego, 2) niewydolność oddechową będącą wynikiem zespołu wątrobowo-płucnego, 3) niewydolność serca na podłożu kardiomiopatii wrotnej lub nadciśnienia płucnego, 4) krwawienia z przewodu pokarmowego spowodowane wrotną gastropatią lub kolopatią oraz 5) zaburzenia perfuzji mózgu [1–4]. Narządowe powikłania mają w większości charakter czynnościowy, a ich występowanie nie zależy wyłącznie od stopnia wazodilatacji trzewnej, lecz także od wydolności lokalnych mechanizmów homeostatycznych nadzorujących perfuzję poszczególnych narządów.

Hiperdynamiczne krążenie układowe

Krążenie układowe u chorych z marskością wątroby odznacza się cechami hiperdynamicznymi. Taki stan krążenia wynika z obwodowej wazodilatacji, obecności kolaterali wrotno-układowych, zwiększonej objętości krążącej krwi oraz hiperkinezy mięśnia sercowego.

Tętnicza wazodilatacja i zwiększony przepływ trzewny

Tętnicza wazodilatacja została udokumentowana u chorych ze zdekompenowaną marskością wątroby w obrębie przedramienia i dłoni, kończyn dolnych, płuc, mózgu, a przede wszystkim narządów trzewnych [4]. U zwierząt z nadciśnieniem wrotnym trzewny przepływ krwi jest znacznie większy niż u zwierząt zdrowych. Wcześniejsze badania upatrywały przyczyny wazodilatacji trzewnej w hormonach przewodu pokarmowego przedostających się łatwo do krążenia układowego z powodu ich upośledzonego metabolizmu wątrobowego i/lub obecności zewnątrz- i wewnątrzwątrobowych kolaterali wrotno-układowych. W kręgu zainteresowania do dnia dzisiejszego znajdują się VIP, CGRP (*calcitonin gene related peptide*), adrenomedulina, substancja P, glukagon oraz sole kwasów żółciowych. Stężenia tych związków we krwi chorych z marskością wątroby są na ogół podwyższone, a somatostatyna, która zmniejsza ich uwalnianie jednocześnie zwiększa obwodowy opór naczyniowy [5].

W ostatnim okresie najwięcej uwagi poświęca się czynnikom śródbłonkowym. Śródbłonek tętniczek krążenia układowego, w szczególności zaś tętniczek żołądkowych i jelitowych jest nadmiernie aktywny w zakresie produkcji NO. Zwiększone uwalnianie NO jest wynikiem wzrostu aktywności śródbłonkowej syntazy NO (eNOS) w odpowiedzi na stres mechaniczny tych komórek, spowodowany zwiększonym przepływem krwi. Ważną rolę w pobudzeniu eNOS odgrywa także naczyniowy śródbłonkowy czynnik wzrostowy (vascular endothelial growth factor; VEGF), który po połączeniu z odpowiednim receptorem aktywuje fosforylację eNOS. U zwierząt z nadciśnieniem wrotnym stwierdzono w obrębie mikrokrążenia trzewnego zwiększoną ekspresję VEGF, która korelowała ze

stężeniem eNOS. Zastosowanie inhibitora receptora VEGF typu 2 (SU5416) obniżało w modelu eksperymentalnym ciśnienie wrotne [6]. U chorych z marskością stwierdzono z kolei zwiększone wydalanie NO w powietrzu wydechowym, którego wartość korelowała ze stopniem systemowych zaburzeń hemodynamicznych [7]. Wyniki badań eksperymentalnych wskazują na nadprodukcję układową NO, która wyprzedza rozwój krążenia hiperdynamicznego. Wynika z tego, że NO jest odpowiedzialny za tętniczną wazodilatację trzewną i małą wrażliwość naczyń tego układu na działanie wazokostriktorów. Farmakologiczna blokada NOS powodowała większe wzrosty ciśnienia krwi u szczurów z marskością niż zdrowych zwierząt kontrolnych [1].

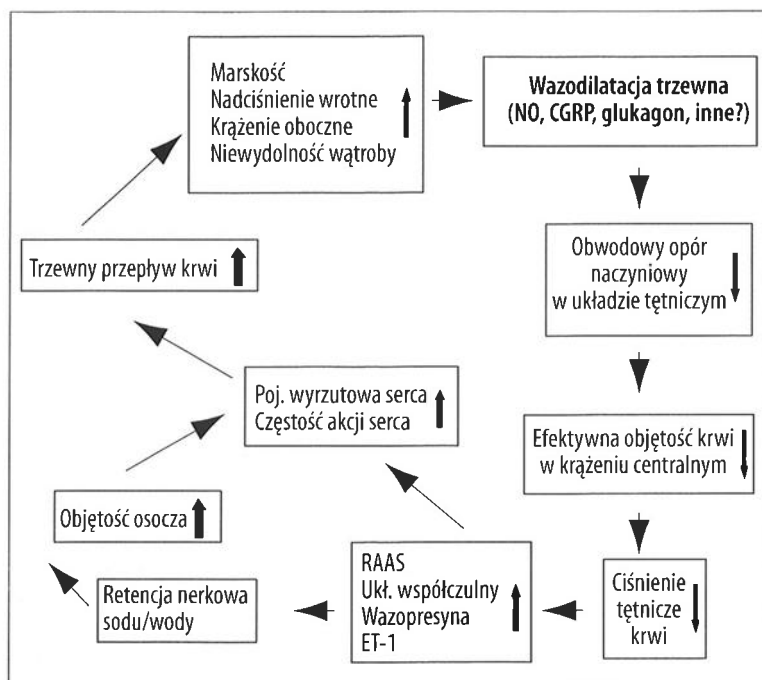
Nie wiadomo, czy NO jest jedynym mediatorem relaksującym mięśniówkę gładką naczyń tętniczych. Spośród czynników śródbłonkowych wymienia się też prostacyclinę (PGI₂), której stężenia we krwi chorych z marskością wątroby są podwyższone. Potencjalnymi wazodilatatorami są też tlenek węgla i anandamid. Tlenek węgla jest końcowym produktem katabolizmu hemoglobiny, powstającym przy udziale oksygenazy hemowej. Związek ten zwiększa stężenie cGMP w miocytach naczyń tętniczych. Zwiększoną ekspresję oksygenazy hemowej stwierdzono w trzewnym układzie tętniczym zarówno u szczurów jak i ludzi z marską wątrobą. Anandamid jest jednym z endogennych ligandów endokannabinoidowych, wiążących się z receptorem CB₁. Pobudzenie tego receptora powoduje wazodilatację trzewną. W patogenezie wazodilatacji trzewnej poza czynnikami rozkurczającymi naczynia istotną rolę odgrywa także zmniejszona reaktywność miocytów wobec endogennych substancji wazopresyjnych.

Wazodilatacja trzewna tłumaczy większość systemowych powikłań hemodynamicznych obserwowanych u chorych z marskością wątroby (Rycina 1). Patofizjologiczne znaczenie wazodilatacji trzewnej polega z jednej strony na utrzymywaniu wysokiego ciśnienia wrotnego (portal inflow) mimo obecności kolaterali wrotno-układowych, z drugiej zaś na zaburzeniu równowagi w homeostazie ciśnieniowej układu tętniczego. Trzewna wazodilatacja u chorych z marskością ma charakter postępujący, a niezdolność mechanizmów adaptacyjnych do utrzymania prawidłowego ciśnienia tętniczego jest źródłem większości powikłań nadciśnienia wrotnego (Rycina 2).

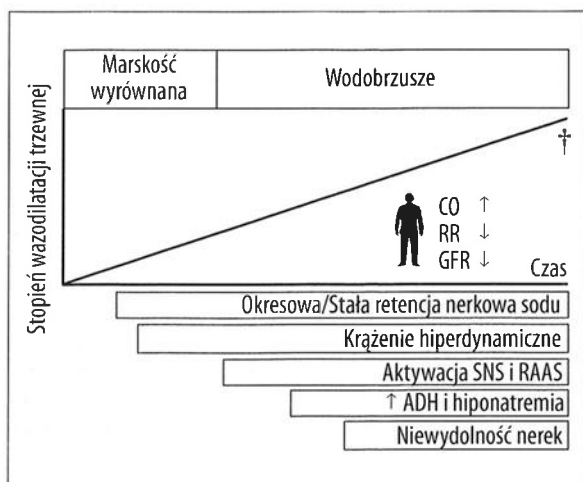
Kolaterale wrotno-układowe

Rozwój wrotno-układowego krążenia obocznego jest reakcją układu naczyniowego na wysokie ciśnienie wrotne. Naczynia oboczne mogą pojawiać się w wielu trzewnych i pozatrzewnych obszarach naczyniowych. Proces kolateralizacji polega na zaadaptowaniu do zwiększonego przepływu krwi już istniejących szlaków naczyniowych oraz tworzeniu na poziomie mikrokrążenia nowych naczyń w procesie angiogenezy. Siłą napędową w powstawaniu kolaterali wydaje się być również zwiększony przepływ trzewny krwi, bowiem leki zmniejszające ten przepływ hamują rozwój krążenia obocznego [1].

Najważniejszą rolę w powstawaniu nowych struktur naczyniowych odgrywa VEGF. Czynnik ten indukuje migrację i proliferację komórek śródbłonka oraz wydłuża czas przeżycia tych komórek, jednocześnie zwiększając na ich powierzchni ekspresję molekuł adhezyjnych. W badaniach na szczurach z nadciśnieniem wrotnym wykazano równoległe wzrosty ekspresji CD31 (białko powierzchniowe proliferujących



Rycina 1. Patofizjologiczne znaczenie wazodilatacji trzewnej dla rozwoju zespołu dysfunkcji hemodynamicznej.



Rycina 2. Związek między stopniem wazodilatacji trzewnej i zaburzeniami hormonalnymi, prowadzącymi do rozwoju krążenia hiperdynamicznego i zespołu wątrobowo-nerkowego. CO – pojemność minutowa serca; RR – ciśnienie tętnicze; GFR – przesączanie kłębkowe nerek; SNS – układ współczulny, RAAS – układ renina-angiotensyna-aldosteron, ADH – wazopresyna.

komórek śródbłonkowych), VEGF i receptora typu 2 VEGF. Zastosowanie inhibitora receptora-2 VEGF (SU5416) miało hamujący wpływ na rozwój obocznego krążenia wrotno-systemowego [8].

Poza pożądanym efektem odbarczającym nadciśnieniowy układ wrotny, krążenie oboczne jest źródłem wielu zjawisk niekorzystnych. Przeciek wrotno-układowy stanowi poważne obciążenie dla mięśnia sercowego i jest drogą przenikania do krążenia systemowego (z pominięciem wątroby) toksyn jelitowych. Bezpośrednią konsekwencją krążenia obocznego jest też częściowe lub całkowite pozbawienie wątroby unaczynienia wrotnego. Powyższe zjawiska odgrywają istot-

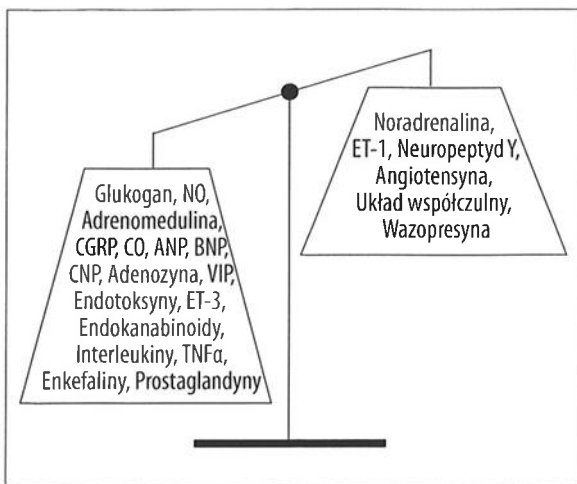
ną rolę w patogenezie kardiomiopatii wrotnej, encefalopatii wątrobowej i niewydolności wątroby.

Hipertrofia

Bezpośrednią przyczyną dodatniego bilansu sodowego i wodnego u chorych z marskością wątroby jest hiperaldosteronizm, wysoka aktywność nerkowego układu współczulnego oraz zwiększone uwalnianie wazopresyny w podwzgórzu. Z tego powodu chorzy z dużym nadciśnieniem wrotnym eliminują drogą nerkową wyłącznie śladowe ilości sodu. Ze względu na obecność obwodowej wazodilatacji tętniczej oraz tendencję do nieprawidłowej dystrybucji krwi, hormonalne mechanizmy sodoretencyjne ulegają szczególnej aktywacji w spionizowanej pozycji ciała. Tak, więc nerkowa retencja sodu jest zjawiskiem nasilającym się w ciągu dnia i słabnącym w okresie spoczynku nocnego [4]. Pozycja leżąca sprzyja wydalaniu sodu przez nerki z powodu „centralizacji krążącej krwi”, co wyraża się wzrostem stężenia we krwi przedsionkowego peptydu natriuretycznego (ANP) oraz spadkiem stężenia aldosteronu.

Hiperkineza serca

Zwiększoną pojemność wyrzutową serca u chorych z marskością opisano ponad 50 lat temu [9]. Pojemność wyrzutowa zależy od wielkości powrotu żylnego, częstości akcji serca oraz kurczliwości mięśnia sercowego. Czynniki te znajdują się pod kontrolą autonomicznego układu nerwowego. Zjawiskami, które istotnie zwiększają minutową pojemność wyrzutową serca są wzrost aktywności adrenergicznej, wazodilatacja tętnicza, zwiększona objętość oszocza oraz obecność naczyniowych mikropretoków tętniczo-żylnych. Wszystkie z wymienionych czynników są obecne u chorych z niewyrównaną marskością lub też odgrywają wybiórczą rolę na wcześniejszych etapach chorobowych. U chorych z marskością wątroby praca serca charakteryzuje się przyspieszoną akcją i zwiększonym rzutem. Hiperkineza serca jest związana z zaawansowaniem marskości, bowiem nie stwierdza się jej we wczesnych stadiach choroby. Badania hemodynamiczne



Rycina 3. Zaburzenie równowagi między związkami o właściwościach wazokonstrykcyjnych i wazodilatacyjnych. NO – tlenek azotu; CGRP – białko zależne od genu kalcytoniny; CO – tlenek węgla; ANP – natriuretyczny peptyd przedsionkowy; BNP – natriuretyczny peptyd mózgowy; CNP – peptyd natriuretyczny typu C; VIP – naczynioaktywny peptyd jelitowy; ET-1 i ET-3 – endotelina typu 1 i 3; TNF- α – czynnik martwicy guza alfa.

przeprowadzone w pozycji stojącej i leżącej wskazują, że pozycja leżąca ujawnia lub nasila hiperkinezę serca [10]. Ze względu na fakt, iż w pozycji leżącej dochodzi do częściowej deaktywacji układów wazopresyjnych można sądzić, że obwodowa wazodilatacja ma największy udział w rozwoju hiperkinezy mięśnia sercowego. Podejrzewa się, że hiperkinezytyczne serce nie dotrzymuje kroku postępującej wazodilatacji w układzie trzewnym, a tym samym nie jest w stanie – mimo zwiększonego rzutu – utrzymać na adekwatnym poziomie układowego ciśnienia krwi i perfuzji nerkowej.

Narządowe zmiany dystrybucji i przepływu krwi

U chorych z marskością objętość krwi i osocza są zwiększone, a ich dystrybucja w poszczególnych obszarach naczyniowych jest nieprawidłowa, przy czym stopień tych nieprawidłowości jest zależny od zaawansowania choroby wątroby. Badania przeprowadzone u zwierząt i ludzi ze zdekompenowaną marskością wskazują na zmniejszenie objętości krwi w obrębie dużych naczyń tętniczych, jam serca i krążenia płucnego [4]. Z drugiej strony stwierdza się zwiększoną objętość krwi w obrębie trzewnego łożyska naczyniowego. Za zjawisko to jest odpowiedzialna tętnicza wazodilatacja, która lokuje dużą objętość krwi w żylnych naczyniach trzewnych, tworzących ze względu na obecność kolaterali układ naczyniowy o dużej pojemności. Z powyższego powodu u większości chorych z zaawansowaną marskością wątroby po podaniu dożylnym płynów zamiast spodziewanego wzrostu ciśnienia tętniczego obserwuje się jego spadek. Z kolei przetoczenie albumin lub roztworów hiperosmotycznych poprawia perfuzję narządową, zwiększając objętość krwi w wyniku przesączenia płynu z przestrzeni śródkomórkowej do łożyska naczyniowego. Albuminy wykorzystuje się do wypełniania układu naczyniowego po dużej paracentezie, która nasila obwodową wazodilatację.

Spadek efektywnej objętości krwi w krążeniu centralnym jest odpowiedzialny za odbarczenie wysokociśnieniowych baro-

receptorów, które na drodze odruchowej aktywują układ współczulny, układ renina-angiotensyna-aldosteron oraz uwalnianie wazopresyny w mechanizmie nieosmotycznym. Być może, iż układ współczulny jest także aktywowany na drodze niezwiązanej z centralną hipowolemią np. w mechanizmie neurogenym z wysokociśnieniowego układu wrotnego. Pobudzenie neurohormonalne z jednej strony przeciwdziała wazodilatacji trzewnej, z drugiej zaś zwiększa objętość osocza w wyniku nerkowej retencji sodu i wody.

Małe naczynia tętnicze są u chorych z marskością wątroby obiektem działania wielu związków o działaniu wazodilatacyjnym i wazokonstrykcyjnym (Rycina 3). Wypadkowa działania tych związków decyduje o napięciu spoczynkowym tętniczek i o przepływie krwi przez dany narząd. Wielkość przepływu jest wynikiem rozkładu oporów naczyniowych w różnych obszarach naczyniowych. Przepływ krwi może więc ulegać zmianom w zależności od zaawansowania choroby wątroby, stanu czynnościowego mięśnia sercowego oraz wolemii. Mimo zwiększonej pojemności wyrzutowej serca u chorych ze zdekompenowaną marskością do niektórych narządów dociera więcej krwi, do innych mniej, a są również obszary o prawidłowej perfuzji. Obszarem naczyniowym, który jest narażony na największe spadki przepływu krwi są nerki. Wazokonstrykcja naczyń zaopatrujących zewnętrzną część kory nerkowej leży u podłoża zespołu wątrobowo-nerkowego. Na wielkość przepływu krwi w poszczególnych narządach istotny wpływ mogą wywierać stosowane leki np. albuminy, beta-blokery lub diuretyki.

Zespół dysfunkcji hemodynamicznej

Zjawisko interakcji hemodynamicznych spowodowanych wazodilatacją w jednych obszarach naczyniowych i wazokonstrykcją w innych stanowi podłoże do hiperperfuzji lub hipoperfuzji poszczególnych narządów. Zaburzenia hemodynamiczne leżą u podłoża narządowych zmian czynnościowych, które nazywa się zespołem dysfunkcji hemodynamicznej. Czynnościowe zaburzenia ważnych dla życia narządów takich jak serce, mózg, nerki czy jelito pogarszają wskaźniki przeżywalności chorych z marskością i mogą stanowić poważniejsze zagrożenie dla życia od lepiej znanych powikłań nadciśnienia wrotnego jak krwotok z żyłaków przełyku bądź wodobrzusze. W kilku badaniach stwierdzono zależność pomiędzy niskim ciśnieniem tętniczym krwi a ciężkością marskości oraz czasem przeżycia [11,12].

Zespół wątrobowo-nerkowy

Zespół wątrobowo-nerkowy (hepato-renal syndrome; HRS) jest czynnościową niewydolnością nerek, rozwijającą się u chorych ze schyłkową marskością wątroby. Podłożem HRS jest spadek nerkowego przepływu krwi i przesączenia kłębkowego. Zespół ten rozpoznaje się w przypadku stężenia kreatyniny we krwi $>1,5$ mg/dl i/lub spadku klirensu kreatyniny <40 ml/min [13]. HRS został podzielony na 2 typy zależnie od dynamiki procesu chorobowego. W HRS typu 1 w okresie 2-tygodniowej obserwacji dochodzi do podwojenia stężenia kreatyniny do wartości $>2,5$ mg/dl. Niewydolność nerek jest najczęściej konsekwencją pojawienia się czynników nasilających wazodilatację trzewną i/lub upośledzających ukrwienie nerek. Rozwój HRS typu 1 jest związany z 80-procentową śmiertelnością [13].

HRS typu 2 jest formą umiarkowanego upośledzenia zdolności wydzielniczej nerek ze stabilną kreatyniną na po-

zianie 1,5–2,5 mg/dl. Rozpoznawalność subtelnej niewydolności nerek może być utrudniona z uwagi na fakt, iż u części chorych z małą masą mięśniową (mała produkcja kreatyniny) obniżonym wartościom kreatyniny przesłania nie towarzyszy wzrost stężenia kreatyniny.

Warunkiem rozpoznania HRS jest wykluczenie posocznicy, wstrząsu pokrwotocznego, odwodnienia, choroby mięszonej nerek i obstrukcji dróg moczowych. Test polegający na ocenie kreatyninemia po przetoczeniu 1,5 litra fizjologicznego roztworu NaCl z równoczesnym odstawieniem diuretyków dobrze różnicuje HRS z hipowolemią. Zdolność zęszczania moczu jest w HRS zachowana, a nerkowa retencja sodu skrajnie wysoka (wydalanie sodu <10 mEq/l). Nadmierna reabsorpcja sodu odbywa się w całym nefronie i jest zależna zarówno od wysokich stężeń aldosteronu (cewka dystalna i kanaliki zbiorcze), jak również od aktywacji nerkowego układu współczulnego (cewka proksymalna, pętla Henlego, cewka dystalna).

U chorych z nadciśnieniem wrotnym przedkłębkowe naczynia tętnicze są obiektem działania hormonów o działaniu wazokonstrykcyjnym, przede wszystkim noradrenaliny, angiotensyny oraz wazopresyny. Ponadto obecność nasilonej wazodilatacji trzewnej (mały opór trzewny) sprawia, że do nerek dociera mniejsza niż w warunkach fizjologicznych frakcja pojemności wyrzutowej serca. Mimo istnienia tak niekorzystnych warunków przez długi czas perfuzja nerek u chorych z marskością jest zachowana dzięki skutecznemu antagonizowaniu efektów wazokonstryktorów zwiększoną produkcją nerkową tlenu azotu, peptydu natriuretycznego, a zwłaszcza prostacykliny [14]. Ta chwiejna równowaga może jednak zostać łatwo zakłócona przez czynniki, które u zdrowych osób nie stwarzają ryzyka niewydolności nerek. W badaniach na zwierzętach z nadciśnieniem wrotnym zahamowanie produkcji któregośkolwiek z wymienionych związków wazodilatacyjnych powoduje spadek zarówno przepływu krwi przez nerki jak i przesączu kłębkowego. Z kolei jednoczesne zahamowanie nerkowej produkcji prostacykliny i tlenu azotu jest równoznaczne z indukcją niewydolności nerek. Z powyższych powodów podaż niesteroidowych leków przeciwzapalnych pacjentom ze zdekompenowaną marskością wątroby wiąże się z dużym ryzykiem rozwoju HRS. Silnie niedokrwiona kora nerkowa ogranicza z kolei lokalną syntezę związków wazodilatacyjnych oraz uruchamia produkcję angiotensyny, adenozyiny i endoteliny-1 [15]. Wytwarza się więc mechanizm „błędnego koła”, nasilający niedokrwienie nefronu.

Najczęstszą przyczyną rozwoju HRS typu 1 jest spontaniczne zapalenie otrzewnej lub inna infekcja bakteryjna. HRS bywa również częstym powikłaniem krwotoku z żyłaków przełyku, zabiegu chirurgicznego lub ostrego uszkodzenia wątroby, nakładającego się na marskość tego narządu. Spośród czynników jatrogennych oprócz leków przeciwzapalnych niepokojąco częstymi przyczynami HRS są: indukcja nadmiernej diurezy, zaniechanie podaży albumin po wykonaniu dużej paracentezy oraz stosowanie leków hipotensyjnych (np. losartan, enalapril, klonidyna).

Gastropatia i kolopatia wrotna

W 1985 roku McCormack [16] opisał zmiany endoskopowe błony śluzowej żołądka u chorych z marskością wątroby i zaproponował dla nich nazwę „gastropatii zastoinowej”. Późniejsze badania eksperymentalne i kliniczne wykazały

jednak, że u podłoża nadciśnieniowej gastropatii wrotnej (hipertensive portal gastropathy; HPG) leży nie tylko utrudniony odpływ krwi z żył żołądkowych, ale również zwiększony napływ tętniczy z hiperdynamicznego krążenia systemowego [17,18]. W efekcie nakładania się tych zaburzeń hemodynamicznych żołądkowe naczynia ulegają poszerzeniu, a sama śluzówka cierpi na deficyt tlenu. Niedotleniona śluzówka żołądkowa staje się nadwrażliwa na działanie kwasu solnego, pepsyny i/lub kwasów żółciowych. Uszkodzenia śluzówki i ściany poszerzonych naczyń są przyczyną krwawień. W badaniu histopatologicznym stwierdza się poszerzenie naczyń żylnych i włosowatych błony śluzowej oraz podśluzowej, wynaczynienia krwi oraz brak komórek nacieków zapalnego. HPG występuje w obrębie śluzówki trzonu oraz sklepienia żołądka i bardzo rzadko w jego części przedodźwiernikowej. Naczyniowe ektazje części przedodźwiernikowej (Gastric Antral Vascular Ectasias) tworzące obraz żołądka arbusowatego mogą występować u chorych z marskością, lecz w przeciwieństwie do HPG są mało specyficzne dla nadciśnienia wrotnego [19]. HPG jest źródłem różnych obrazów endoskopowych począwszy od nadmiernie wyrażonego poletkowania śluzówki (objaw mozaiki) po obecność na tle mozaiki punktowych bądź zlewających się w plamy wybroczyn podśluzówkowych o barwach wiśniowo- lub rdzawo-czarnych. Podobne do HPG zmiany naczyniowe mogą występować w śluzówce dwunastnicy lub jelita grubego, gdzie stanowią potencjalne źródło krwawień.

Chociaż HPG występuje najczęściej u chorych ze zdekompenowaną marskością wątroby, to zmiany te nie wykazują bezpośredniej zależności ani od stanu czynnościowego wątroby ani wielkości nadciśnienia wrotnego. Częstość występowania HPG u chorych z marskością wątroby jest oceniana w bardzo szerokim zakresie od 7% do 98% w zależności od klinicznej charakterystyki badanych, przyjętych kryteriów diagnostycznych oraz technicznych parametrów endoskopu [20]. HPG stanowi 12–40% przyczyn odpowiedzialnych za krwawienie z górnego odcinka przewodu pokarmowego u chorych z marskością wątroby, przy czym przewlekła utrata krwi jest znacznie częstsza niż ostre krwawienia. Historia naturalna HPG jest słabo poznana, a zwłaszcza czynniki decydujące o postępie lub regresji zmian. Sklerotyzacja żyłaków przełyku, a w mniejszym stopniu ich opaskowanie indukują lub nasilają już istniejącą HPG, czego przyczyną jest pogorszenie warunków odpływu krwi z górnej części żołądka przez niedrożne kolaterale [21].

Encefalopatia wrotna

Istnieje mało badań na temat mózgowego przepływu krwi u chorych z marskością wątroby. Dostępne badania przemawiają za zwiększonym przepływem mózgowym krwi u chorych ze zdekompenowaną marskością wątroby. Wazodilatacja naczyń mózgowych może odgrywać ważną rolę w patogenezie encefalopatii wątrobowej. Zwiększony przepływ krwi przez mózg, który znajduje się w sztywnej obudowie, podnosi ciśnienie wewnątrzczaszkowe, prowadząc do obrzęku mózgu. Wazodilatacja powoduje też wzrost powierzchni naczyń włosowatych, a tym samym zwiększa powierzchnię dyfuzji toksycznych związków pochodzenia jelitowego np. amoniaku [1].

Kardiomiopatia wrotna

Badania eksperymentalne i kliniczne dowiodły obecności w marskości wątroby wielu czynnościowych, a nawet anato-

micznych nieprawidłowości mięśnia sercowego, które objęto wspólnym mianem kardiomiopatii wrotnej. Kardiomiopatia wrotna obejmuje zaburzenia kurczliwości mięśnia sercowego, dysfunkcję lewej komory w okresie rozkurczu oraz nieprawidłowości zjawisk elektromechanicznych, polegających głównie na wydłużeniu odstępu Q-T. Nadal nie wiadomo czy kardiomiopatia wrotna jest bezpośrednią konsekwencją marskości wątroby, czy też ma charakter wtórny do zaburzeń hemodynamicznych związanych z nadciśnieniem wrotnym.

Należy zaznaczyć, iż u chorych z marskością będących w spoczynku nie stwierdza się istotnych i powtarzalnych nieprawidłowości w zakresie ciśnień w jamach serca i tętnicy płucnej lub lewokomorowej frakcji wyrzutowej. W spoczynku kardiomiopatia wrotna ma na ogół charakter subkliniczny, bowiem jest maskowana przez niskie obciążenie następne (niski opór obwodowy). Kardiomiopatię ujawnia dopiero farmakologiczna „normalizacja” obwodowego oporu naczyniowego. Ten zabieg, podobnie jak inne czynniki narażające serce na „stres hemodynamiczny” (wysiłek fizyczny, przetoczenie dużej objętości płynów, TIPS) sprawiają, iż frakcja wyrzutowa lewej komory i jej rzut skurczowy wykazują dalece mniejsze przyrosty niż u osób zdrowych [4]. Ponadto upośledzona kurczliwość mięśnia sercowego jest oporna na działanie leków inotropowych. Pogorszenie skurczowej funkcji lewej komory serca ze spadkiem pojemności wyrzutowej u pacjentów z nasiloną wazodilatacją tętniczą oraz dużym pobudzeniem układu renina-angiotensyna-aldosteron jest prawdopodobnie ważną przyczyną rozwoju zespołu wątrobowo-nerkowego [22].

Zaburzenia kurczliwości serca mają charakter czynnościowy, bowiem zanikają po transplantacji wątroby [23]. Źródłem niewydolności serca oprócz jego przeciążenia (high-output heart failure) mogą być też liczne związki chemiczne o właściwościach kardiodepresyjnych, które są obecne we krwi chorych z marskością w stężeniach ponadfizjologicznych. Zalicza się do nich tlenek azotu, endotoksyny, endoteliny, kwasy żółciowe lub TNF- α .

W warunkach „stresu hemodynamicznego” u chorych ze zdekompensowaną marskością obok zaburzeń kurczliwości stwierdzono również podwyższone ciśnienie późno-rozkurczowe w lewej komorze serca [24]. Przyczyną utraty podatności lewej komory w okresie rozkurczu jest przerost mięśniówki serca oraz obecność w jej obrębie ognisk włókienia. Te zmiany morfologiczne mogą być wynikiem pracy serca w warunkach permanentnego przeciążenia, spowodowanego przewlekłą aktywacją układu adrenergicznego, hiperwolemią i obecnością naczyniowych połączeń wrotno-płucnych. Uważa się, że niewydolność rozkurczowa wyprzedza w czasie zaburzenia kurczliwości serca. Nieprawidłowości parametrów hemodynamicznych charakteryzujących dysfunkcję rozkurczową serca ulegają zmniejszeniu w wyniku leczenia preparatami przeciwaldosteronowymi oraz po paracentezie.

U chorych z marskością wątroby stwierdzono podwyższone stężenia surowicze przedsionkowego (ANP) i mózgowego peptydu natriuretycznego (BNP). Wykazano, że wzrost stężenia ANP i BNP jest wynikiem zwiększonego uwalniania tych peptydów przez kardiomiocyty, a nie upośledzenia procesu ich ekstrakcji z krwi przez marską wątrobę [4]. ANP jest markerem zwiększonego ciśnienia przedsionkowego, a BNP świadczy nie tylko o wzroście ciśnienia w lewej komorze serca, ale także jest miarą przeciążenia mięśnia sercowego.

Dyskusję o rzeczywistym znaczeniu niewydolności rozkurczowej serca wnieśli pojedyncze opisy nagłych zgonów sercowych wśród pacjentów z marskością wątroby, poddanych zabiegom naczyniowym typu shunt, transplantacji wątroby lub TIPS [4]. Wszystkie te zabiegi wiążą się ze wzrostem obciążenia wstępnego serca (*preload*), a więc mogą u chorego z niewydolnością rozkurczową sprowokować rozwój obrzęku płuc.

U chorych z marskością wątroby wrażliwość mięśnia sercowego na bodźce hormonalne i farmakologiczne jest obniżona. W badaniach na szczurach z nadciśnieniem wrotnym stwierdzono zmniejszenie gęstości beta₁-adrenoceptorów na powierzchni kardiomiocytów. Ponadto receptory te wykazują zmniejszoną wrażliwość wobec noradrenaliny w wyniku jeszcze słabo poznanych defektów w obrębie kanałów wapniowych oraz postreceptorowego przekazu sygnału, w które zaangażowane jest białko G [25,26]. Ward i wsp. [27] wykazali obecność zaburzeń w przewodzeniu prądu potasowego przez błonę kardiomiocytów szczurów z marskością wątroby. Anomalia ta była odpowiedzialna za wydłużenie odstępu Q-T w badaniu elektrokardiograficznym. Podobne zjawisko obserwuje się u pacjentów z marskością, a czas Q-T koreluje z zaawansowaniem choroby wątroby, stężeniem noradrenaliny i czasem przeżycia [28]. Istnieje podejrzenie, że wydłużenie odstępu Q-T zwiększa u chorych z marskością ryzyko arytmii komorowych i nagłych zgonów kardiologicznych.

Szczególnymi i niezależnymi od nadciśnienia wrotnego przyczynami uszkodzenia serca u chorych z marskością wątroby mogą być alkoholizm, hemochromatoza lub amyloidoza.

Zaburzenia regulacji sercowo-naczyniowej

Badania reakcji układu sercowo-naczyniowego chorych z marskością wątroby na standardowe testy takie jak próba Valsalvy, test zmienności akcji serca lub wysiłku izometrycznego wskazują na dysregulację autonomicznego układu nerwowego. Stwierdzono nieprawidłowości zarówno w odniesieniu do współczulnego jak i przywspółczulnego układu nerwowego [4]. Ponadto badania reakcji ciśnienia tętniczego na ortostazę wskazują na zaburzenia odruchu z baroreceptorów. Jedną z przyczyn tego zjawiska może być hipoksja, często obecna u chorych z marską wątrobą. Większość stwierdzanych nieprawidłowości ma charakter czynnościowy i zanika po transplantacji wątroby. Korzystne efekty opisywano również po zastosowaniu leków z grupy antagonistów receptora angiotensynowego lub aldosteronowego. Patofizjologiczne podłoże dysfunkcji układu autonomicznego nie jest znane. Może ono dotyczyć centralnego układu nerwowego, nerwów obwodowych lub procesów neurotransmisji.

Obwodowe naczynia tętnicze chorych z marskością wykazują obniżoną reaktywność wobec egzogennych i endogennych wazokonstryktorów. Przyczyną tego patofizjologicznie ważnego zjawiska może być zmniejszona liczba lub powinowactwo receptorów bądź też pozareceptorowy defekt przekazu sygnału w miocytach. Obniżona reaktywność naczyń tętniczych układu trzewnego wydaje się być najważniejszym czynnikiem odpowiedzialnym za wazodilatację trzewną i zwiększony przepływ krwi w tym obszarze naczyniowym oraz spadek ciśnienia tętniczego krwi. Niskie ciśnienie tętnicze krwi u chorych z marskością nie jest wyłącznie konsekwencją obwodowej wazodilatacji, lecz także obniżonej podatności (arterial compliance) dużych naczyń tętniczych [29].

Istnieje mała grupa chorych z marskością wątroby, u których stwierdza się nadciśnienie tętnicze. Grupa tych pacjentów nie została jeszcze dokładnie przebadana. Są to prawdopodobnie osoby z chorobą nadciśnieniową, łagodzoną przez zmiany hemodynamiczne towarzyszące marskości. Być może są to jednak osoby, których układ tętniczy nie wykazuje zmniejszonej wrażliwości wobec krążących we krwi silnych wazokonstryktorów.

Zaburzenia krążenia płucnego

U chorych z marskością duszność wysiłkowa oraz umiarkowana hipoksemia należą do częstych objawów. Istnieje wiele potencjalnych przyczyn zaburzonego stosunku wentylacji do perfuzji płuc u tych chorych. Pacjenci z alkoholową marskością wątroby są często nałogowymi palaczami papierosów, co sprzyja występowaniu u nich obturacyjnej choroby płuc. Czynność wentylacyjna płuc może być także upośledzona z powodu masywnego wodobrzusza. Z kolei przyczyną umiarkowanej hipoksемii bywa zwiększona pojemność wyrzutowa serca, której konsekwencją jest wzrost perfuzji płucnej i skrócenie czasu kontaktu erytrocytów z cząsteczkami tlenu.

Zespół wątrobowo-płucny

Przyczyną nasilonej hipoksемii (<70 mmHg), nie wynikającej z choroby organicznej serca lub płuc, jest wazodilatacja na poziomie prekapilarów i kapilarów pęcherzykowych (hepato-pulmonary syndrome; HPS). Wzrost średnicy tych naczyń sprawia, że utlenowanie hemoglobiny odbywa się wyłącznie w ich strefie przyściennej, bowiem cząsteczki tlenu nie docierają do erytrocytów środkowego strumienia krwi. Tę anomalię czynnościową można skorygować podaniem 100% tlenu pod zwiększonym ciśnieniem [30].

Chorzy z HPS źle tolerują wysiłek fizyczny, który powoduje u nich duszność i sinicę. W spoczynku kompensują oni hipoksję zwiększoną pojemnością wyrzutową serca i zwiększoną wentylacją płuc. Mechanizmy te jednak nie mogą sprostać zapotrzebowaniu mięśni na tlen podczas wysiłku fizycznego, tym bardziej, że chorzy z marskością pozbawieni są fizjologicznej reakcji wazokonstrykcyjnej naczyń płucnych na obwodową hipoksję. U chorych z HPS duszność i hipoksemia ulegają nasileniu w pozycji spionizowanej (zjawiska platypnea i ortodeoksi), w której największy przepływ krwi odbywa się w dolnych partiach płuc, gdzie patologia naczyniowa jest najwyraźniejsza. Sylwetka serca w badaniu radiologicznym u chorych z HPS zwykle nie odbiega od normy, natomiast stałym objawem jest kolbowate zniekształcenie dystalnych paliczków rąk.

Kryteria diagnostyczne HPS obejmują a) nadciśnienie wrotne w przebiegu marskości lub ostrej niewydolności wątroby, b) $\text{PaO}_2 < 70$ mmHg lub wzrost pęcherzykowo-tętniczego gradientu tlenowego >20 mmHg oraz c) istnienie płucnego przecieku tętniczko-żylnego, który ma najczęściej charakter czynnościowy (wazodilatacja), a znacznie rzadziej anatomiczny (anastomozy tętniczko-żylne) [31,32]. Obecność przecieku tętniczko-żylnego dokumentuje się za pomocą kontrastowej echokardiografii (np. 0.9% NaCl z pęcherzykami powietrza) lub metodą perfuzyjnej scyntygrafii płuc z użyciem znakowanych makroagregatów albuminowych [33]. W zależności od zastosowanych kryteriów diagnostycznych oraz metod rejestracji płucnego przecieku tętniczko-żylnego występowanie

HPS wśród chorych ze schyłkową marskością wątroby ocenia się w szerokich granicach od 4% do 40%.

Nadciśnienie wrotno-płucne

Układ naczyniowy płuc u chorych z marskością wątroby jest obiektem działania wielu związków wazoaktywnych. U części chorych z marskością wątroby przewagę zyskują czynniki wazokonstrykcyjne. Przypuszcza się, że wazokonstrykcja naczyń płucnych wynika z niewydolności wątroby w eliminacji związków obkurczających mięśniówkę naczyniową np. serotoniny. Przewlekła wazokonstrykcja w obecności czynników wzrostowych prowadzi do zmian anatomicznych tętniczek płucnych, polegających na przeroście błony środkowej i wewnętrznej z ewentualną obecnością skrzeplin [32]. Zmiany te leżą u podłoża nadciśnienia wrotno-płucnego (portopulmonary hypertension; PPH), które obrazem klinicznym przypomina samoistne nadciśnienie płucne. Częstość występowania PPH u chorych z zaawansowaną marskością wynosi 1–4% [34]. Mimo, że echokardiografia dostarcza wielu ważnych informacji o rozmiarach i funkcji prawej komory serca oraz wielkości fali zwrotnej przez zastawkę trójdzielną, to do definitywnego rozpoznania HPP potrzebne są bezpośrednie pomiary rzutu prawej komory serca oraz ciśnienia zaklinowanego w tętnicy płucnej (>15 mmHg). Biopsja płuc ma ograniczone znaczenie diagnostyczne z powodu ogniskowego charakteru zmian naczyniowych.

Objawem PPH jest niewydolność prawokomorowa serca z wysiłkową dusznością, zawrotami głowy oraz bólem w klatce piersiowej. W chorobie tej nie stwierdza się sinicy, a PaO_2 rzadko spada poniżej 70 mmHg. W badaniu radiologicznym sylwetka serca jest powiększona z naczyniowo poszerzonymi wnękami. Elektrokardiografia ujawnia *P pulmonale* oraz wysokie załamki R w odprowadzeniach prawokomorowych. Wysokie ciśnienie w prawym przedsionku może doprowadzić do przecieku krwi przez udrożniony *foramen ovale* do lewego przedsionka serca, co w konsekwencji znacznie obniża PaO_2 .

Możliwości terapeutyczne

Nasilenie objawów zespołu dysfunkcji hemodynamicznej wykazuje ścisłą korelację z czasem przeżycia chorych. Istnieje więc przekonanie, że przeciwdziałanie powikłaniom narządowym może mieć korzystny wpływ na czas przeżycia chorych, zwiększając ich szanse na otrzymanie greftu wątrobowego. Obecnie nie ma metod swobodnego leczenia zespołu dysfunkcji hemodynamicznej. Leczenie opiera się na próbach eliminowania i zapobiegania nieprawidłowościom hemodynamicznym obecnym w krążeniu układowym. Zmierza ono do adekwatnego wypełnienia łożyska naczyniowego, obkurczenia tętniczego łożyska trzewnego, obniżenia ciśnienia wrotnego, a także wspomagania lokalnych mechanizmów wazoprotekcyjnych.

W modelu eksperymentalnym nadciśnienia wrotnego farmakologiczne blokowanie NOS, odpowiedzialnej za wazodilatację trzewną, powoduje wzrost trzewnego oporu naczyniowego. U ludzi na razie nie stosuje się inhibitorów NOS, bowiem ich efekty działania nie są swoiste ani dla izoformy enzymu, ani jej lokalizacji narządowej. Spośród trzewnych wazokonstryktorów, niezwiązanych z hamowaniem NO, najbardziej rozpowszechnione są nieselektywne beta-blokery (propranolol, tymolol), analogi wazopresyny (terlipressin,

ornipressin) i somatostatyny (oktreotydy) oraz agoniści receptorów alfa₁-adrenergicznych (np. midodrin).

Efektywne wypełnienie łóżyska naczyniowego gwarantuje ludzka albumina, która długotrwale podnosi ciśnienie onkocyczne krwi (około 30-dniowy okres półtrwania). Wlewy albuminowe mają korzystny wpływ na perfuzję nerkową. Skojarzone leczenie midodrinem, wlewami albuminy oraz oktreotydem zmniejszało stężenie surowicze reniny i wazopresyny oraz poprawiało funkcję nerek u chorych z zespołem wątrobowo-nerkowym [35]. Korzystne efekty nerkowe uzyskiwano również podczas stosowania analogów wazopresynowych (pobudzenie VI-receptorów naczyniowych) [36].

W profilaktyce krwawień spowodowanych przez HPG wskazuje się na skuteczność nieselektywnych beta-blokerów. Leki te zmniejszają trzewny przepływ krwi w wyniku hamowania czynności skurczowej serca (receptory β_1) oraz blokowania receptorów β_2 w układzie trzewnym [37]. Karwedilol łączy właściwości nieselektywnego beta-blokera z antagonistą receptora alfa₁-adrenergicznego. Lek ten jest 2–4 razy silniejszym beta-blokerem od propranololu, a siła blokowania receptora alfa jest słabsza od prazosyny. Ta druga komponenta działania karwedilolu jest również przydatna w obniżaniu wewnątrztrzewnego oporu naczyniowego. Badania kliniczne z karwedilem wskazują na redukcję ciśnienia wrotnego o 16–43%, jednak u pacjentów z zaawansowaną marskością lek prowadził do objawowych spadków ciśnienia tętniczego krwi [38]. Ostatnio sklonowano 5 typów receptorów somatostatynowych, oznaczonych od SST1 do SST5. Poza wyspami trzustkowymi typ SST2 występuje także w trzewnym układzie tętniczym. Obserwacja ta wyjaśnia, że somatostatyna zmniejsza przepływ trzewny zarówno na drodze hamowania uwalniania glukagonu, jak i aktywacji kinaz białkowych, których efektem jest tętnicza wazokonstrykcja.

Próby hamowania wazokonstrykcji naczyń nerkowych nie ograniczają się tylko do zwiększania nerkowego ciśnienia perfuzyjnego, ale również dotyczą bezpośredniego oddziaływania na tętniczki nerkowe. Do leków rozszerzających naczynia nerkowe zalicza się analogi prostaglandyny E1 (Mizoprostol),

subpresorowe dawki dopaminy oraz antagonistów receptora endotelinowego ET-A (Bosentan). Wstępne doniesienia o efektach tych leków w zespole wątrobowo-nerkowym są obiecujące, lecz jeszcze nie zostały potwierdzone w dużych badaniach klinicznych. Wewnątrztrzewowa proteza naczyniowa – TIPS radykalnie zmniejsza ciśnienie wrotne i poprawia stopień wypełnienia krwią centralnego łóżyska naczyniowego. Po zastosowaniu TIPS obserwowano poprawę nerkowego wydalania sodu oraz zmniejszenie stężenia surowiczego reniny, aldosteronu i noradrenaliny [39]. Zabieg ten powoduje też niestety spadek perfuzji wątrobowej i obciążenie serca. U chorych z kardiomiopatią wrotną nie ustalono jeszcze wskazań terapeutycznych, bowiem jej znaczenie kliniczne jest nadal nieznane.

Jedynym, skutecznym leczeniem schyłkowej marskości jest przeszczepienie wątroby. W konsekwencji tego zabiegu dochodzi do normalizacji większości, lecz nie wszystkich objawów zespołu dysfunkcji hemodynamicznej. Układowe ciśnienie krwi po transplantacji bywa podwyższone (cyklosporyna!), lecz objętość wyrzutowa serca z racji przetrwałego krążenia obocznego może być nadal zwiększona. Po transplantacji wątroby zanikają zaburzenia hormonalne, a perfuzja nerek, płuc, mózgu i narządów trzewnych wraca do normy. Niektóre powikłania hemodynamiczne mogą utrudniać wykonanie transplantacji wątroby. Stwierdzono, że u chorych z HPS wartości PaO₂ poniżej 50 mmHg są związane z około 30% śmiertelnością okołooperacyjną. Z kolei chorzy z ciężką postacią PPH nie są kwalifikowani do transplantacji wątroby, bowiem w okresie śródoperacyjnej reperfuzji przeszczepionej wątroby lub we wczesnym okresie pooperacyjnym istnieje duże ryzyko rozwoju prawokomorowej niewydolności serca. Zastosowanie leków rozkurczających mięśniętkę naczyń płucnych może jednak zliberalizować dotychczasowe standardy postępowania. Podaż tlenu azotu, prostacyliny lub inhibitorów fosfodiesterazy typu 5 pozwala z jednej strony ocenić komponentę czynnościową płucnych zaburzeń hemodynamicznych u chorych z PPH, z drugiej zaś umożliwia zastosowanie sercowo-płucnej protekcji w trakcie i bezpośrednio po zabiegu transplantacyjnym.

Piśmiennictwo:

1. Groszmann RJ: Hyperdynamic circulation of liver disease 40 years later: pathophysiology and clinical consequences. *Hepatology*, 1994; 20: 1359–69
2. Arroyo V, Colmenero J: Ascites and hepatorenal syndrome in cirrhosis: pathophysiological basis of therapy and current management. *J Hepatol*, 2003; 38: S69–89
3. Sherlock S: Vasodilatation associated with hepatocellular disease: relation to functional organ failure. *Gut*, 1990; 31: 365–67
4. Møller S, Henriksen JH: Cardiopulmonary complications in chronic liver disease. *World J Gastroenterol*, 2006; 28: 526–38
5. Laleman W, Van Landeghem L, Wilmer A i wsp: Portal hypertension: from pathophysiology to clinical practice. *Liver Int*, 2005; 25: 1079–90
6. Iwakiri Y, Groszmann RJ: Vascular endothelial dysfunction in cirrhosis. *J Hepatol*, 2007; 46: 927–34
7. Soderman C, Leone A, Furst V, Persson MG: Endogenous nitric oxide in exhaled air from patients with liver cirrhosis. *Scand J Gastroenterol*, 1997; 32: 591–97
8. Fernandez M, Mejias M, Angermayr B i wsp: Garcia-Pagan JC: Inhibition of VEGF receptor-2 decreases the development of hyperdynamic splanchnic circulation and portal-systemic collateral vessels in portal hypertensive rats. *J Hepatol*, 2005; 43: 6–8
9. Kowalski HJ, Abelman WH: The cardiac output at rest in Laennec's cirrhosis. *J Clin Invest*, 1953; 32: 1025–33
10. Bernardi M, Li Bassi S, Arienti V i wsp: Systemic and regional hemodynamics in pre-ascitic cirrhosis: effects of posture. *J Hepatol*, 2003; 39: 502–8
11. Llach J, Gines P, Arroyo V, Rimola A i wsp: Prognostic value of arterial pressure, endogenous vasoactive systems, and renal function in cirrhotic patients admitted to the hospital for the treatment of ascites. *Gastroenterology*, 1988; 94: 482–87
12. Fernandez-Esparrach G, Sanchez-Fueyo A, Gines P i wsp: A prognostic model for predicting survival in cirrhosis with ascites. *J Hepatol*, 2001; 34: 46–52
13. Arroyo V, Jimenez W: Complications of cirrhosis. II. Renal and circulatory dysfunction. Lights and shadows in an important clinical problem. *J Hepatol*, 2000; 32: 157–70
14. Ros J, Claria J, Jimenez W i wsp: Role of nitric oxide and prostacyclin in the control of renal perfusion in experimental cirrhosis. *Hepatology*, 1995; 22: 915–20
15. Gines A, Escorsell A, Gines P i wsp: Incidence, predictive factors, and prognosis of the hepatorenal syndrome in cirrhosis with ascites. *Gastroenterology*, 1993; 105: 229–36
16. McCormack TT, Sims J, Eyre-Brook I i wsp: Gastric lesions in portal hypertension: inflammatory gastritis or congestive gastropathy. *Gut*, 1985; 26: 1226–32

17. Panes J, Bordas JM, Pique M i wsp: Increased gastric mucosal perfusion in cirrhotic patients with portal hypertensive gastropathy. *Gastroenterology*, 1992; 103: 1875–82
18. Ohta M, Hashizume M, Higashi H i wsp: Portal and gastric mucosal hemodynamics in cirrhotic patients with portal-hypertensive gastropathy. *Hepatology*, 1994; 20: 1432–36
19. Payen JL, Cales P, Voigt JJ i wsp: Severe portal hypertensive gastropathy and antral vascular ectasia are distinct entities in patients with cirrhosis. *Gastroenterology*, 1995; 108: 138–44
20. Carpinelli L, Primignani M, Preatoni P i wsp: Portal hypertensive gastropathy: reproducibility of a classification, prevalence of elementary lesions, sensitivity and specificity in the diagnosis of cirrhosis of the liver. A NIEC multicentre study. *Ital J Gastroenterol Hepatol*, 1997; 29: 533–40
21. Sarin SK, Shahi HM, Jain M: The natural history of portal hypertensive gastropathy: influence of variceal eradication. *Am J Gastroenterol*, 2000; 95: 2888–93
22. Ruiz-del-Arbol L, Monescillo A, Arocena C i wsp: Circulatory function and hepatorenal syndrome in cirrhosis. *Hepatology*, 2005; 42: 439–47
23. Torregrosa M, Aguade S, Dos L i wsp: Cardiac alterations in cirrhosis: reversibility after liver transplantation. *J Hepatol*, 2005; 42: 68–74
24. Jain D: Cardiovascular involvement in patients with liver cirrhosis. *J Hepatol*, 2005; 42: 3–4
25. Jimenez W, Arroyo V: Origins of cardiac dysfunction in cirrhosis. *Gut*, 2003; 52: 1392–94
26. Ma Z, Miyamoto A, Lee SS: Role of altered β -adrenoreceptor signal transduction in the pathogenesis of cirrhotic cardiomyopathy in rats. *Gastroenterology*, 1996; 110: 1191–98
27. Ward CA, Ma Z, Lee SS, Giles WR: Potassium currents in atrial and ventricular myocytes from a rat model of cirrhosis. *Am J Physiol*, 1997; 273: G537–44
28. Bernardi M, Calandra S, Colantoni A i wsp: Q-T interval prolongation in cirrhosis: prevalence, relationship with severity, and etiology of the disease and possible pathogenetic factors. *Hepatology*, 1998; 27: 28–34
29. Brinch K, Møller S, Bendtsen F i wsp: Plasma volume expansion by albumin in cirrhosis. Relation to blood volume distribution, arterial compliance and severity of disease. *J Hepatol*, 2003; 39: 24–31
30. Krowka MJ: Hepatopulmonary syndromes. *Gut*, 2000; 46: 1–4
31. Krowka MJ, Cortese DA: Hepatopulmonary syndrome: an evolving perspective in the era of liver transplantation. *Hepatology*, 1990; 11: 138–42
32. Krowka MJ: Hepatopulmonary syndrome versus portopulmonary hypertension: distinctions and dilemmas. *Hepatology*, 1997; 25: 1282–84
33. Abrams GA, Nanda NC, Dubovsky EV i wsp: Use of macroaggregated albumin lung perfusion scan to diagnose hepatopulmonary syndrome: a new approach. *Gastroenterology*, 1998; 114: 305–10
34. Castro M, Krowka MJ, Schroeder DR i wsp: Frequency and clinical implications of increased pulmonary artery pressures in liver transplant patients. *Mayo Clinic Proc*, 1996; 71: 543–51
35. Angeli P, Volpin R, Gerunda G i wsp: Reversal of type I hepatorenal syndrome with the administration of midodrine and octreotide. *Hepatology*, 1999; 29: 1690–97
36. Uriz J, Gines P, Cardenas A i wsp: Terlipressin plus albumin infusion: an effective and safe therapy of hepatorenal syndrome. *J Hepatol*, 2000; 33: 43–48
37. Bosch J, Garcia-Pagan JC: Complications of cirrhosis. I. Portal hypertension. *J Hepatol*, 2000; 32: 141–56
38. Hemstreet BA: Evaluation of carvedilol for the treatment of portal hypertension. *Pharmacotherapy*, 2004; 24: 94–104
39. Guevara M, Gines P, Bandi JC i wsp: Transjugular intrahepatic portosystemic shunt in hepatorenal syndrome: effects on renal function and vasoactive systems. *Hepatology*, 1998; 28: 416–22

Choroby kości w przewlekłych chorobach wątroby

Bone disease in chronic liver diseases

Joanna Musialik^{1,2}, Michał Petelenz^{1,2}

¹ Katedra i Klinika Gastroenterologii, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

² Katedra i Zakład Podstawowych Nauk Biomedycznych, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Summary: This article reviews metabolic bone disease named hepatic osteodystrophy in patients with chronic liver diseases with different etiology. Etiology of osteopenia in liver diseases remains unknown, but the problem seems to be general. Bone pains and symptomatic fractures are connected with worsening the quality of life. Multiple factors contribute to the development of hepatic osteodystrophy. Patients at high risk of osteoporosis include those with evidence of cirrhosis, cholestatic liver disease, hypogonadism, steroid therapy. Other general factors in patients with chronic liver disease is immobility, malnutrition with small body frame, alcohol consumption. Osteoporosis is usually defined clinically by non-invasive imaging test (dual-photon absorptiometry). Reduction in bone mass density (osteopenia or osteoporosis) should be connected with the beginning supplementation or pharmacological therapy. Because its underlying mechanisms are unknown and probably composed of multiple factors there is no specific therapy to treat and prevent the osteopenia in chronic liver diseases. Most potential therapeutic strategies are drawn. Non-pharmacological interventions include physical activity, adequate calcium intake and diet, reduction of other risk factors. Drugs are also available (include bisphosphonates, hormone replacement therapy and calcitonin) and their prescription should be decided on a case-by-case basis.

Słowa kluczowe: marskość wątroby • przewlekłe choroby wątroby • osteodystrofia wątrobowa • osteoporoza

Key words: liver cirrhosis • chronic liver diseases • hepatic osteodystrophy • osteoporosis

Adres do korespondencji: Joanna Musialik, Klinika Gastroenterologii Śląskiego Uniwersytetu Medycznego, Centralny Szpital Kliniczny, Medyków 14, Katowice, Polska, e-mail: jmusialik@sum.edu.pl

Metaboliczne choroby kości określane wspólną nazwą osteodystrofii wątrobowej towarzyszą przewlekłym chorobom wątroby niezależnie od etiologii, szczególnie często chorobom cholestatycznym. Problem patologii układu kostnego często bywa traktowany dość marginalnie dopóki nie występują nasilone dolegliwości bólowe kręgosłupa lub po niewielkim urazie patologiczne złamanie kości przedramienia czy szyjki kości udowej. Wtedy wykazywana jest często nasilona osteopenia (obniżenie masy kostnej) z obecnością patologicznych złamań. Aktualnie uważa się, że w przewlekłych chorobach wątroby obniżenie masy kostnej występuje z częstotścią wahającą się w granicach 20–100% [1–5].

Masa kości koreluje z jej wytrzymałością, kiedy obciążenie mechaniczne kości jest większe niż jej wytrzymałość, pojawia się złamanie. W osteopenii bez względu na jej przyczynę, także w przewlekłych chorobach wątroby, niska masa kości lub jej niska gęstość powoduje w efekcie kruchość kości predysponując do złamań przy minimalnym urazie. Mimo wystę-

powania wielu pozaszkieletowych czynników ryzyka patologicznego złamania jak obniżenie masy mięśniowej czy słabsza koordynacja ruchowa główną przyczyną determinującą ryzyko złamań jest stopień nasilenia osteopenii.

W okresie dzieciństwa i wczesnej młodości masa kostna stopniowo zwiększa się osiągając szczyt w wieku 30–40 lat [6]. Proces ten pozostaje pod kontrolą czynników genetycznych, ale ważne są także: właściwe odżywianie (w tym szczególnie podaż wapnia) i odpowiednie obciążenie mechaniczne w czasie aktywności fizycznej. W ciągu dalszego życia gęstość kości obniża się. U obydwu płci zależna od wieku osteopenia jest spowodowana przez stopniowe ścięnczenie beleczek z obniżeniem funkcji osteoblastów. Dodatkowo u kobiet w okresie pomenopauzalnym pojawia się gwałtowna utrata masy kostnej zależna od zwiększenia aktywności osteoklastów. W czasie całego życia dochodzi do zastępowania starej kości przez nową poprzez proces remodelingu kości, w którym kość jest tworzona lub niszczona. Remodeling

nie jest procesem obejmującym cały szkielet w równym stopniu, odbywa się w odosobnionych obszarach na powierzchni kości. Czynniki aktywujące remodeling w tych szczególnych miejscach są nieznane i najpewniej jest ich wiele. Być może miejsce wyboru jest przypadkowe, zależne od obciążenia lub lokalnych czynników wydzielanych przez starą kość. Niezależnie od przyczyny, po otrzymaniu sygnału inicjującego remodeling, komórki wywodzące się z osteoblastów leżące na powierzchni kości odsuwają się pozostawiając odstąpięty obszar. Komórki prekursorowe osteoklastów osiedlają się na tym obszarze, a następnie przekształcają w osteoklasty. Kolejnym etapem jest resorpcja wybranego obszaru i po około 1–2 tygodniach wytworzenie jamy resorpcyjnej. Zanikające osteoklasty zostają wtedy zastąpione przez komórki prekursorowe osteoblastów. Sygnał rozpoczynający tę fazę remodelingu również pozostaje nieznany, odpowiedzialnymi mogą być czynniki mitogenne osteoblastów: insulinopodobny czynnik wzrostu (IGF) lub czynnik wzrostu guza β (TGF β). Po przekształceniu w osteoblasty komórki te wypełniają jamę resorpcyjną nową kością (osteoid), która po około 25–35 dniach podlega procesowi mineralizacji (zależnej od podaży wapnia). Kompletny proces remodelingu trwa kilka miesięcy w czasie których powstaje obszar odnowionej kości. Dla zachowania stałej masy kostnej procesy resorpcji i formowania pozostają w równowadze [7].

U zdrowych osób wiele czynników wpływa na przebieg remodelingu: aktywność osteoblastów, osteoklastów, metabolizm wapnia, a przede wszystkim czynniki hormonalne: parathormon (PTH) i kalcytonina oraz dostępność witaminy D3. Podwyższony poziom PTH stymuluje proces remodelingu poprzez zwiększenie resorpcji prowadząc do podniesienia surowiczego stężenia wapnia. Witamina D i jej aktywny metabolit 1,25 dihydroksywitamina D jest podstawowym czynnikiem mineralizacji nowopowstałej kości oraz potencjalnym czynnikiem resorpcyjnym. Sterydomy hormony płciowe, hormony tarczycy oraz hormon wzrostu są także ściśle związane z prawidłowym metabolizmem kości. Wiele czynników ogólnoustrojowych jak i lokalnych wpływa na prawidłową funkcję osteoblastów i osteoklastów. Są to: interleukina 1 i interleukina 6, TGF β , insulinopodobne czynniki wzrostu [8]. Jednak główne czynniki kontrolujące remodeling kości pozostają nadal nieznane. Ostatnio wykryta osteoprotegereyna (OPG) należąca do rodziny TGF ma wpływać na regulację metabolizmu kostnego. Produkowana przez wątrobę OPG hamuje różnicowanie osteoklastów zarówno *in vitro* jak *in vivo* [9]. Znaczenie OPG w chorobach wątroby pozostaje na razie niepewne, jednak pogorszenie funkcji wątroby, a co za tym idzie zmniejszone wytwarzanie OPG może być przyczyną nasilenia aktywności osteoklastów.

Osteopenia w chorobach wątroby spowodowana jest w większości przez osteoporozę czyli całkowite zmniejszenie masy kostnej. W niewielkim odsetku związana jest z, osteomalacją czyli zastąpieniem prawidłowej kości bełczkowej przez niezmineralizowany, osteoid co wiąże się z niedoborem witaminy D. W zaawansowanej chorobie wątroby ma miejsce współistnienie tych dwóch procesów, osteoporoza jest jednak dominująca.

Obecnie bezinwazyjne rozpoznanie osteoporozy jest dość proste, dostępne dla każdego lekarza. Konieczny jest pomiar masy kostnej – gęstości masy kostnej (ang. bone mineral density – BMD). Metod pomiaru jest wiele jednak metoda podwójnej absorbcjometrii (ang. dual photon ab-

Tabela 1. Czynniki ryzyka osteoporozy w przewlekłych chorobach wątroby.

Marskość
Cholestatyczne choroby wątroby
Unieruchomienie
Niska masa ciała
Nadużywanie alkoholu
Hypogonadyzm
Kortykoterapia
Palenie tytoniu
Zaburzenia wchłaniania wapnia

sorbtiometri – DPX) jest aktualnie „złotym standardem” oceny BMD. Wg standardów WHO osteoporozę rozpoznaje się wtedy, gdy średnia gęstość kości (BMD) jest mniejsza niż wartość 2,5 odchylenia standardowego. Jest to tzw. punktacja T-score odzwierciedlająca relację masy kostnej chorego do masy kostnej zdrowego młodego człowieka. Miejsce wykonania pomiaru BMD może być różne w zależności od wieku chorego, jednak zasadne wydaje się wykonywanie oceny densytometrycznej w obrębie odcinka lędźwiowego kręgosłupa (L2-L4) z uwagi na szybkie zmiany w gęstości kości dokonujące się w tej części kośćca [10,11].

Przyczyna nasilenia osteopenii u chorych z przewlekłymi chorobami wątroby związana jest z zaistnieniem szeregu czynników potencjalnie szkodliwych dla kości. Są to między innymi: unieruchomienie, złe odżywienie, zmniejszenie masy mięśniowej oraz zaburzenia hormonalne (Tabela 1) [8]. Najważniejszym czynnikiem pozostaje jednak stopień zaawansowania choroby wątroby. Równie istotnym czynnikiem predysponującym do wystąpienia osteoporozy jest komponenta cholestatyczna w chorobach wątroby stąd też choroby przebiegające pierwotnie z cholestazą takie jak: pierwotna żółciowa marskość (PBC) czy pierwotne stwardniające zapalenie dróg żółciowych (PSC) są wielokrotnie częściej (około 30-krotnie w stosunku do osób zdrowych) związane z występowaniem osteoporozy [12]. W badaniu obejmującym 210 chorych na PBC wykazano, że średnio BMD u tych chorych było o 7% niższe niż u dobranych wiekowo zdrowych kobiet. BMD było odwrotnie proporcjonalne do stopnia zaawansowania choroby wątroby ocenianego wskaźnikiem Mayo (opartym na analizie wieku, poziomowi albuminy, czasu protrombinowego oraz obecności obrzęków), a dalsze studia, w których obserwowano te pacjentki wykazały stałą roczną utratę masy kostnej wynoszącą około 2% (u zdrowych kobiet 1%) [13]. Inne badanie obejmujące grupę 123 kobiet chorych na PBC [14] wykazało obecność „ostrej osteoporozy” (osteoporoza z obecnością patologicznych złamań) u 31% chorych w momencie przeprowadzenia pierwszego badania BMD. Z kolei badania BMD u chorych zakwalifikowanych do transplantacji wątroby wskazują na występowanie osteoporozy u około 50% chorych na PSC [15,16]. Problem jest istotny, gdyż zarówno PBC jak i PSC stanowią częste wskazanie do transplantacji wątroby, a po transplantacji w ciągu 3–6 miesięcy masa kostna obniża się nadal dramatycznie i w czasie pierwszego roku od zabiegu mogą pojawić się patologiczne złamania.

Przyczyna osteoporozy w cholestazie jest nieznana. W dużym badaniu przeprowadzonym w Mayo Clinic obejmującym 176 chorych na PBC wykazano, że czynnikami wskazującymi na większe ryzyko wystąpienia osteoporozy są wiek, wskaźnik masy ciała (ang. body mass index-BMI) oraz stopień zaawansowania choroby [12]. Jest oczywiste, że u kobiet ryzyko osteoporozy wzrasta wraz z wiekiem, nasilając się w okresie po menopauzalnym, również większe zaawansowanie choroby wątroby zwiększa ryzyko tego powikłania. Wykazano równocześnie, że obniżenie BMI u kobiet poniżej 57 roku życia ze znacznym zaawansowaniem choroby wątroby wiąże się z ryzykiem wystąpienia osteoporozy u 72% chorych [12]. Jedynym wskaźnikiem biochemicznym wskazującym na większe ryzyko osteoporozy, jest stężenie bilirubiny. Bilirubina ma zdolność *in vitro* do hamowania czynności osteoblastów, co może odgrywać rolę w zmniejszeniu tworzenia kości u chorych w PBC [17]. Równocześnie w zaawansowanych chorobach wątroby dochodzi do niedoborów witaminy K, która jest czynnikiem warunkującym prawidłowe powstawanie kilku białek budujących kość w tym osteokalcyny [18]. Dlatego też podwyższony poziom bilirubiny w połączeniu z niedoborem witaminy K może być odpowiedzialny za większe zaawansowanie osteoporozy u chorych na PBC i na inne przewlekłe choroby wątroby.

Ponieważ cholestaza związana jest z niedoborem kwasów żółciowych w świetle jelita cienkiego, które są niezbędne dla prawidłowej absorpcji witaminy D początkowo sądzono, że osteopenia w PBC wiąże się raczej z osteomalacją [19,20], jednak badania histomorfometryczne wykazały osteoporozę [2]. Mimo, że równocześnie w PBC i PSC stwierdzany jest często obniżony lub prawidłowy, ale niski poziom witaminy D w surowicy nie stwierdzono korelacji pomiędzy stężeniem witaminy w surowicy a stopniem zaawansowania osteoporozy. Długotrwałe podawanie doustne kalcytriolu wiążące się z podniesieniem poziomu stężenia witaminy D3 w surowicy nie powoduje to jednak poprawy gęstości kości ocenianej zarówno poprzez BMD jak i pomiary histomorfometryczne [7]. Ostatnio rozważa się znaczenie polimorfizmu genu dla receptora witaminy D jako czynnika wskazującego na ryzyko większego zaawansowania osteoporozy, jednak problem ten wymaga dalszych badań [20]. Uważa się również, że polimorfizm genu kodującego kolagen typu Iαa może być odpowiedzialny za nasilenie osteoporozy w PBC [21].

Hypogonadyzm jest uznanym czynnikiem ryzyka osteoporozy, odpowiedzialnym za występowanie osteoporozy pomenopauzalnej. Przewlekłe choroby wątroby przyspieszają rozwój hypogonadyzmu zarówno na drodze zmniejszonego podwzgórzowego uwalniania gonadotropin jak również poprzez pierwotną niewydolność gonad. Obniżony poziom krążącego estrogeny jest jedną z przyczyn nasiloniej osteopenii zarówno u kobiet, ale także u mężczyzn z przewlekłymi chorobami wątroby. U mężczyzn znaczenie ma również pierwotny niedobór testosteronu, który ostatecznie metabolizuje się do estrogeny [22].

Ważnym czynnikiem rozwoju osteopenii w chorobach wątroby jest terapia kortykosteroidami stosowana standardowo w autoimmunologicznym zapaleniu wątroby oraz po transplantacji wątroby. Kortykosteroidy wzmagają aktywność osteoklastów poprzez interleukiny 1 i 6, zmniejszają aktywność osteoblastów zwalniając ich różnicowanie, wymianę i długość życia. Wpływają one również na zmniejszenie wytwarzania kolagenu I, a także zmniejszają jelitowe wchłanianie

Tabela 2. Rekomendacje terapeutyczne dla leczenia osteoporozy [22].

Właściwie skomponowana dieta	
Aktywność fizyczna, budowa aparatu mięśniowego	
Witamina D3	500–1000 IU/dobę doustnie lub 1000 IU/miesiąc domięśniowo
Weglan wapnia	1000–1500 mg/dobę
Monoterapia witaminą D3	Tylko w przypadku diety niskowapniowej
Estrogeny	0,6 mg/dobę (możliwy, ale rzadki efekt uboczny: cholestaza)
Bisfosfoniany	Alendronian sodu 10 mg/dobę lub 70 mg 1 × w tygodniu Etidronian 1 × 400 mg przez 2 tygodnie z następową terapią wapniem 500 mg/dobę przez kolejne 76 dni

wapnia. Zwiększają również nerkowe wydalanie wywołują wtórną nadczynność przytarczyc i nasilają hypogonadyzm. Połączenie tych czynników zwiększa około 2-krotnie ryzyko złamań patologicznych [23].

Ponieważ mechanizmy leżące u podstawy osteoporozy u chorych na przewlekłe choroby wątroby są złożone i nie w pełni wyjaśnione nie ma jak dotąd skutecznej i bezpiecznej terapii. W Tabeli 2 przedstawiono zasady terapii osteoporozy u kobiet w okresie pomenopauzalnym.

Klasycznym postępowaniem prewencyjnym w osteopenii pomenopauzalnej jest substytucja wapnia i witaminy D szczególnie w połączeniu z wysiłkiem fizycznym. Istnieją studia wykazujące redukcję częstości złamań w przebiegu osteoporozy u chorych otrzymujących substytucję wapnia. Podawanie węglanu wapnia w ilości 500–1500 mg/dobę jest bezpieczne, obarczone u niewielkiego odsetka chorych występowaniem objawów ze strony przewodu pokarmowego pod postacią zaparć, natomiast ryzyko rozwoju kamicy nerkowej nie wydaje się być zwiększone. Równocześnie często podaje się witaminę D [24]. Duże studium przeprowadzone we Francji obejmujące 3270 chorych w zaawansowanym wieku (średnia 84 lata) wykazało istotne zmniejszenie częstości złamań zarówno w obrębie kręgosłupa jak i szyjki kości udowej u pacjentów otrzymujących codziennie substytucję wapnia i witaminy D w dawce dobowej 800 IU [25,26]. Z kolei inne badania nie wykazały tej zależności [27]. W chorobach wątroby wydaje się, że metabolizm witaminy D pozostaje prawidłowy, jednak może się pojawić nieprawidłowe wchłanianie zarówno wapnia jak i witaminy D. Może to być związane także ze współistnieniem niewydolności trzustki i zespołu złego wchłaniania – szczególnie często w PBC [28]. Dodatkowo podawanie cholestyraminy celem kontroli świądu skóry obniża jelitowe wchłanianie witamin rozpuszczalnych w tłuszczach pogłębiając dodatkowo istniejące niedobory. Wydaje się, więc wskazane podawanie chorym na przewlekłe choroby wątroby wapnia w postaci węglanu w dawce 1000–1500 mg/dobę i witaminy D w dawce 500–1000 UI (podawanie postaci hydroksylowanej nie jest konieczne) zwłaszcza u chorych z nie-

wielką ekspozycją na słońce [7,8,23]. Podane dawki wapnia są konieczne, a niejednokrotnie powinny być wyższe w przypadku włączenia terapii mającej na celu zwiększenie mineralizacji kości np. kalcytoniną.

Dwa leki mają kliniczne znaczenie w redukowaniu resorpcji kostnej w osteoporozie. Są to estrogeny i kalcytonina.

Estrogeny hamują utratę masy kostnej powodując w efekcie 5–10% wzrost BMD w ciągu 1–3 lat [24]. Dodatkowo badania przeprowadzone na dużych grupach chorych wskazują bezspornie na fakt, że hormonalna terapia zastępcza (HRT) obniża ryzyko złamań szyjki kości udowej o 30% i podobnie, a nawet wg niektórych badań w większym odsetku, ryzyko złamań kręgow [29–32]. Estrogeny unika się jednak w przewlekłych chorobach wątroby przede wszystkim z powodu możliwości nasilenia cholestazy. Badania przeprowadzone z udziałem chorych na PBC wykazały jednak wzrost BMD w lędźwiowym odcinku kręgosłupa przy równoczesnym braku nasilenia laboratoryjnych cech cholestazy. Badania te obejmowały jednak stosunkowo niewielką liczbę chorych [33].

Kalcytonina, peptyd wytwarzany przez komórki C tarczycy redukuje resorpcję kości poprzez hamowanie aktywności osteoklastów. Lek podawany podskórnie lub domięśniowo powoduje występowanie u większości osób działań niepożądanych, co jest często przyczyną przerwania terapii. Podawanie leku donosowo nie wiąże się z występowaniem objawów niepożądanych, jednak dawki konieczne do uzyskania wzrostu BMD są duże i wynoszą 200 IU dziennie [24]. W terapii osteoporozy pomenopauzalnej kalcytonina wywiera korzystny wpływ jedynie na zmniejszenie ryzyka złamań w odcinku lędźwiowym kręgosłupa pozostając bez wpływu na inną ich lokalizację [34]. W chorobach wątroby brak dotychczas dużych badań wykazujących ewentualny korzystny wpływ kalcytoniny na osteopenię. W niewielkim badaniu obejmującym 25 chorych na PBC którym lek podawano przez 6 miesięcy nie wykazano istotnego wpływu na BMD [7]. Być może było to związane ze zbyt krótkim okresem leczenia i niewielką grupą badanych chorych.

Trzecia grupa leków, bisfosfoniany, to leki posiadające duże pokrewieństwo do kostnego apatyty. Są potencjalnymi inhibitorami resorpcji kostnej, redukując liczbę i aktywność osteoklastów oraz zwiększając ich apoptozę. Bezpieczeństwo stosowania bisfosfonianów jest różne w zależności od preparatu, jednak wpływ na redukcję złamań w przebiegu osteoporozy pozostaje bezsporny [24]. W badaniu którym objęto ponad dwutysięczną grupę kobiet z osteoporozą pomenopauzalną wykazano istotne zmniejszenie ryzyka złamań wynoszące około 47% po jednorocznej terapii alendronianem sodu [35]. Stosowanie bisfosfonianów w przewlekłych chorobach

wątroby, zwłaszcza zaawansowanych z nadciśnieniem wrotnym, pozostaje kontrowersyjne. Leki te mogą powodować bowiem zapalenie przełyku także z obecnością owrzodzeń co w przypadku współistnienia żylaków przełyku zwiększa ryzyko krwawienia [36,37]. Jednak badania obejmujące wprowadzie niewielkie grupy chorych na PBC wykazały korzystny wpływ bisfosfonianów [38]. Także w naszym studium obejmującym 12 kobiet chorych na PBC i towarzyszącą osteoporozą wykazaliśmy istotne (około 7%) zwiększenie masy kostnej po rocznej terapii alendronianem sodu nie obserwując żadnych działań niepożądanych [39]. Wydaje się więc, że terapia bisfosfonianami daje nadzieję na skuteczne leczenie u chorych na przewlekłe choroby wątroby, jednak wymagane są dalsze badania kliniczne zanim lek uzyska odpowiednią rekomendację.

W chwili obecnej żadna terapia nie prowadzi do satysfakcjonujących wyników w leczeniu metabolicznej choroby kości związanej z przewlekłymi chorobami wątroby. Przedstawione terapie mają bowiem niewielki wpływ na poprawę gęstości kości lub też obarczone są ryzykiem powikłań, które ogranicza możliwość ich stosowania do niewielkich, wybranych grup chorych. Niemniej badania gęstości kości powinny być rutynowym badaniem u chorych z przewlekłymi chorobami wątroby gdyż pomimo ograniczonej efektywności terapii nie jest ona zupełnie bez znaczenia. Częstotliwość badań densytometrycznych jest zależna od stopnia zaawansowania choroby wątroby i w początkowych stadiach wystarczające jest wykonywanie badań co 3 lata. Chorzy z bardziej zaawansowaną chorobą wątroby, szczególnie z niskim BMI oraz kobiety w okresie pomenopauzalnym powinni mieć wykonywane badania kontrolne co 12 miesięcy. Pozwoli to na wczesne wykrycie osteoporozy i włączenie profilaktyki lub odpowiedniego leczenia, wtedy, gdy gęstość kości nie będzie jeszcze zbyt obniżona [40].

Najlepszym jednak do tej pory sposobem leczenia osteodystrofii wątrobowej pozostaje terapia odpowiednia dla danej patologii wątroby. Zarówno kwas ursodezoksycholowy (UDCA) stosowany w cholestatycznych chorobach wątroby jak i interferony mają niezależny korzystny wpływ na poprawę metabolizmu kości. UDCA zwiększa wchłanianie wapnia u chorych na PBC, interferon hamuje różnicowanie osteoklastów *in vitro*, równocześnie zmniejszając wydalanie produktów degradacji kolagenu u chorych na przewlekłe zapalenie wątroby typu C. Dlatego też wczesne rozpoznawanie chorób wątroby i leczenie przyczynowe są najbardziej skutecznymi elementami zapobiegającymi wystąpieniu poważnych powikłań. Cytokiny jak TGF β , hormony wzrostu jak IGF-I czy fragmenty parathormonu mające efekt anaboliczny na kość *in vitro* być może odegrają rolę w przyszłym leczeniu osteodystrofii wątrobowej [22].

Piśmiennictwo:

1. Cuthbert J, Pak C, Zerwekh J i wsp: Bone disease in primary biliary cirrhosis: increased bone resorption and turnover in the absence of osteoporosis or osteomalacia. *Hepatology*, 1984; 4: 1–8
2. Stellon A, Webb A, Compston J: Bone histomorphometry and structure in corticosteroid-treated chronic active hepatitis. *Gut*, 1988; 29: 378–84
3. Lalor B, France M, Powell D i wsp: Bone and mineral metabolism and chronic alcohol abuse. *QJ Med*, 1986; 59: 497–511
4. Tsunooka K, Tameda Y, Takase K i wsp: Osteodystrophy in patients with chronic hepatitis and liver cirrhosis. *J Gastroenterol*, 1996; 31: 669–78
5. Carey E, Balan V, Kremers W i wsp: Osteopenia and osteoporosis in patients with end stage liver diseases caused by hepatitis C and alcoholic liver disease: not just a cholestatic problem. *Liver Transpl*, 2003; 9: 1166–73
6. Dempster D, Lindsay R: Pathogenesis of osteoporosis. *Lancet*, 1993; 341: 797–801
7. Hay E: Bone disease in cholestatic liver disease. *Gastroenterology*, 1995; 108: 276–83
8. McCaughan G, Feller R: Osteoporosis in chronic liver disease: pathogenesis, risk factors, and management. *Dig Dis*, 1994; 12: 223–31

9. Simonet W, Lacey D, Dunstan C i wsp: Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell*, 1997; 89: 309–19
10. Guichelaar M, Malinchoc M, Sibonga J i wsp: Bone metabolism in advanced cholestatic liver disease: analysis by bone histomorphometry. *Hepatology*, 2002; 36: 895–903
11. Lai D, Rencken M, Drinkwater B i wsp: Site of bone density measurement may affect therapy decision. *Calcif Tissue Int*, 1993; 53: 225–28
12. Menon N, Angulo P, Weston S i wsp: Bone disease in primary biliary cirrhosis: independent indicators and rate of progression. *J Hepatol*, 2001; 35: 316–23
13. Eastell R, Dickson E, Hodgson S i wsp: Rates of vertebral loss before and after liver transplantation in women with primary biliary cirrhosis. *Hepatology*, 1991; 14: 296–300
14. Camisasca M, Albisetti W, Grandinetti G i wsp: Bone disease in primary biliary cirrhosis (PBC): a large scale prevalence study (abstr.) *Eur Gastroenterol Hepatol*, 1991; 3: S26
15. Hay J, Lindor K, Wiesner R i wsp: The metabolic bone disease of primary sclerosing cholangitis. *Hepatology*, 1991; 14: 257–61
16. Holtmeier J, Lauschner U: Medical treatment of primary biliary cirrhosis and primary sclerosing cholangitis. *Digestion*, 2001; 64: 137–50
17. Janes C, Dickson R, Okazaki R i wsp: Role of hyperbilirubinaemia in the impairment of osteoblast proliferation associated with cholestatic jaundice. *J Clin Invest*, 1995; 95: 2581–86
18. Vermeer C, Knapen M, Schurgers L: Vitamin K and metabolic bone disease. *J Clin Pathol*, 1998; 51: 424–26
19. Kaplan M, Goldberg M, Matloff D i wsp: Effect of 25-hydroxyvitamin D3 on vitamin D metabolites in primary biliary cirrhosis. *Gastroenterology*, 1981; 81: 681–85
20. Springer J, Cole D, Rubin L i wsp: Vitamin D-receptor genotypes as independent genetic predictors of decreased bone mineral density in primary biliary cirrhosis. *Gastroenterology*, 2000; 118: 145–51
21. Pares A, Guanabens N, Alvares L i wsp: Collagen type I α 1 vitamin D receptor gene polymorphisms and bone mass in primary biliary cirrhosis. *Hepatology*, 2001; 33: 554–60
22. Rouillard S, Lane N: Hepatic osteodystrophy. *Hepatology*, 2001; 33: 301–7
23. Adler R, Rosen C: Glucocorticoids and osteoporosis. *Endocrinol Metab Clin*, 1994; 23: 642–54
24. Delmas P: Treatment of postmenopausal osteoporosis. *Lancet*, 2002; 359: 2018–26
25. Chapuy M, Arlot M, Duboeuf F: Vitamin D3 and calcium to prevent hip fractures in the elderly women. *N Engl J Med*, 1992; 327: 1637–42
26. Chapuy M, Arlot M, Delmas P i wsp: Effect of calcium and cholecalciferol treatment for three years of hip fractures in elderly women. *BMJ*, 1994; 308: 1081–82
27. Lips P, Grasmans W, Ooms M i wsp: Vitamin D supplementation and fracture incidence in elderly persons: a randomized, placebo controlled clinical trial. *Ann Intern Med*, 1996; 124: 400–6
28. Heathcote J: Management of primary biliary cirrhosis. Boston 2004, AASLD Practice Guidelines, 2004; 1005–13
29. Lindsay R, Hart D, Forrest C i wsp: Prevention of spinal osteoporosis in oophorectomised women. *Lancet*, 1980; 2: 1151–54
30. Lufkin E, Wahner H, O'Fallon W: Treatment of postmenopausal osteoporosis with transdermal estrogen. *Ann Intern Med*, 1992; 117: 1–9
31. Torgerson D, Bell-Syer S: Hormone replacement therapy and prevention of nonvertebral fractures: a meta analysis of randomized trials. *BMC Musculoskelet Disord*, 2001; 2: 7
32. Torgerson D, Bell-Syer S: Hormone replacement therapy and prevention of nonvertebral fractures: a meta analysis of randomized trials. *JAMA*, 2001; 285: 2891–97
33. Olsson R, Mattson L, Obrant K, Mellstrom D: Estrogen-progesterone therapy for low bone mineral density in primary biliary cirrhosis. *Liver*, 1999; 19: 188–92
34. Chestnut C, Silverman S, Andriano K: A randomized trial of nasal spray salmon calcitonin in postmenopausal women with established osteoporosis: the prevent recurrence of osteoporotic fractures study. *Am J Med*, 2000; 109: 267–76
35. Pols H, Felsenberg D, Hanley D: Multinational, placebo-controlled, randomized trial of the effects of alendronate on bone density and fracture risk in postmenopausal women with low bone mass: results of the FOSIT study. *Osteoporos Int*, 1999; 9: 461–68
36. Donahue J, Chan A, Andrade S i wsp: Gastric and duodenal safety of daily alendronate. *Arch Intern Med*, 2002; 162: 936–42
37. Groen P, Lubbe D, Hirsch L i wsp: Esophagitis associated with the use of alendronate. *N Engl J Med*, 1996; 335: 1016–21
38. Guanabens N, Pares A, Monegal A i wsp: Etidronate versus fluoride for treatment of osteopenia in primary biliary cirrhosis: preliminary results after 2 years. *Gastroenterology*, 1997; 113: 219–24
39. Musialik J, Petelenz M, Gonciarz Z: Effects of alendronate on bone mass in patients with primary biliary cirrhosis and osteoporosis. Preliminary results after 1 year. *Scand J Gastroenterol*, 2005; 40: 873–74
40. Collier J: Bone disorders in chronic liver disease. *Hepatology*, 2007; 46: 1271–78

Rak wątrobowokomórkowy

Hepatocellular carcinoma

Marek Krawczyk

Katedra i Klinika Chirurgii Ogólnej, Transplantacyjnej i Wątroby, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Warszawa

Summary: Hepatocellular carcinoma (HCC) is one of the common malignant tumors worldwide. HCC is the fifth leading cause of death on a worldwide basis. The major risk factors for development of HCC are now well defined: chronic viral hepatitis B, C and D, toxins and drugs (e.g. alcohol, aflatoxins, anabolic steroids) and metabolic liver diseases (e.g., hereditary hemochromatosis, alpha 1-antitrypsin deficiency). Hepatocarcinogenesis is a multi-step process involving different cellular alteration leading to malignant transformation of the hepatocyte. Clinical presentation is not typical and different, depending on stage at discovery and the geographic location of the patient. Paraneoplastic syndromes including erythrocytosis, hypoglikemia and porphyria cutanea tarda are described. AFP is widely used HCC screening test. Routine imaging with USG, CT scan and MRI is the diagnostic procedure and follow abnormal laboratory tests. After that a needle biopsy may be performed, when indicated. The optimal treatment for HCC is surgical resection with the curative intent. However, even after a margin-negative excision, intrahepatic recurrence develops in 70 percent of patients. Most of them represent either multi-focal disease or new primary cancers. This unacceptable results has justified increasing rate of liver transplantation for cancer patients. Percutaneous ethanol injection has been widely performed as an alternative to surgery in patients with small HCCs. Radiofrequency ablation produces thermal destruction with an electric current that passes to the tumor via electrode tip, resulting in heat generation and coagulative necrosis. Transcatheter arterial chemoembolization is one of the popular and effective treatments for patients with unresectable HCC.

Słowa kluczowe: patogeneza • czynniki ryzyka rozwoju HCC • klasyfikacja guzów wątroby • objawy kliniczne • diagnostyka obrazowa guzów wątroby i metody terapeutyczne

Key words: pathogenesis • risk factors • classification and staging of hepatic tumor • clinical features • radiographic evaluation and therapy modalities

Adres do korespondencji: Marek Krawczyk, Katedra i Klinika Chirurgii Ogólnej, Transplantacyjnej i Wątroby, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Warszawa, Polska, e-mail: hepaclin@wum.edu.pl

Wstęp

Rak wątrobowokomórkowy (*ang. Hepatocellular carcinoma – HCC*) dotyczy około 90% wszystkich chorych z pierwotnymi guzami wątroby. W całej populacji jest 5-tym najczęściej występującym nowotworem. 5% wszystkich chorych na nowotwory choruje na raka wątrobowokomórkowego. Szacuje się, że rocznie umiera na świecie na raka wątrobowokomórkowego ponad 500 000 chorych, a w Polsce ponad 2500. Znacznie częściej występuje u mężczyzn niż u kobiet.

Częstość występowania tego nowotworu jest uwarunkowana geograficznie z ogromną przewagą krajów dalekiego wschodu. Średnio na świecie występowanie HCC dotyczy ok. 15 osób na 100 000, ale np. w Mongolii, ten współczynnik może wynosić nawet 99 na 100 000. W krajach basenu Morza Śródziemnego

jest to 11–20, podczas gdy w Skandynawii poniżej 5 na 100 000 mieszkańców. W Polsce oblicza się częstość zachorowania u mężczyzn na 5, a wśród kobiet 3 na 100 000 osób.

Najczęstszym czynnikiem sprzyjającym rozwojowi HCC jest marskość wątroby, w tym przede wszystkim zakażenie wirusowe wątroby. Obecnie podkreśla się, że zakażenie wirusem C jest głównym czynnikiem ryzyka i w ten sposób tłumaczy się wzrost zachorowań, choć do tej pory zwracano uwagę przede wszystkim na zakażenie wirusem B. Łącznie zakażenie HBV i HCV dotyczy około ¾ chorych na HCC. Na wzrost współczynnika występowania HCC ma niewątpliwie także rozwój diagnostyki, jak również poprawa umiejętności i sposobów leczenia chorych na marskość. To wszystko powoduje, że jeszcze co najmniej 3 dekady będzie się obserwować narastanie liczby chorych na HCC.

Czynniki ryzyka

Marskość wątroby

U 80–90% chorych HCC rozwija się na podłożu wątroby marskiej lub o znacznym stopniu włóknienia mięszu. Do dzisiaj nie wiadomo, czy zależy to od procesów regeneracyjnych zachodzących w marskiej wątrobie, czy też ten sam czynnik, który prowadzi do marskości bezpośrednio jest czynnikiem powodującym rozwój raka wątrobowokomórkowego. Marskość na podłożu wirusowego zapalenia wirusami hepatotropowymi prowadzi częściej do HCC niż np. pierwotna żółciowa marskość wątroby. Nakładanie się wielu czynników na marskość pozapalną, w tym spożywanie dużej ilości alkoholu czy genetyczna hemochromatoza zwiększają ryzyko powstania HCC. Należy również pamiętać o takich prostych czynnikach ryzyka jak płeć męska, czy zaawansowany wiek (upływ czasu trwania marskości).

Zakażenie wirusem C

W krajach świata zachodniego 70% chorych na HCC ma dodatni wynik antyHCV. Oblicza się, że rozwój HCC następuje po ok. 30 latach od zakażenia wirusem C. Należy, więc przypuszczać, że w najbliższych dwóch dekadach liczba chorych z HCC co najmniej podwoi się. Szczególnie rośnie to zagrożenie u chorych z podwyższonymi wartościami transaminazy alaninowej (ALT). Zagrożenie rozwojem HCC u chorych z HCV wzrasta wraz ze współistnieniem zakażenia wirusem B, HIV, nadużywaniem alkoholu, cukrzycą, otyłością i wiekiem (>60 r.ż.) [1,2]. Z kolei badania biologii molekularnej nie potwierdziły interferencji HCV – RNA w genom hepatocytów. Brak szczepionki uodporniającej przeciw HCV powoduje, że jedynym czynnikiem zmniejszającym ryzyko rozwoju HCC u chorych z HCV jest skuteczne leczenie przeciwwirusowe.

Zakażenie wirusem B

Zarówno obserwacje epidemiologiczne, jak i badania na poziomie molekularnym wskazują, że zakażenie wirusem B jest czynnikiem karcinogennym. Szczepienia ochronne, jak wykazały badania w niektórych krajach w sposób spektakularny obniżyły nawet o 60% zapadalność na HCC [3]. HBV – DNA jest znajdowane w genomie hepatocytów zmienionych nowotworowo, mimo, że nie stwierdza się zmian w markerach serologicznych zakażenia HBV. Ponadto zagrożenie rakiem wątrobowokomórkowym wzrasta wraz nasileniem replikacji wirusa [4].

Inne czynniki wirusowe

Nie udokumentowano dotychczas by zakażenie HDV, HAV i HEV były same czynnikami ryzyka dla rozwoju HCC.

Alkohol

Picie alkoholu ponad 50–70 g/dzień 13-krotnie zwiększa ryzyko rozwoju HCC. Należy jednak pamiętać, że u ok. 70% chorych taka sytuacja współistnieje z zakażeniem wirusem C.

Niealkoholowe stłuszczenie wątroby

Otyłość, zwłaszcza w powiązaniu z cukrzycą prowadzą do tzw. *non-alcoholic fatty liver (NAFLD)* i usposabia do powstania HCC.

Aflatoksyna

Aspergillus flavus jest grzybem pleśniowym, który zanieczyszcza niewłaściwie przechowywaną żywność w Azji i w Afryce. Grzyb ten jest bogaty w aflatoksynę. Powoduje ona mutacje genu p53 i rozwój HCC w zdrowej wątrobie, ale także poprzez nakładanie się na inne czynniki prowadzące do HCC [5].

Choroby metaboliczne

Hemochromatoza należy do klasycznych schorzeń metabolicznych, które prowadzą do HCC występującego aż 200 częściej w marskości rozwijającej się na tym tle. Do innych schorzeń metabolicznych zwiększających ryzyko powstania raka wątrobowokomórkowego należą: niedobór alfa-1-antytetrypsyny, porfiria, tyrozyńemia, rzadziej choroba Wilsona. Mutacja genu p53 jest prawdopodobnym mechanizmem powstania raka.

Gruźlak, leki antykoncepcyjne i anaboliki

Gruźlak powstający na podłożu długotrwałego stosowania leków antykoncepcyjnych lub androgenów jest rzeczywistym zagrożeniem powstania HCC u ok. 10% chorych [6].

Patologia

W wątrobie marskiej są widoczne różnej wielkości guzki. Zwykle guzki mniejsze niż 2 cm nie są rakiem wątrobowokomórkowym, choć wykazują znacznego stopnia dysplazję. Guzki większe niż 2 cm są z kolei bardzo często rakiem wątrobowokomórkowym. Makroskopowo na przekroju mają ogniska z wylewaniami krwawymi, obecnością żółci, stłuszczeniem i ogniskami martwicy. Są ogniskami hyperwaskularnymi. Wyróżnia się trzy rodzaje HCC:

- jednoogniskowy, rosnący rozprzężająco;
- typ naciekający;
- typ rozlany, wieloogniskowy.

Zmiany jednoogniskowe są często miękkimi guzami. Każdy rodzaj zmian może zawierać włóknistą torebkę. Dotyczy ok. 80% ognisk HCC. Częstość znajdowania ognisk raka poza otorebkowaną zmianą zależy od wielkości guza. Dla ognisk <2 cm częstość zmian poza ogniskiem HCC wynosi ok. 30%, dla zmian >2 cm wzrasta do ok. 65%. Istotnym jest, że ponad 50% HCC jest zmianami wieloogniskowymi. Wieloogniskowość wiąże się z faktem karcinogenezy w wielu miejscach uszkodzonej wątroby. Innym czynnikiem występowania jednoczasowo kilku zmian jest przenoszenie się komórek raka poprzez układ wrotny. Rak wątrobowokomórkowy może być bardzo zróżnicowany. Guzy dobrze zróżnicowane mogą być zbudowane prawie z normalnych hepatocytów, mieć strukturę beleczkową i budowę płacikową. W biopsji zmiana taka jest bardzo trudna do rozpoznania. Charakterystyczną cechą HCC jest jego powinowactwo i inwazyjność w stosunku do układu wrotnego. Jest to bardzo zły czynnik rokowniczy. Powoduje to możliwość rozprzestrzeniania się w mięszu wątroby, ale również narastanie skrzepliny w naczyniach wrotnych w obu kierunkach, niekiedy z zakrzepicą pnia żyły wrotnej i gwałtownym narastaniem nadciśnienia wrotnego, a następnie z krwotokami z żyłaków i gwałtownym wodobrzuszem.

Naciekanie żył wątrobowych jest o wiele radsze, choć zdarza się, że czop nowotworowy infiltruje w kierunku żyły głów-

Tabela 1. Klasyfikacja TNM guzów wątroby.

Stopień zaawansowania	Guz	Zmiany w węzłach chłonnych	Przerzuty
I	T1	N0	M0
II	T2	N0	M0
III	T3	N0	M0
	T1, T2, T3	N1	M0
IVa	T4	Każde N	M0
IVb	Każde T	Każde N	M1

nej dolnej, a nawet przedsionka. Jest to droga powstawania przerzutów do płuc.

Najrzadziej HCC nacieka drogi żółciowe, bądź je uciska, a nawet może doprowadzić do zatykania przewodów wątrobowych tkankami martwiczymi.

Przerzuty HCC spotyka się w płucach, rzadziej w układzie kostnym, gruczołach nadnerczowych, nerkach mózgu czy trzustce. Klasyfikacja raków wątrobowo-komórkowych opiera się na klasyfikacji TNM (Tabela 1).

Pierwotny guz

- T1 pojedynczy guz <2 cm, bez zmian w naczyniach
- T2 pojedynczy guz <2 cm, ale z naciekaniem naczyń; lub zmiany wieloogniskowe, ale w jednym płacie i o średnicy <2 cm i bez naciekania naczyń; lub guz >2 cm, pojedynczy bez naciekania naczyń
- T3 pojedynczy guz o średnicy >2 cm, z naciekaniem naczyń; lub wieloogniskowe zmiany o średnicy <2 cm, w jednym płacie, ale z naciekaniem naczyń
- T4 wieloogniskowe zmiany w obu płatach; lub każdy guz z naciekaniem na duże pnie wrotne lub żył wątrobowych; lub z przerwaniem torebki Glissona

Węzły chłonne

- N0 – bez przerzutów
- N1 – z przerzutami do węzłów chłonnych

Przerzuty

- M0 – bez przerzutów
- M1 – z ogniskami przerzutowymi

Objawy kliniczne

Objawy kliniczne raka wątrobowokomórkowego są zależne od dwóch czynników: stopnia złośliwości guza nowotworowego i wydolności mięszu wątroby. Współcześnie powinno się wszystkich chorych z czynnikami ryzyka rozwoju raka poddawać rutynowym badaniom kontrolnym w celu wykrycia zmian bezobjawowych, bo tylko w takiej sytuacji istnieje możliwość skutecznego leczenia.

Objawy kliniczne HCC u chorych na marskość można podzielić na następujące sytuacje kliniczne:

- 1. Krwawienie z pękniętego guz do jamy otrzewnej. Dotyczy to chorych z HCC położonymi podtorebkowo lub rosną-

cymi egzofitycznie. Chorzy skarżą się na nagły, ostry ból w nadbrzuszu. Rozwijają się objawy hypowolemii (dotyczy ok. 50% chorych) i podrażnienia otrzewnej. Samoistne pęknięcie występuje u 5–15% chorych [7].

- 2. Inne objawy, które nie są charakterystyczne dla HCC to: krwawienie z żyłaków przełyku lub gwałtowne nastanie wodobrzusza pojawiające się w sytuacji wnikania tkanki nowotworowej do pnia lub dużych gałęzi żyły wrotnej; zator tętnicy płucnej (występuje rzadko i tylko wówczas, gdy nowotwór penetruje do żył wątrobowych); objawy związane z naciekaniem dróg żółciowych występują rzadko, w około 1–2% chorych.
- 3. Należy pamiętać również, choć występują one rzadko, o „paranowotworowych” objawach, takich jak poliglobulia, hiperkalcemia czy hipoglikemia.
- 4. W przypadku zaawansowanych zmian pojawia się osłabienie, utrata masy ciała, brak apetytu, gorączka.

Inny obraz kliniczny dotyczy chorych z rakiem wątrobowo-komórkowym rozwijającym się w wątrobie zdrowej. Zwykle ujawnia się jako duży guz, dopiero gdy uwypukla powłoki nadbrzusza, bądź też sprawia chorym ból poprzez naciekanie np. na przeponę, lub daje objawy uciskowe na sąsiednie narządy. Objawom tym mogą towarzyszyć dolegliwości niespecyficzne jak utrata masy ciała, apetytu, osłabienie.

Przedmiotowo chorzy na marskość demonstrują objawy marskości jak wodobrzusze, krążenie oboczne widoczne w powłokach jamy brzusznej, żyłaki przełyku. Bardzo rzadko guz jest wyczuwalny podczas badania jamy brzusznej, raczej wyczuwa się powiększenie wątroby i śledziony.

Badania laboratoryjne

Do typowych markerów raka wątrobowokomórkowego należy alfafetoproteina (AFP). Jej wzrost obserwuje się w bardzo szerokim zakresie od 500 ng/ml do ponad 10 000 ng/ml. W przypadku chorych na marskość wzrost jest charakterystyczny dla tej choroby. Warto podkreślić, że wzrost AFP w 95% wiąże się z rozwojem guza, ale aż ok. 40% pacjentów choruje na raka wątrobowokomórkowego bez podwyższenia stężenia AFP [8]. Niemniej wysokie stężenia AFP wskazują na dużą agresywność nowotworu, naciekanie naczyń wrotnych itp. Rokowanie u tych chorych jest gorsze. Z kolei 30% chorych na marskość może mieć miernego stopnia podwyższenie AFP bez obecności guza i wówczas wskazuje to na aktywny proces zapalny w wątrobie i współistnieje często z podwyższeniem aktywności transaminaz.

W badaniach skriningowych chorych na marskość AFP obok USG jamy brzusznej jest wskazówką do konieczności dalszej diagnostyki.

Jeśli guz uciska na drogi żółciowe wzrasta stężenie bilirubiny (choć może być wykładnią niewydolności wątroby), podwyższona jest aktywność fosfatazy alkalicznej, gammaglutamylotranspeptydazy.

Badania wizualizacyjne

Celem tych badań jest:

- 1. Ustalenie wielkości, liczby zmian i ich topografii.
- 2. Różnicowanie z innymi zmianami ogniskowymi w wątrobie.
- 3. Ustalenie stopnia uszkodzenia mięszu wątroby.

Tabela 2. Diagnostyka raka wątrobowokomórkowego.

Wielkość guza	Postępowanie diagnostyczne
<1 cm	Kontrolne USG i AFP 1 × na 6 miesięcy
1–2 cm	USG, KT, RM, biopsja
>2 cm	USG, KT, MR

- 4. Ocena naczyń wątroby, w tym przede wszystkim drożności układu wrotnego.
- 5. Ustalenie stopnia nadciśnienia wrotnego, stwierdzenie splenomegalii, istnienia żyłaków przełyku, wodobrzusza.
- 6. Wykorzystywanie do badań skriningowych.
- 7. W oparciu o wyniki badań wizualizacyjnych ustalenie właściwego leczenia.

Liczba zmian, ich wielkość, istnienie ognisk satelitarnych, stwierdzenie zmian pozawątrobowych, naciekanie układu wrotnego, żył wątrobowych, czy dróg żółciowych determinuje zakres możliwości terapeutycznych. Do klasycznych badań wizualizacyjnych należą: ultrasonografia, tomografia komputerowa i rezonans magnetyczny. Rzadziej wykonuje się angiografię lub scyntyografię.

Ultrasonografia

USG należy do podstawowych badań. W doświadczonych rękach wykrywa się dzięki USG przezbrzuszej 85–95% zmian o średnicy >5 cm i 60–80% zmian o średnicy 1 cm. HCC o średnicy około 1cm jest guzkiem hypoechogennym lub homoechogennym. Wraz ze wzrostem wielkości staje się zmianą hyperechogenną, a najczęściej heteroechogenną. Połączenie badania z badaniem dopplerowskim pozwala niekiedy uwidocznić naczynia doprowadzające krew do guzka, ale przede wszystkim ocenić naciekanie na naczynia wrotne, czy żyły wątrobowe. Ponadto badanie USG uwidacznia wiele cech marskości wątroby i jej powikłań jak wodobrzusze, krążenie oboczne, splenomegalię itp.

W ostatnich latach USG zostało wzbogacone o możliwości badań kontrastowych. Dożylnie podaje się preparaty, które doprowadzają do powstania w krwioobiegu bardzo drobnych cząsteczek gazu uwidaczniających w sposób jeszcze bardziej dokładny zmiany ogniskowe w wątrobie, ich wielkość, lokalizację itp.

Tomografia komputerowa

Spiralna tomografia komputerowa (KT), zwłaszcza przy użyciu wielorzędowych aparatów umożliwia bardzo precyzyjną ocenę zmian ogniskowych w wątrobie. Badanie rozpoczyna się przed podaniem kontrastu, a następnie wykonuje się zdjęcia w fazie tętnicznej, wrotnej i mięszonej [9]. Typowe ogniska HCC są hypodensyjne, ale wraz ze zmianą wielkości zmienia się obraz zwłaszcza, że w wielu ogniskach raka wątrobowokomórkowego dochodzi do wylewów krwawych, obszarów martwicy. Torebka guza, jeśli istnieje, to jest najlepiej widoczna w fazie wrotnej lub późnej. Podczas badania ocenia się także drożność naczyń wrotnych, żylnych oraz ich anatomię (angio KT). W CT widoczne są także cechy charakterystyczne dla marskości wątroby.

Tabela 3. Skala Child’a i Pugh’a.

Liczba punktów	1	2	3
Stężenie albuminy (g/dl)	>3,5	2,8–3,5	<2,8
Stężenie bilirubiny (g/dl)	1–2	2–3	> 3
Czas protrombinowy (sek)	<4	4–6	>6
Encefalopatia (stopień)	Nie ma	I–II	III–IV
Wodobrzusze	Nie ma	Niewielkie	Nasilone
Punkcja	5–6	7–9	10–15
Skala wg Childa	Child A	Child B	Child C

Rezonans magnetyczny

Rezonans magnetyczny (RM) zwiększa możliwości diagnostyczne. W fazie T1 HCC ma wygląd hypointensywny (w naczewnictwie potocznym podaje się jako obniżony sygnał), podczas gdy w T2 jest hyperintensywny. Dobrze widoczna jest torebka guza. Należy jednak pamiętać, że małe zmiany, o średnicy poniżej 1,5 cm mogą być hypointensywne w obu fazach. Badanie ma większą wartość, gdy zostanie podany kontrast. Najczęściej jest to gadolinium.

Połączone badania KT i RM pozwalają ustalić rozpoznanie u >80% chorych. Niemniej wiarygodność tych badań jest zależna od wielkości zmian i dla guzków <1 cm wynosi ok. 34% [10].

Angiografia

Rola tego badania została w erze rozwoju USG, CT i RM zmniejszona. Obecnie raczej wykorzystuje się go do chemoembolizacji oraz niekiedy do leczenia chorych z pękniętym guzem (techniki radiologii interwencyjnej).

Rozpoznanie raka wątrobowokomórkowego

Panel ekspertów w 1999 r. i w 2001 r. w Barcelonie [11,12] podał kryteria rozpoznania HCC. Zmiany ogniskowe w wątrobie marskiej o średnicy <1 cm widoczne w USG są zmianami nowotworowymi w 50% przypadków. Różnicowanie ich zarówno za pomocą komputerowej tomografii, rezonansu magnetycznego, jak i biopsji jest wątpliwe. W tej sytuacji zaleca się wykonywanie co 6 miesięcy ultrasonografii. W przypadku powiększenia się zmiany do wielkości pomiędzy 1–2 cm konieczna jest wnikliwa diagnostyka z wykorzystaniem spiralnej tomografii, rezonansu magnetycznego, ewentualnie biopsji. Zmiany ogniskowe (Tabela 2) o średnicy >2 cm jeśli w dwóch badaniach (w różnych układach np. USG i KT lub KT i MR) wykazują cechy hyperwaskularyzacji i AFP jest >400 ng/ml są rozpoznawane jako HCC. W przypadku zmian pomiędzy 1–2 cm średnicy należy rozpoznanie ustalić wykonując biopsję. Rutynowe wykonywanie biopsji nie ma uzasadnienia, gdyż fałszywie negatywne wyniki dotyczą grupy 30–40% chorych [13], a wynik negatywny nie zwalnia z wykluczenia rozpoznania nowotworu.

Prognozowanie przeżycia

Dotychczasowe klasyfikacje jak skala Child’a i Pugh’a (Tabela 3) zostały uznane, jako o ograniczonym znaczeniu rokowniczym. Poniżej przedstawiono dwie bardziej współ-

Tabela 4. Skala Okudy.

Wielkość guza	Występowanie wodobrzusza	Stężenie albuminy	Stężenie bilirubiny	Istnienie obrzęków	Grupa
Guz <5 cm	Nie ma	Norma	Norma	Nie ma	I
Guz >5 cm	Nie ma	Norma	Norma	Nie ma	II
Guz >5 cm	Obecne	Obniżone	Podwyższone	Obecne	III

Tabela 5. Skala prognostyczna.

Nazwa skali	CLIP	Liczba punktów	CUPI	Liczba punktów
Morfologia guza	Zmiany wieloogniskowe <50%	1	TNM I i II	-3
	Zmiany wieloogniskowe >50%	2	TNM III	-1
Stężenie alfafetoproteiny	Zakrzepica żyły wrotnej	1		
	AFP >400 ng/l	1	AFP >500 ng/ml	3
	Child-Pugh A	0	Bilirubina <34 umol/ml	0
	Child- Pugh B	1	Bilirubina <34–51 umol/ml	3
	Child Pugh C	2	Bilirubina >51 umol/ml	4
			Fosfataza zasadowa >200 IU/l	3
Stan ogólny			Przebieg bezobjawowy	-4
Liczba punktów		0 do 6		-7 do 12

czesne i lepiej odpowiadające rzeczywistości w prognozowa-
nie przeżycia chorych z HCC.

W rozważaniach klinicznych pomocna bywa również skala
Okudy (Tabela 4), która jeszcze dzisiaj bywa wykorzystywa-
na w podejmowaniu decyzji o operacji. Chorzy z grupy I są
kwalifikowani do operacji, w grupie II decyzja jest indywidu-
alna, a w grupie III operacja jest przeciwwskazana.

Inne proponowane skale prognostyczne przedstawiono
w Tabeli 5. Im mniej punktów wynika z obliczeń tym roko-
wanie jest lepsze.

Testy skriningowe

Najlepsze wyniki leczenia uzyskuje się w grupie chorych,
u których guz nie przekracza 3 cm. Z kolei wiadomym jest,
że podwojenie masy guza następuje w ciągu 6–12 miesięcy.
W oparciu o te dane zaleca się wykonywanie w grupie cho-
rych podwyższonego ryzyka (płeć męska, chorzy na mar-
skość, zakażenie wirusem B i C, hemochromatoza, naduży-
wanie alkoholu) raz na 6 miesięcy oznaczeń AFP i USG jamy
brzuszej. Wzrost stężenia AFP lub zmiany w USG upoważ-
niają do wykonania pełnej diagnostyki z wykorzystaniem KT
i RM. Należy jednak podkreślić, że najnowsze opinie chirur-
gów amerykańskich odrzucają alfafetoproteinę, jako istotny
wskaźnik, uważając, że każdy guzek o średnicy >1 cm w wą-
trobie marskiej powinien być traktowany jako wczesna po-
stać HCC i bardzo dokładnie oceniany [14].

Te ogólne zalecenia mają swoje ograniczenia. Np. Chorzy
w grupie B i C Childa nie są kandydatami do resekcji wą-
troby. Sens wykonywania kontrolnych badań u tych chorych

byłby wówczas, gdybyśmy mogli zapewnić im transplantację
wątroby w przypadku ustalenia wskazań, a bardzo często ta-
kiej możliwości nie ma. Tak więc naprawdę wykonywanie
screeningu jest uzasadnione u chorych grupy A wg klasyfi-
kacji Childa i ewentualnie B.

Leczenie

Możliwości terapeutyczne zależą od wielkości guza, stanu
ogólnego chorego i stanu jego wątroby. Obecnie dysponuje
się wieloma opcjami leczniczymi począwszy od resekcji wątro-
by, przez przeszczepianie, niszczenie guza wysokimi i niskimi
temperaturami, alkoholizację czy też chemoembolizację.

HCC w wątrobie zdrowej

Guz ten rozwija się zwykle u młodych chorych. W większości
jest to zmiana ogniskowa pojedyncza. W tej grupie pacjentów
potencjał regeneracyjny wątroby jest bardzo duży.

Postępowaniem z wyboru u tych chorych jest resekcja wą-
troby, która może być w przypadku takich wskazań bardzo
rozległa. Z kolei transplantacja ze względu na niebezpie-
czeństwo nawrotu choroby (leczenie immunosupresyjne)
jest co najmniej dyskusyjna.

HCC u chorych na marskość

Takie czynniki jak wieloogniskowość zmian, znacznego stop-
nia uszkodzenie mięszu wątroby i ryzyko nawrotu lub ra-
czej ujawnienia się nowotworu w innej części wątroby limi-
tują możliwości leczenia chorych na HCC, który powstał
w wątrobie marskiej.

Tabela 6. Kwalifikacja chorego do resekcji wątroby.

	Resekcja wskazana
Child A	tak
Child B	wątpliwa
Child C	nie
Transaminazy podwyższone <2 krotnie	tak
Wodobrzusze obecne	nie
Nadciśnienie wrotne znacznego stopnia	nie
Liczba płytek krwi <100 000 w 1 mm ³	nie

Tabela 7. Czynniki usposabiające do nawrotu raka wątrobowokomórkowego.

L.p.	Rodzaj czynnika
1.	Stopień marskości wątroby
2.	Liczba zmian większa niż 1
3.	Średnica guza >5 cm
4.	Brak torebki guza
5.	Małe zróżnicowanie histopatologiczne guza
6.	Istnienie guzków satelitarnych
7.	Naciekanie na naczynia
8.	Guzy rosnący przez naciekanie
9.	Niewystarczający margines podczas resekcji
10.	Konieczność przetaczania krwi podczas operacji

Chorzy w grupie C wg klasyfikacji Childa (Tabela 6) nie są kandydatami do resekcji wątroby. Chorzy w grupie B mogą być kwalifikowani do resekcji w ograniczonym zakresie. Jedynie pacjenci z prawidłowym stężeniem bilirubiny, bez wodobrzusza, z prawidłowym wskaźnikiem protrombinowym mogą być poddani leczeniu operacyjnemu.

W przeszłości przed decyzją o resekcji wątroby wykonywano różne testy oceniające wydolność wątroby. Współcześnie korzysta się najczęściej z testu z zielenią indocyaninową oceniając retencję barwnika po 15 min. Za przeciwwskazanie do resekcji uważa się podwyższenie transaminaz, wodobrzusze, znaczne nadciśnienie wrotne, zmniejszona liczba płytek krwi.

Zakres wykonywanych resekcji jest ograniczony. Rzadko wykonuje się hemihepatektomię. W sytuacji, gdy istnieje szansa na regenerację wątroby (chorzy w grupie A) przed zabiegiem wykonuje się embolizację gałęzi żyły wrotnej, by doprowadzić do zwiększenia masy wątroby, która pozostanie. Przerost jest zauważalny w ciągu 2–6 tygodni od zabiegu. Z analizy wynika, że zmniejsza niebezpieczeństwo powikłań po resekcji nawet o 50%.

Resekcje wątroby są obciążone znacznym odsetkiem nawrotów raka [15]. Wynika to z faktu, że przyczyną powstania raka jest zmieniony miąższ wątroby. I tak nawrót w cią-

Tabela 8. Kryteria transplantacji wątroby.

	Kryteria mediolańskie	Kryteria San Francisco
Liczba zmian i wielkość (średnica)	1 <5 cm 2–3 <3 cm	1 <6,5 cm 2–3 <4,5 cm, średnica wszystkich zmian <8 cm
Stosunek do naczyń żylnych	Nie ma naciekania	Istnieje naciekanie
Istnienie zmian pozawątrobowych	Nie ma zmian pozawątrobowych	Nie ma zmian pozawątrobowych

gu 1 roku wynosi 40%, w ciągu 2 lat – 60%, a okresie 5 lat nawet 80%. Czynniki, które usposabiają do nawrotu choroby podano w Tabeli 7.

Przeszczepianie wątroby z powodu raka wątrobowokomórkowego

Rak wątrobowokomórkowy jest nowotworem, który może być leczony przeszczepianiem wątroby. Wykonując transplantację usuwamy zmiany rozpoznane i nierozpoznane przed operacją, ale także wycinamy całą wątrobę, której tkanka jest niejako podłożem powstania raka. W transplantacji chorych z HCC zmieniała się strategia postępowania. W latach 80. kwalifikowano chorych z nowotworami, którzy ze względu na wielkość nie mogli być poddani resekcji. Powodowało to szybkie nawroty choroby nowotworowej uwiadamiającej się nie zawsze w samym narządzie, a częściej poza nią. Obecnie najlepsze wyniki po transplantacji uzyskuje się jeśli spełnione są tzw. kryteria mediolańskie (Tabela 8) [16,17], które precyzują wskazania do transplantacji wątroby.

5-letnie przeżycia przy stosowaniu takich kryteriów wynoszą od 70–75% [18]. Są więc podobne do wyników przeszczepień z powodu innych wskazań. Mała liczba narządów do przeszczepienia spowodowała, że czas oczekiwania na transplantację wydłuża się. W niektórych krajach stwarza się preferencję w transplantacjach dla chorych z HCC. Zaakceptowano także przeszczepianie wątroby od dawcy żywego spokrewnionego. Chorzy będący na listach oczekujących są poddawani leczeniu. Obecnie najczęściej jest to chemoembolizacja lub też termoablacja.

W niektórych ośrodkach wskazania do transplantacji z powodu raka wątrobowokomórkowego zostały poszerzone. Zaakceptowano w nich tzw. kryteria San Francisco z Uniwersytetu w Kalifornii (Tabela 8). Dane z ośrodków tych przekonują, że w tych poszerzonych wskazaniach wyniki nie są gorsze [19].

Inne sposoby leczenia chorych na raka wątrobowo-komórkowego

Chemoembolizacja

Rak wątrobowo-komórkowy jest nowotworem, który prawie w 100% jest zaopatrywany w krew tętniczą. W oparciu o ten fakt powstała metoda podaży cytostatyku do określonego naczynia tętniczego, co zwiększa jego skuteczność. Zabieg jest

połączony z embolizacją naczynia tętniczego doprowadzającego krew do guza. W efekcie uzyskuje się podwójny efekt leczniczy. Cytostatyki podaje się razem z lipiodolem, który z hepatocytów nowotworowych wypłukiwany jest znacznie później niż ze zdrowej tkanki wątrobowej. Do chemoembolizacji (*ang. transarterial chemoembolisation* – TACE) używa się takich leków jak: doksorubicyna, mitomycyna C, epirubicyna bądź cispłastyna.

Przeciwwskazaniem do chemoembolizacji jest niewydolność wątroby, zakrzepica żyły wrotnej, żółtaczka mechaniczna i niewydolność nerek.

Do TACE kwalifikuje się chorych, którzy nie mogą być leżeni resekcją wątroby lub transplantacją (z wyjątkiem sytuacji, gdy oczekują na przeszczepienie wątroby).

Efekt chemoembolizacji jest widoczny poprzez: zmniejszenie się średnicy guza, zmniejszenie się unaczynienia tętniczego, nie pojawianie się ognisk satelitarnych.

Metody ablacyjne

Metody ablacyjne należą do tzw. *loko-regional* terapii. Wprowadzenie tych metod wiąże się z ograniczonymi możliwościami leczenia resekcją wątroby czy transplantacją tego narządu. Wśród metod tych wyróżnia się:

1. Niszczenie guza poprzez wstrzykiwanie toksycznych roztworów do zmian nowotworowych.
2. Techniki ablacyjne (niszczenie guza przegrzewaniem – termoablacja lub niskimi temperaturami – krioterapia).
3. Metody izotopowe z zastosowaniem promieniowania (np. Yttrium) z zastosowaniem mikrocząsteczek.

Metody te mają swoje ograniczenia. Jedną z nich jest wielkość guza. Zmiany o średnicy ponad 5 cm jest trudno poddać skutecznemu leczeniu wstrzykiwaniem alkoholu, czy termoablacją. Należy również pamiętać, że rak wątrobowokomórkowy bardzo często rozwija się w postaci zmian wieloogniskowych.

Pośród wielu metod należących do tego rodzaju terapii najczęściej stosowane są dwie: alkoholizacja guza i termoablacja.

Alkoholizacja

Zabieg ten został wprowadzony w latach 80 i polega na przezskórnym wstrzykiwaniu absolutnego alkoholu do guza. Wykonuje się go pod kontrolą przezbrzuszną ultrasonografii obserwując zmianę echogeniczności guza aż do uzyskania hyperechogeniczności. Stężony alkohol powoduje odwodnienie komórek i doprowadza tkankę do martwicy. Zabieg można powtarzać, a zmiany większe np. o średnicy 10 cm wymagają kilkakrotnego wstrzykiwania alkoholu. Korzystne wyniki zależne są od wielkości zmiany. W przypadku zmian 3 cm udaje się uzyskać martwicę w 70%, zaś 5 cm w około 50% [20].

Termoablacja

Ablacja termiczna może być obecnie prowadzona za pomocą jednej z trzech metod:

1. Ablacja z użyciem lasera.
2. Ablacja mikrofalowa.
3. Ablacja prądem wysokiej częstotliwości.

Wśród tych metod wykorzystywaną obecnie najczęściej jest *radiofrequency* [21]. Metoda wprowadzona do leczenia guzów w 1993 r. Opiera się na zasadzie zamiany energii elektromagnetycznej w energię cieplną. Pod kontrolą USG do wnętrza guza wprowadza się elektrodę. Bierna elektroda jest umieszczona na udzie chorego. Fala powstająca na elektrodzie wprowadzonej do guza doprowadza do wytwarzania się ciepła, które powoduje martwicę koagulacyjną tkanek. Zabieg ten ma swoje ograniczenia związane z wielkością guza (choć obecne aparaty zwiększają zakres niszczenia – specjalne wiązki elektrody lub jednoczasowe wklucia trzech elektrod) i jego lokalizacją (zmiany w pobliżu dużych naczyń trudno jest „przegrzać”, gdyż ciepło ucieka z krwią). Z kolei umieszczenie w pobliżu dróg żółciowych może zagrażać ich uszkodzeniem. Dla guzów większych niż 3 cm termoablacja jest skuteczniejsza od alkoholizacji [22].

W raku wątrobowokomórkowym o niewielkim stopniu zaawansowania udało się osiągnąć 58% pięcioletnich przeżyć [23] przy niewielkim odsetku powikłań. Leczenie większych guzów tego typu jest jednak trudniejsze. Eksperti zajmujący się leczeniem raka wątrobowokomórkowego uznali termoablację za metodę potencjalnie leczącą, podobnie jak resekcję wątroby i jej transplantację, podkreślając jej zastosowanie u chorych u których zastosowanie metod operacyjnych nie jest możliwe. Jednym z typowych wskazań do termoablacji jest zatrzymanie rozwoju raka wątrobowokomórkowego na czas oczekiwania na narząd u chorych zakwalifikowanych do transplantacji wątroby z granicznymi kryteriami (*„bridge to transplantation”*)

Pozostałe sposoby leczenia chorych na HCC

Zarówno systemowa jak również regionalna chemioterapia dotychczas nie przyniosły przełomu w leczeniu chorych na raka wątrobowo-komórkowego. Spośród nowych sposobów leczenia chemicznego wymienia się schemat o nazwie PIAF, w którym łączy się podawanie Doxorubicyny, cispłastyny, 5-fluorouracylu i interferonu [24]. Także radioterapia zewnętrzna nie poprawia szans leczenia chorych z nieoperacyjnymi HCC [25]. W trakcie badań jest stosowanie terapii przeciwciałami monoklonalnymi (Bevacizumab) [25], immunoterapii [26], czy też czynnikami wzrostu [27]. Pośród wielu wymienianych najbardziej obiecujący wydaje się być schemat PIAF.

W ostatnim okresie nową nadzieję w leczeniu chorych na nieoperacyjnego raka wątrobowokomórkowego wniósł preparat o nazwie Sorafenib. Należy on do leków zaliczanych do terapii celowanych. Lek ten jest inhibitorem kinaz, a przez to doprowadza do zahamowania rozwoju HCC. W badaniach randomizowanych wykazano, że jest to pierwszy lek stosowany w terapii systemowej, który przedłuża życie chorym na raka wątrobowokomórkowego [28,29].

Postać fibrolamelarna raka wątrobowokomórkowego

Postać fibrolamelarna raka wątrobowokomórkowego (*ang. Fibrolamellar carcinoma* – FLC) jest odmienną postacią HCC. Stanowi ok. 2% wszystkich HCC. Występuje w młodszych wiekach (w przedziale 20–35 r.ż.) i nie ma preferencji do płci. Rzadko rozwija się w wątrobie u uszkodzonym mięszu, częściej w lewym płacie wątroby. Często pierwszym objawem jest wyczuwalna w lewym nadbrzuszu masa, ból, utrata apetytu i sił. Alfafetoproteina bywa podwyższona u ok. 15%

chorych z FLC. W badaniach wizualizacyjnych i w budowie morfologicznej jest zwykle dużym guzem, hiperwaskularnym z ogniskiem martwicy w części centralnej i ze zwągnięzieniami. Jest guzem otorebkowanym. Mimo, że na ogół

w momencie rozpoznania jest dużą zmianą, to rokowanie jest lepsze, gdyż rozwój jego jest powolny, częściej jest możliwa resekcja lub transplantacja, a dodatkowo mięśń wątroby jest nieuszkodzony.

Piśmiennictwo:

1. Salomon JA, Weinstein MC, Hammit JK i wsp: Empirically calibrated model of hepatitis C virus infection in the United States. *Am J Epid*, 2002; 156: 761
2. Bruix J, Barrera JM, Calvet X i wsp: Prevalence of antibodies to hepatitis C virus in Spanish patients with hepatocellular carcinoma and hepatic cirrhosis. *Lancet*, 1989; 2: 1004-6
3. Hang MH, Chen CJ, Lai MS i wsp: Universal hepatitis B vaccination in Taiwan and the incidence of hepatocellular carcinoma in children. Taiwan Childhood Hepatoma Study Group. *N Engl J Med*, 1997; 336: 1855-59
4. Yang HI, Lu SN, Liaw YF i wsp: Hepatitis B e antigen and the risk of hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med*, 2002; 347: 168-74
5. Peers FJ, Bosch FX, Kaldor JM i wsp: Aflatoxin exposure, hepatitis B virus and liver cancer in Swaziland. *Int J Cancer*, 1987; 39: 545-53
6. Leese T, Farges O, Bismuth H: Liver cell adenomas. A 12-year surgical experience from the hepatobiliary unit. *Ann Surg*, 1988; 208: 558-64
7. Yeh CN, Lee WC, Jeng LB i wsp: Spontaneous tumour rupture and prognosis in patients with hepatocellular carcinoma. *Br J Surg*, 2002; 89: 1125-29
8. Ikai I, Itai Y, Okita K i wsp: Report of the 15th follow-up survey of primary liver cancer. *Hepat Res*, 2004; 28: 21-29
9. Murakami T, Kim T, Takahashi S i wsp: Hepatocellular carcinoma: multidetector row helical CT. *Abdom Imaging*, 2002; 27: 139-46
10. Burrell M, Llovet JM, Ayuso C i wsp: MRI angiography is superior to helical CT for detection of HCC prior to liver transplantation: an explant correlation. *Hepatology*, 2003; 38: 1034-42
11. Llovet JM, Bru C, Bruix J: Prognosis of hepatocellular carcinoma: the BCLC staging classification. *Semin. Liver Dis*, 1999; 19: 329-38
12. Bruix J, Sherman M, Llovet JM i wsp: Clinical management of hepatocellular carcinoma. Conclusions of the Barcelona 2000 EASL conference. *J Hepatol*, 2001; 35: 421-30
13. Durand F, Regimbeau JM, Belghiti J i wsp: Assessments of the benefits and risks of the percutaneous biopsy before surgical resection of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol*, 2001; 35: 254-58
14. Portolani N, Chen MS, Coniglio A i wsp: Early and late recurrence after liver resection for hepatocellular carcinoma: prognostic and therapeutic implications. *Ann. Surg*, 2006; 243: 229-35
15. Mazzaferro V, Regalia E, Doci R i wsp: Liver Transplantation for the treatment of small hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis. *N Engl J Med*, 1996; 334: 693-99
16. Zieniewicz K, Kornasiewicz O, Krawczyk M i wsp: Influence of Milan criteria on the outcome of liver transplantation in patients with hepatocellular cancer. 5th International Meeting Hepatocellular Carcinoma. Eastern and Western Experiences. Houston. Texas, 11-13th January, 2007
17. Di Bisceglie AM: Pretransplant treatment for hepatocellular carcinoma: Do they improve outcomes? *Liver Transplantation*, 2005; 11: S10-13
18. Di Bisceglie AM: Who and how should a hepatologist screen for hepatocellular carcinoma. American Association for the Study of Liver Diseases. Boston, 2007; 195-98
19. Yao FY, Ferrell L, Bass NM i wsp: Liver transplantation for hepatocellular carcinoma: Expansion of the tumor size limits does not adversely impact survival. *Hepatology*, 2001; 33: 1394-403
20. Takayama T: Early HCC therapy: resection, radiofrequency or transplantation. 5th International Meeting Hepatocellular Carcinoma. Eastern and Western Experiences. Houston. Texas, 11-13th January, 2007
21. Chen MS, Li JQ, Zheng Y i wsp: A prospective randomized trial comparing percutaneous local ablative therapy and partial hepatectomy for small hepatocellular carcinoma. *Ann Surg*, 2006; 243: 321-28
22. Lencioni RA, Allgaier HP, Cioni D i wsp: Small hepatocellular carcinoma in cirrhosis: randomized comparison of radiofrequency thermal ablation versus percutaneous ethanol injection. *Radiology*, 2003; 228: 235-40
23. Choi D, Lim HK, Rhim H i wsp: Percutaneous radiofrequency ablation for recurrent hepatocellular carcinoma after hepatectomy: Long-term results and prognostic factors. *Ann Surg Oncol*, 2007; 14(8): 2319-29
24. Thomas MB: Treatment of multinodular HCC - medical therapy. 5th International Meeting Hepatocellular Carcinoma. Eastern and Western Experiences. Houston. Texas, 11-13th January, 2007
25. Seong J: Combination of radiotherapy with other therapies: Eastern experience. 5th International Meeting Hepatocellular Carcinoma. Eastern and Western Experiences. Houston. Texas, 11-13th January, 2007
26. O'Beirne J: Immunotherapy of hepatocellular carcinoma. Is there the role? 5th International Meeting Hepatocellular Carcinoma. Eastern and Western Experiences. Houston. Texas, 11-13th January, 2007
27. Furuse J, Chan ATC: Growth factors and non growth factors as therapeutic targets in hepatocellular carcinoma. 5th International Meeting Hepatocellular Carcinoma. Eastern and Western Experiences. Houston. Texas, 11-13th January, 2007
28. Llovet JM, Villanueva A: Current management of hepatocellular carcinoma: Going for a cure. American Association for the Study of Liver Diseases. Boston, 2007; 178-84
29. Roberts LR: Emerging experimental therapies for hepatocellular carcinoma: What if you can't cure? American Association for the Study of Liver Diseases. Boston, 2007; 185-94

Myofibroblastyczny guz zapalny wątroby – jedna czy wiele jednostek chorobowych?

Inflammatory myofibroblastic tumor – one or more different diseases?

Krzysztof A. Bardadin

Zakład Patomorfologii Centrum Medycznego Kształcenia Podyplomowego w Warszawie

Summary: Inflammatory myofibroblastic tumor (IMT) or inflammatory pseudotumor (IP) has been discussed in details worldwide as primary tumor of the lung and upper respiratory tract. Histologically, IMT is characterized by a proliferation of spindle cells admixed with variable amounts of lymphoplasmacytic infiltrate. However, reporting of cases involving liver and biliary tree has increased over recent years some of them as a Klatskin's tumor. The terms IMT suggested by World Health Organization in recent classification of soft tissue tumors probably cover many various tumors which have common only one feature – inflammatory infiltrate of neoplastic tissue. There are more immunohistochemical evidences, that some of them are in fact follicular dendritic reticulum cell tumor (FDRcT) usually connected with Epstein-Barr infection. There are also cases of IMT with expression of Anaplastic Lymphoma Kinase (ALK-1) expression. Recently, association with sclerosing cholangitis, especially IgG4-related variant and/or autoimmune pancreatitis was also described. The present review describe pathological aspect of this heterogenous group of tumors.

Słowa kluczowe: guz zapalny wątroby • myofibroblastyczny guz zapalny • guz z komórek foliukularnych dendrytycznych • guz Klatskina • IgG4+ komórki plazmatyczne

Key words: inflammatory myofibroblastic tumor • inflammatory pseudotumor • follicular dendritic cell tumor • Klatskin tumor • IgG-4 related diseases • IgG-4 related sclerosing cholangitis • liver

Adres do korespondencji: Krzysztof Bardadin, Zakład Patomorfologii CMKP, Ceglowska 80, 01-809 Warszawa, Polska, e-mail: bardadin@cmkp.edu.pl

Wstęp

Zapalny guz myofibroblastyczny (inflammatory myofibroblastic tumor – IMT) jest nowotworem występującym w wielu narządach i tkankach miękkich. Histologicznie zbudowany jest z komórek epitelioidnych lub wrzecionowatych nacieczonych przez bardzo nasilony naciek zapalny, w skład którego wchodzi liczne komórki plazmatyczne, makrofagi i granulocyty kwaso- i obojętne. Badania immunohistochemiczne wykazały, że jest to grupa różnych nowotworów, których cechą wspólną jest naciek zapalny. W wątrobie jest podobnie, niektóre guzy mają fenotyp myofibroblastyczny, inne dendrytyczny lub fibroblastyczny, jedne występują pojedynczo, inne są mnogie. Wreszcie jedne nie mają uchwytnej etiologii, inne współistnieją z chorobami dróg żółciowych i trzustki. Autor starał się przeanalizować dane z literatury dotyczące różnego typu guzów zapalnych i informacje te przypisać do konkretnych jednostek chorobowych.

Postęp jaki się dokonał w diagnostyce i chirurgii wątroby doprowadził do wykrywania coraz mniejszych zmian i ich skutecznego leczenia. W przypadku wątroby marskiej, niezależnie od etiologii, najczęściej występującym guzem jest rak wątrobowokomórkowy. Niestety, rak rozwijający się w marskości jest konsekwencją działania wielu czynników etiologicznych, z reguły powstaje w okresie niewydolności tego narządu a tym samym rzadko kiedy istnieją wskazania do zabiegu resekcji guza. Sytuacja jest zupełnie inna w przypadku guzów w wątrobie niemarskiej, kiedy to rzadko kiedy na pierwszym miejscu jest rak wątrobowokomórkowy, częściej są to gruczolaki, ogniskowe przerosty guzkowe (focal nodular hyperplasia) i inne rzadziej występujące guzy. Jednym z nich, lecz bardzo interesującym jest myofibroblastyczny guz zapalny wątroby (Inflammatory Myofibroblastic Tumor – IMT), a właściwie grupa niejednorodnych guzów, dość podobnych do siebie, których cechą wspólną jest nacieczenie przez komórki zapalne tkanek guza. Klasyfikacja Światowej Organizacji Zdrowia guzów tkanek miękkich [1] definiuje

go jako nowotwór, w osobnej grupie guzów myfibroblastycznych o średniej złośliwości. Guz ten jest opisany praktycznie we wszystkich możliwych lokalizacjach (najczęściej płuca, krezka i otrzewna, śródpiersie, przewód pokarmowy, trzustka, układ moczowy, jama ustna, sutek, układ nerwowy), w tym również w wątrobie, drogach żółciowych i trzustce [1,2]. Natomiast w klasyfikacji Światowej Organizacji Zdrowia guzów wątroby [3] występuje pod pojęciem „guza zapalnego” sklasyfikowanego w grupie „guzy różne” i scharakteryzowanego jako zmiana nienowotworowa łagodna, nieprzerzutuująca, jedno (częściej) lub wieloogniskowa (rzadziej).

Historia i terminologia

Pojęcie „guza zapalnego” jest znane w terminologii patomorfologicznej od wielu lat.

Pierwszy opis guza zapalnego pochodzi z 1950 roku [4] i dotyczył zmiany w płucu określonej jako guz ziarninowy. Dość szybko pojawiły się kolejne opisy podobnych guzów w płucach, a następnie w wielu innych lokalizacjach, powodując ich podział na postać płucną i pozapłucną. Zmieniała się też terminologia, w kolejności używane były nazwy „angioinvasive plasma cell granuloma”, „plasma cell granuloma”, „plasma cell pseudotumor”, „plasma cell/histiocytoma complex”. W 1990 roku Tang i wsp. [5] użyli określenia „inflammatory myofibrohistiocytic proliferation” i od tego czasu pojęcie guza zapalnego zaczęło coraz częściej powtarzać się w literaturze z dodatkiem „myofibroblastic” lub bez [6]. Klasyfikacja histologiczna nowotworów Światowej Organizacji Zdrowia z 2002 roku [1] zaleca stosowanie nazwy „inflammatory myofibroblastic tumor” i definiuje go w sposób następujący: „Inflammatory myofibroblastic tumor (IMT) jest guzem utworzonym przez wrzecionowate myfibroblasty zmieszane z komórkami naciekowi zapalnego, w tym głównie komórkami plazmatycznymi, limfocytami, eozynofilami. Pierwotne umiejscowienie w tkankach miękkich i trzewiach u dzieci i młodzieży”. Z definicji wynika, że guz powinien być najczęściej diagnozowany w oddziałach chirurgicznych pediatricznych, jednak nie jest to do końca prawda, ponieważ wiele przypadków dotyczy również osób dorosłych. Zainteresowanych pogłębieniem wiadomości na temat IMT odsyłam do literatury [1,2,7,8]. W tej pracy omówione zostaną wiadomości dotyczące jedynie IMT wątroby.

Obraz kliniczny

Za pierwszy opis IMT w wątrobie uznaje się opis przypadku przez Pack i Bakera w 1953 roku [9]. Od tego czasu opisano wiele przypadków, najczęściej jako doniesienia o kolejnym lub kolejnych kilku chorych, bardzo często o różnym obrazie klinicznym lub patologicznym, których łącznikiem była diagnoza mikroskopowa. W jednych pracach podkreśla się wykrycie ewentualnego czynnika etiologicznego i/lub współistnienie z konkretną jednostką chorobową [10–14], w innych i to coraz liczniejszych współistnienie chorób dróg żółciowych i trzustki (patrz dalej). Zainteresowanie guzem wynika również z faktu, że przebieg kliniczny guza jest nieprzewidywalny, opisano samoistną regresję, skuteczne leczenie antybiotykami, jak również nawroty [15–18].

Objawy kliniczne są niecharakterystyczne. Zalicza się do nich powiększenie wątroby, stopniowa utrata wagi ciała, znużenie, stany gorączkowe pojawiające się bez uchwytnej przyczyny, które zazwyczaj ustępują po resekcji guza. Ból w nadbrzuszu spotykany jest w ok. 30% przypadków. W pierwszym opisa-

nym przypadku IMT stwierdzono eozynofilię, która ustąpiła również po resekcji guza [9]. Następnie opisano eozynofilię towarzyszącą guzowi jedynie w pojedynczych przypadkach [19]. Inne badania biochemiczne nie wnoszą do diagnostyki IMT dalszych informacji i zazwyczaj ograniczają się do anemii i trombocytopenii.

Diagnostyka przedoperacyjna IMT jest słabo udokumentowana w literaturze, dotyczy badań obrazowych i opisu sukcesów diagnostycznych [20,21]. Niemniej, bardzo istotnym w badaniach obrazowych jest stwierdzenie lokalizacji guza, opis jego niewyraźnych granic, szczególnie w guzach wętki. Wyróżnia się dwie postacie, wętkową i obwodową oraz formę pojedynczą i mnogą.

Wśród hepatologów lokalizacja wętkowa guza kojarzy się niekorzystnie z nazwiskiem G. Klatskina i jego opisu gruczolakoraka (adenocarcinoma) wrót wątroby miejscu rozwidlenia przewodów [22,23]. Z czasem pojęcie „guz Klatskina” rozciągnięto na wszelkie zmiany nowotworowe i nienowotworowe (kamica, PSC, ucisk z zewnątrz) powodujące obstrukcję na poziomie wrót wątroby. W każdym takim przypadku należy rozważyć również możliwość istnienia IMT ponieważ występuje w tej lokalizacji i często współistnieje z przewlekłymi chorobami dróg żółciowych [10,24–27]. W mięszu, różnicowanie z pierwotnym rakiem wątroby, szczególnie w przypadku infekcji wirusami hepatotropowymi jest bardzo ważne [28,29].

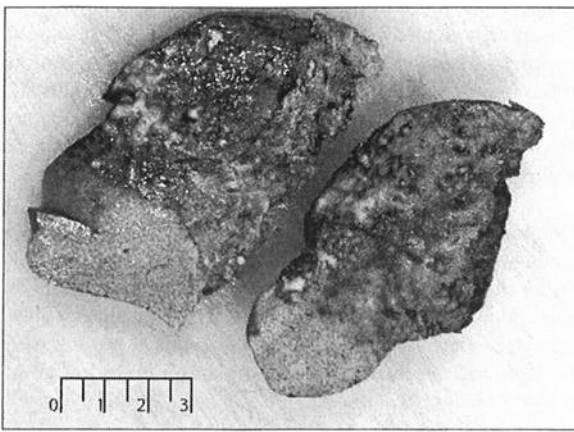
W rozważaniach diagnostycznych przedoperacyjnych najczęściej stawiane są diagnozy guza złośliwego (raka lub pochodzenia naczyniowego), ropnia a tylko w pojedynczych przypadkach guza zapalnego. W większości przypadków diagnozie guza towarzyszy stwierdzenie chorób dróg żółciowych jak kamica przewodowa lub żółciowa, rak lub ropień pęcherzyka. Bardzo interesującą koncepcją jest współistnienie IMT z gruczolakotorbielakiem wątroby, którego typową lokalizacją jest również wętko wątroby [14].

IMT w niektórych ośrodkach był przedmiotem przedoperacyjnego postępowania cytodiagnostycznego, ponieważ w technikach obrazowych może budzić podejrzenie nowotworu złośliwego. Retrospektywna praca z The John Hopkins Hospital [30,31] wykazała, że prawidłowa diagnoza IMT była postawiona jedynie w 5 na 12 zbadanych przypadków (42%). Rozmazy są z reguły ubogokomórkowe, zawierają komórki zapalne oraz atypowe komórki, mogące imitować zarówno nowotworowe hepatocyty jak również atypowe komórki tkanek miękkich czy histiocyty. Niestety, dwa przypadki, które konsultowałem (doświadczenie własne) w badaniach cytologicznych błędnie ocenione zostały jako komórki raka wątrobowokomórkowego. Trzeba mieć świadomość błędna diagnoza raka może nieść za sobą czasem niekorzystne dla pacjenta konsekwencje jak np. odstąpienie od zabiegu resekcji guza.

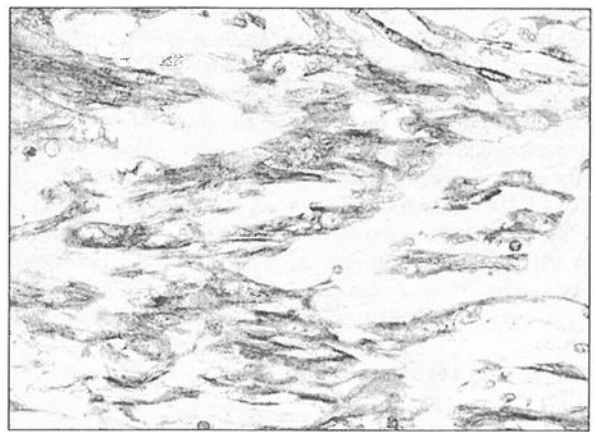
Ale w większości opisanych przypadków diagnostyka przedoperacyjna ograniczała się do stwierdzenia obecności guza w badaniach obrazowych a następnie zabiegu operacyjnym i ustaleniu diagnozy w badaniu patomorfologicznym.

Patomorfologia

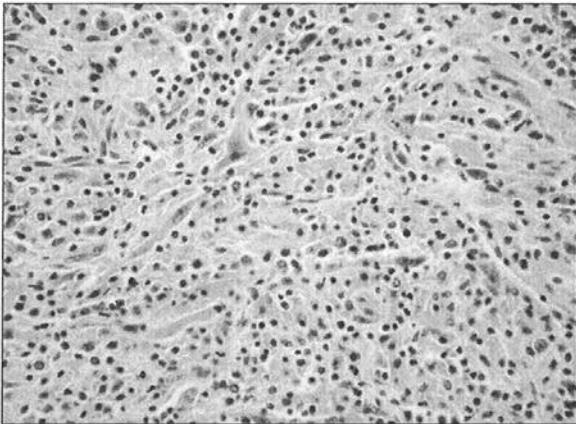
Obraz makroskopowy jest bardzo niejednorodny, od guzów dobrze odgraniczonych o średnicy od kilku do kilkunastu



Rycina 1. Myofibroblastyczny guz wątroby, widok makroskopowy. Utkanie guza zielonkawo-szarawe przypomina rozpadające się, martwiczo zmienione tkanki.



Rycina 3. Barwienie immunohistochemiczne z przeciwciałem przeciwko mięśniowce gładkokomórkowej) wykazuje silną reakcję w komórkach nowotworowych. Barwienie z przeciwciałem anti α -SMA, pow. 400 $\times$.



Rycina 2. Badanie mikroskopowe: utkanie guza złożone z epiteloidalnych komórek z dużymi, atypowymi jądrami i wyraźnymi jąderkami. Między nimi drobne komórki nacieku zapalnego. Barwienie H&E, pow. 400 $\times$.

centymetrów położonych obwodowo do guzów o nieregularnych kształtach, niewyraźnych granicach położonych przywnekowo. W tej lokalizacji guz może otaczać przewód lub przewody żółciowe, naciekać i/lub prowadzić do obliteracji żyły wrotnej. Guzy IMT są lite, barwy od różowo-szarawej do zielonkawej (Rycina 1), jednak mogą występować w ich obrębie ogniska martwicy i/lub włóknienia.

Obraz mikroskopowy guza jest charakterystyczny i składa się z mieszaniny komórek wrzecionowatych, często o potworkowatych jądrach komórek myofibroblastycznych (Rycina 2) wykazujących silną ekspresję aktyny mięśni gładkich α -SMA (Rycina 3) oraz komórek plazmatycznych, limfocytów T, B i granulocytów kwaso- i obojętnochłonnych [1,2].

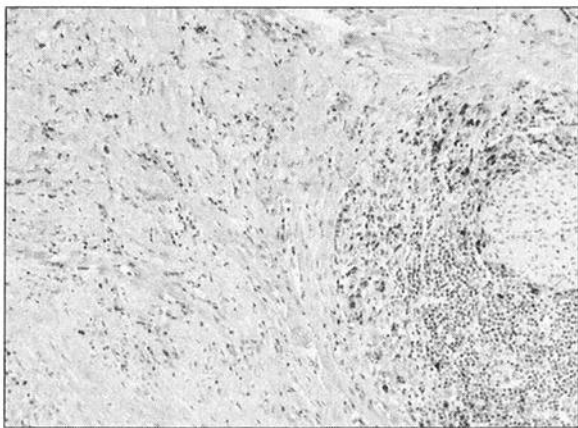
Badania immunohistologiczne wykazały poliklonalny charakter komórek plazmatycznych syntetyzujących immunoglobulinę IgA, IgM i IgG w różnej ilości. Wśród tych typów komórek plazmatycznych stwierdzono charakterystyczne zwiększenie liczby komórek syntetyzujących IgG-4, co może wskazywać na przynależność guza do grupy chorób określanych mianem „Hyper-IgG4 disease” [32, patrz dalej]. W obrębie guza obserwowane jest również włóknienie o różnym stopniu nasilenia zarówno ogniskowo jak i w całym guzie.

W takich przypadkach używana może być nazwa „włóknistego” IMT (sclerosing IMT).

W literaturze dotyczącej IMT pojawiły się niedawno doniesienia o wykryciu białka anaplastic lymphoma kinase-1 (ALK-1) w komórkach guza [33–35]. Białko to jest charakterystyczne dla rozpoznania chłoniaka anaplastycznego, z początku wydawało się być bardzo swoiste, równoległe do rearanżacji genów na chromosomie 2p23. Jednak powtarzalność w guzach myofibroblastycznych zmieniła to i obecnie uznaje się te zmiany również charakterystyczne dla guzów myofibroblastycznych [36]. Wszystkie jak do tej pory opisane przypadki (za wyjątkiem jednego) dotyczą jednak guzów pozawątrobowych, w tym szczególnie dróg moczowych i na ogół pacjentów w młodej grupie wiekowej [37–40]. Ze wszystkich tych prac wynika jednak, że niezależnie od tego czy badana jest rearanżacja genów, czy ekspresja białka ALK-1, to ich ekspresja w IMT wynosi 50–80%. Ale najważniejszym stwierdzeniem jest fakt, że występuje wyłącznie w IMT a nie w nowotworach morfologicznie podobnych ale o innej histogenezie (niskozróżnicowany rak, mięsak gładkokomórkowy). W literaturze nie ma opracowań porównujących przebieg kliniczny przypadków ALK+ i ALK(–). Podobnie, nie znalazłem danych dotyczących ekspresji ALK-1 w guzach wątroby. W konsultowanych przeze mnie 3 przypadkach IMT wątroby białko ALK-1 nie było obecne (doświadczenie własne).

Follicular dendritic cell tumor

Dendrytyczne komórki folikularne (follicular dendritic cells – FDC) należą do grupy komórek prezentujących antygen limfocytom B i są stałym składnikiem pierwotnych i wtórnych grudek chłonnych. Nowotwory z komórek FDC są bardzo rzadkie, opisywane są głównie w węzłach chłonnych, lecz lokalizacja pozawątrołowa jest coraz częściej obserwowana [41]. Pierwszy opis guza z komórek dendrytycznych w wątrobie pochodzi z 1996 roku [42] i dotyczy przypadku pierwotnie rozpoznanego jako myofibroblastyczny guz zapalny. Bardzo szybko pojawiły się opisy kolejnych guzów [43,44] z informacją, że oba te nowotwory są bardzo podobne do siebie, oba zawierają nasilony naciek zapalny, a różnicowanie opiera się o coraz lepsze i precyzyjniejsze przeciwciała monoklonalne dla FDC CD 21 (C3d receptor), CD35 (C3b receptor), R4/23, Ki-M4 przy jednoczesnym braku lub bar-



Rycina 4. Barwienie z użyciem przeciwciała naty-IgG4 wykazuje w nacieku zapalnym liczne komórki plazmatyczne syntetyzujące tę immunoglobulinę. Pow. 200×. Przypadek dzięki uprzejmości prof. Yasuni Nakanuma z Kanazawa University (Japonia).

dzo małej ekspresji SMA. Ważnym elementem diagnostycznym wydaje się być powtarzalne wykrywanie ekspresji białek wirusa EBV w tym nowotworze [45], podczas gdy w IMT wydaje się nie występować. Guz z komórek dendrytycznych opisany jest w wątrobie i wykazuje ekspresję białek wirusa Epstein-Barr'a [42,43,46,47]. Ostatnio ukazała się praca wykazująca brak ekspresji białek wirusowych w guzach o dodatniej ekspresji ALK-1 [48] co jeszcze bardziej ukazuje heterogenność grupy omawianych nowotworów i konieczność bardzo dokładnej diagnostyki immunohistochemicznej gdy istnieje podejrzenie guza „myofibroblastycznego zapalnego”. W tej grupie mogą znaleźć się również bardzo rzadkie guzy wywodzące się z podścieliskowych komórek dendrytycznych (Fibroblastic Reticulum Cell tumor), których charakterystyka immunohistochemiczna jest dopiero wstępnie opracowana [49].

IMT a patologia dróg żółciowych i trzustki

Współistnienie IMT z przewlekłym zapaleniem dróg żółciowych (10) wskazało na możliwość współistnienia również z zapaleniami dróg żółciowych zewnątrzwątrobowych i trzustki [50–52]. Następnie wykazano, że u pacjentów z włóknjącym zapaleniem trzustki w surowicy stwierdza się wysokie miano IgG4 [53], czego konsekwencją było wykazanie komórek plazmatycznych syntetyzujących IgG4 w chorobach włóknieniowo-zapalnych wielu narządów, które zostały sklasyfikowane pod wspólną nazwą „hyper-IgG4 disease”, „IgG4-related autoimmune disease” [32,52,54]. Bardzo istotnym elementem było skojarzenie obecności w IMT oraz przewlekłych stanach zapalnych przebiegających z włóknieniem obec-

ności licznych komórek plazmatycznych syntetyzujących IgG-4 [53–56]. Obecność komórek plazmatycznych IgG4 dodatnich wykazano również w guzach płuc [57] i wątrobie (Rycina 4).

Wydaje się bardzo prawdopodobnym, że IMT z obecnością licznych IgG4-dodatnich komórek plazmatycznych jest podtypem IMT związaną z procesami autoimmunologicznymi w trzustce i innych narządach dla których nową klasyfikację zaproponował Zen i wsp. [58].

IMT jest guzem występującym zarówno w wątrobie jak i trzustce, powodując dyskusję czy jest to równoległe występowanie, czy też jeden z nich jest przerzutem [59,60].

Wnioski

Zwiększająca się aktywność chirurgiczna w stosunku do zmian guzowatych w wątrobie w połączeniu z nowoczesną diagnostyką patomorfologiczną może być przyczyną konfuzji. Czym więcej guzów będzie wyciętych i dokładniej zdiagnozowanych, tym większa będzie rozpiętość rozpoznań. Wynika to z faktu, że przez wiele lat diagnostyka „guza zapalnego” była stosunkowo prosta, polegająca na stwierdzeniu licznych komórek zapalnych w obrębie guza a nie charakterystyce komórek nowotworowych. Wraz z coraz powszechniejszym użyciem immunohistochemii charakterystyka komórek nowotworowych staje się coraz precyzyjniejsza i jednoznacznie wskazuje, że termin „guz zapalny” obejmuje wiele jednostek chorobowych bardzo różnych od siebie i o różnym przebiegu klinicznym. Co w takim razie powinno się ocenić w przypadku podejrzenia guza zapalnego? Odpowiedź nie jest prosta, ale możliwa do sformułowania:

1. Ocena kliniczna powinna dotyczyć m. inn. lokalizacji, współistniejących chorób dróg żółciowych i trzustki (ew. chorób w innych narządach przebiegających z włóknieniem) jeżeli możliwe oznaczenia IgG4 w osoczu krwi.
2. Do rozważenia jest podjęcie próby leczenia przeciwzapalnego przed ewentualnym zabiegiem operacyjnym (gdyby guz nie zareagował na leczenie).
3. Ocena patomorfologiczna powinna opierać się o charakterystykę immunohistochemiczną komórek guza z użyciem przeciwciał przeciw mięśniówce gładkiej (dowód na różnicowanie myofibroblastyczne), CD21, CD35 (dla guzów z komórek dendrytycznych) oraz białka ALK.

Mimo, że doniesień na temat guzów zapalnych myofibroblastycznych w wątrobie jest dalej publikowanych sporo [61–63], to zdecydowana większość z nich wszystkie guzy traktuje jako jednorodną grupę, dlatego tak trudno jest wyciągać z tych prac wnioski i ... dalej istnieje potrzeba kolejnych opracowań przybliżających nas do zrozumienia tej grupy schorzeń.

Piśmiennictwo:

1. World Health Organization. Classification of Tumours. Pathology & Genetics. Tumor of soft tissue and bone. IARC Press Lyon, 2002: 91–93
2. Weiss SW, Goldblum JR. Enzinger & Weiss's soft tissue tumors. Mosby Elsevier 2008: 284–89
3. World Health Organization. Classification of Tumours. Pathology & Genetics. Tumor of the digestive system. IARC Press Lyon, 2000: 194
4. Childress WG, Adie GC: Plasma cell tumors of the mediastinum and lung. J Thoracic Surg, 1950; 19: 794
5. Tang TT, Segura AD, Oechler HW i wsp: Inflammatory myofibrohistiocytic proliferation simulating sarcoma in children. Cancer, 1990; 65: 1626–34
6. Coffin CM, Dehner LP, Meis-Kindblom JM: Inflammatory myofibroblastic tumor, inflammatory fibrosarcoma, and related lesions: an historical review with differential diagnostic considerations. Semin Diagn Pathol, 1998; 15: 102–10
7. Coffin CM, Watterson J, Priest JR i wsp: Extrapulmonary inflammatory myofibroblastic tumor (inflammatory pseudotumor). A clinic pathologic and immuno-histochemical study of 84 cases. Am J Surg Pathol, 1995; 19: 859–72

8. Kovach SJ, Fischer AC, Katzman PJ i wsp: Inflammatory myofibroblastic tumors. *J Surg Oncol*, 2006; 94: 385–91
9. Pack GT, Baker HW: Total right hepatic lobectomy. Report of a case. *Ann Surg*, 1953; 138: 253–58
10. Nakanuma Y, Tsuneyama K, Masuda S, Tomioka T: Hepatic inflammatory pseudotumor associated with chronic cholangitis: report of three cases. *Human Pathol*, 1994; 25: 86–91
11. Lee SH, Fang YC, Luo JP i wsp: Inflammatory pseudotumour associated with chronic persistent *Eikenella corrodens* infection: a case report and brief review. 1: *J Clin Pathol*, 2003; 56: 868–70
12. Papachristou GI, Wu T, Marsh W, Plevy SE: Inflammatory pseudotumor of the liver associated with Crohn's disease. *J Clin Gastroenterol*, 2004; 38: 818–22
13. Lo OS, Poon RT, Lam CM, Fan ST: Inflammatory pseudotumor of the liver in association with a gastrointestinal stromal tumor: a case report. *World J Gastroenterol*, 2004; 15(10): 1841–43
14. Hoosein MM, Tapuria N, Standish RA i wsp: Inflammatory pseudotumour of the liver: the residuum of a biliary cystadenoma? *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 2007; 19: 333–36
15. Koide H, Sato K, Fukusato T i wsp: Spontaneous regression of hepatic inflammatory pseudotumor with primary biliary cirrhosis: case report and literature review. *World J Gastroenterol*, 2006; 12: 1645–48
16. Lopez-Tomassetti Fernandez EM, Luis HD, Malagon AM i wsp: Recurrence of inflammatory pseudotumor in the distal bile duct: lessons learned from a single case and reported cases. *World J Gastroenterol*, 2006; 12: 3938–43
17. Vassiliadis T, Vougiouklis N, Patsiaoura K i wsp: Inflammatory pseudotumor of the liver successfully treated with nonsteroidal anti-inflammatory drugs: a challenge diagnosis for one not so rare entity. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 2007; 19: 1016–2018. Yamaguchi J, Sakamoto Y, Sano T i wsp: Spontaneous regression of inflammatory pseudotumor of the liver: report of three cases. *Surg Today*, 2007; 37: 525–29
19. Sasahira N, Kawabe T, Nakamura A i wsp: Inflammatory pseudotumor of the liver and peripheral eosinophilia in autoimmune pancreatitis. *World J Gastroenterol*, 2005; 11: 922–25
20. Sato M, Takasaka I, Okumura T i wsp: F-18 fluorodeoxyglucose accumulation in an inflammatory pseudotumor of the spleen. *Ann Nucl Med*, 2007; 21: 521–24
21. Kawamura E, Habu D, Tsumura H i wsp: A case of hepatic inflammatory pseudotumor identified by FDG-PET. *Ann Nucl Med*, 2006; 20: 321–23
22. Klatskin G: Adenocarcinoma of the hepatic duct at its bifurcation within the porta hepatic. *Am J Med*, 1965; 38: 241–56
23. Okuda K, Kubo Y, Okazaki N i wsp: Clinical aspects of intrahepatic bile duct carcinoma including hilar carcinoma. A study of 57 autopsy-proven cases. *Cancer*, 1977; 39: 232–46
24. Nonomura A, Minato H, Shimizu K i wsp: Hepatic hilar inflammatory pseudotumor mimicking cholangiocarcinoma with cholangitis and phlebitis: a variant of primary sclerosing cholangitis? *Pathol Res Pract*, 1997; 193: 519–25
25. Uhlmann D, Wiedmann M, Schmidt F i wsp: Management and outcome in patients with Klatskin-mimicking lesions of the biliary tree. *J Gastrointest Surg*, 2006; 10: 1144–50
26. Gohy S, Hubert C, Deprez P i wsp: Benign biliary inflammatory pseudotumor mimicking a Klatskin tumor. *Hepatogastroenterology*, 2007; 54: 1348–52
27. Schnelldorfer T, Chavin KD, Lin A i wsp: Inflammatory myofibroblastic tumor of the liver. *J Hepatobiliary Pancreat Surg*, 2007; 14: 421–23
28. Akatsu T, Wakabayashi G, Tanimoto A i wsp: Inflammatory pseudotumor of the liver masquerading as hepatocellular carcinoma after a hepatitis B virus infection: Report of a case. *Surg Today*, 2006; 36: 1028–31
29. Kai K, Matsuyama S, Ohtsuka T i wsp: Multiple inflammatory pseudotumor of the liver, mimicking cholangiocarcinoma with tumor embolus in the hepatic vein: report of a case. *Surg Today*, 2007; 37: 530–33
30. Hosler GA, Steinberg DM, Sheth S i wsp: Inflammatory pseudotumor: a diagnostic dilemma in cytopathology. *Diagn Cytopathol*, 2004; 31: 267–70
31. Granados R, Aramburu JA, Rodríguez JM, Nieto MA: Cytopathology of a primary follicular dendritic cell sarcoma of the liver of the inflammatory pseudotumor-like type. *Diagn Cytopathol*, 2008; 36: 42–46
32. Neild GH, Rodríguez-Justo M, Wall C, Connolly JO: Hyper-IgG4 disease: report and characterization of a new disease. *BMC Med*, 2006; 6: 23–40
33. Lawrence B, Perez-Atayde A, Hibbard MK i wsp: TPM3-ALK and TPM4-ALK oncogenes in inflammatory myofibroblastic tumors. *Am J Pathol*, 2000; 157: 377–84
34. Chan JK, Cheuk W, Shimizu M: Anaplastic lymphoma kinase expression in inflammatory pseudotumors. *Am J Surg Pathol*, 2001; 25: 761–68
35. Cools J, Wlodarska I, Somers R i wsp: Identification of novel fusion partners of ALK, the anaplastic lymphoma kinase, in anaplastic large-cell lymphoma and inflammatory myofibroblastic tumor. *Genes Chromosomes Cancer*, 2002; 34: 354–62
36. Miettinen M: From morphological to molecular diagnosis of soft tissue tumors. *Adv Exp Med Biol*, 2006; 587: 99–113
37. Freeman A, Geddes N, Munson P i wsp: Anaplastic lymphoma kinase (ALK 1) staining and molecular analysis in inflammatory myofibroblastic tumours of the bladder: a preliminary clinicopathological study of nine cases and review of the literature. *Mod Pathol*, 2004; 17: 765–71
38. Tsuzuki T, Magi-Galluzzi C, Epstein JI: ALK-1 expression in inflammatory myofibroblastic tumor of the urinary bladder. 1: *Am J Surg Pathol*, 2004; 28: 1609–14
39. Sukov WR, Cheville JC, Carlson AW i wsp: Utility of ALK-1 protein expression and ALK rearrangements in distinguishing inflammatory myofibroblastic tumor from malignant spindle cell lesions of the urinary bladder. *Mod Pathol*, 2007; 20: 592–603
40. Farris AB III, Mark EJ, Kradin RL: Pulmonary "inflammatory myofibroblastic" tumors: a critical examination of the diagnostic category based on quantitative immunohistochemical analysis. *Virchows Arch*, 2007; 450: 585–90
41. World Health Organization. Classification of Tumours. Pathology & Genetics. Tumor of hematopoietic and lymphoid tissues. IARC Press Lyon, 2001: 286–288
42. Shek TWH, Ho FCS, Ng IOL i wsp: Follicular dendritic cell tumor of the liver. Evidence for an Epstein-Barr virus-related clonal proliferation of follicular dendritic cells. *Am J Surg Pathol*, 1996; 20: 313–24
43. Seves J, Brousset P, Voigt J-J i wsp: Inflammatory pseudotumor of the liver: evidence for follicular dendritic reticulum cell proliferation associated with clonal Epstein-Barr virus. *Am J Surg Pathol*, 1996; 20: 747–53
44. Perez-Ordóñez B, Erlandson RA, Rosai J: Follicular dendritic cell tumor, Report of 13 additional cases of a distinctive entity. *Am J Surg Pathol*, 1996; 20: 944–55
45. Cheuk W, Chan JK, Shek TW i wsp: Inflammatory pseudotumor-like follicular dendritic cell tumor: a distinctive low-grade malignant intra-abdominal neoplasm with consistent Epstein-Barr virus association. *Am J Surg Pathol*, 2001; 25: 721–31
46. Chen T-C, Kuo T-T, Ng K-F: Follicular dendritic cell tumor of the liver: a clinicopathologic and Epstein-Barr virus study of two cases. *Mod Pathol*, 2001; 14: 354–60
47. Bai LY, Kwang WK, Chiang IP, Chen PM: Follicular dendritic cell tumor of the liver associated with Epstein-Barr virus. *Jpn J Clin Oncol*, 2006; 36: 249–53
48. Yamamoto H, Kohashi K, Oda Y i wsp: Absence of human herpesvirus-8 and Epstein-Barr virus in inflammatory myofibroblastic tumor with anaplastic large cell lymphoma kinase fusion gene. *Pathol Int*, 2006; 56: 584–90
49. Andriko J-AW, Kaldjian EP, Tsokos M i wsp: Reticulum cell neoplasms of lymph nodes. A clinicopathological study of 11 cases with recognition of a new subtype derived from fibroblastic reticular cells. *Am J Surg Pathol*, 1998; 22: 1048–58
50. Walsh SV, Evangelista F, Khettry U: Inflammatory myofibroblastic tumor of the pancreatobiliary region: Morphologic and immunocytochemical study of three cases. *Am J Surg Pathol*, 1998; 22: 412–18
51. Martin Malagon A, Lopez-Tomassetti Fernandez E, Arteaga Gonzalez I i wsp: Inflammatory myofibroblastic tumor of the distal bile duct associated with lymphoplasmacytic sclerosing pancreatitis. Case report and review of the literature. *Pancreatol*, 2006; 6: 145–54
52. Mizukami H, Yajima N, Wada R i wsp: Pancreatic malignant fibrous histiocytoma, inflammatory myofibroblastic tumor, and inflammatory pseudotumor related to autoimmune pancreatitis: characterization and differential diagnosis. *Virchows Arch*, 2006; 448: 552–60
53. Hamano H, Kawa S, Horiuchi A i wsp: High serum IgG4 concentrations in patients with sclerosing pancreatitis. *N Engl J Med*, 2001; 344: 732–38
54. Kamisawa T, Funata N, Hayashi Y i wsp: A new clinicopathological entity of IgG4-related autoimmune disease. *J Gastroenterol*, 2003; 38: 982–84

55. Zen Y, Harada K, Sasaki M i wsp: IgG4-related sclerosing cholangitis with and without hepatic inflammatory pseudotumor, and sclerosing pancreatitis-associated sclerosing cholangitis: do they belong to a spectrum of sclerosing pancreatitis? *Am J Surg Pathol*, 2004; 28: 1193–203
56. Kamisawa T, Nakajima H, Egawa N i wsp: IgG4-related sclerosing disease incorporating sclerosing pancreatitis, cholangitis, sialadenitis and retroperitoneal fibrosis with lymphadenopathy. *Pancreatol*, 2006; 6: 132–37
57. Zen Y, Kitagawa S, Minato H i wsp: IgG4-positive plasma cell in inflammatory pseudotumor (plasma cell granuloma) of the lung. *Hum Pathol*, 2005; 36: 710–17
58. Zen Y, Fujii T, Sato Y i wsp: Pathological classification of hepatic inflammatory pseudotumor with respect to IgG4-related disease. *Mod Pathol*, 2007; 20: 884–94
59. Kanno A, Satoh K, Kimura K i wsp: Autoimmune pancreatitis with hepatic inflammatory pseudotumor. *Pancreas*, 2005; 31: 420–23
60. Uchida K, Satoi S, Miyoshi H i wsp: Inflammatory pseudotumors of the pancreas and liver with infiltration of IgG4-positive plasma cells. *Intern Med*, 2007; 46: 1409–12
61. Al-Lawati T, Granero LE, Berger F i wsp: Inflammatory pseudotumor of the liver - another case report. Is this the beginning of an established hepatic entity? *Med Sci Monit*, 2005; 11: CS60–63
62. Solomon GJ, Kinkhabwala MM, Akhtar M: Inflammatory myofibroblastic tumor of the liver. *Arch Pathol Lab Med*, 2006; 130: 1548–51
63. Tsou YK, Lin CJ, Liu NJ i wsp: Inflammatory pseudotumor of the liver: report of eight cases, including three unusual cases, and a literature review. *J Gastroenterol Hepatol*, 2007; 22: 2143–47

Przeszczepienie wątroby u chorych z rakiem wątrobowokomórkowym

Liver transplantation in patients with hepatocellular carcinoma

Piotr Małkowski¹, Dariusz Wasiak¹, Jarosław Czerwiński¹,
Marek Pacholczyk², Beata Łągiewska²

¹ Zakład Pielęgniarstwa Chirurgicznego i Transplantacyjnego, Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, Warszawa

² Katedra i Klinika Chirurgii Ogólnej i Transplantacyjnej Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, Warszawa

Summary: Hepatocellular carcinoma (HCC) is one of the most commonly occurring solid tumors worldwide and is the most frequent of cancer death in some parts of the world (China, Africa). The incidence of HCC appears to be rising in developed western countries as well. The most frequent underlying factors causing HCC are chronic viral hepatitis and cirrhosis. The authors present the current status of liver transplantation (LTx) in patients with HCC, as well another methods of treatment which can be used in patients waiting for LTx. Because of organ shortage the dropout rate from waiting list for LTx among patients with HCC is high, mostly due to tumor progression. The role of new strategies introduced to the treatment of HCC patients e.g. multi-modality therapy prior to transplantation, the priority in MELD system for HCC patients or genetic studies of the tumor, in reduction of dropout rate from waiting list and decreased of tumor recurrence rate, are discussed.

Słowa kluczowe: transplantacja wątroby w raku wątrobowokomórkowym • leczenia raka wątrobowokomórkowego

Key words: LTx in HCC • treatment of HCC

Adres do korespondencji: Piotr Małkowski, Zakład Pielęgniarstwa Chirurgicznego i Transplantacyjnego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, ul. Oczki 6, 02-007 Warszawa, Polska, e-mail: pmałkowski@qdn.net.pl

Rak wątrobowokomórkowy powstaje najczęściej w przebiegu przewlekłego wirusowego zapalenia wątroby typu C oraz B i marskości wątroby. Liczba nowych przypadków HCC z roku na rok rośnie, co związane jest z dużą liczbą zakażonych wirusem WZW C w krajach zachodnich i wirusem WZW B w Azji i Afryce [1–4]. Obecnie zapadalność na HCC wynosi 5/100 000 w krajach zachodnich i 100/100 000 w Azji [1,2,4]. Tak więc leczenie HCC stało się nie tylko wyzwaniem dla diagnostów, chirurgów i transplantologów ale również poważnym problemem społecznym.

Pierwsze próby, w latach osiemdziesiątych XX wieku, przeszczepiania wątroby chorym z nowotworem obarczone były złymi wynikami. Pięcioletnie przeżycie nie przekraczało 25%. Powodem było kwalifikowanie do operacji chorych z zaawansowanym nowotworem oraz szybkim jego nawrotem w wątrobie przeszczepionej [1,5].

Skuteczniejszą metodą leczenia okazała się chirurgiczna resekcja wątroby. Obarczona była co prawda wysokim, bo się-

gającym 70–80%, odsetkiem nawrotów choroby po pięciu latach [1,3], równocześnie jednak pięcioletnie przeżycie chorych po resekcji wątroby, szczególnie z powodu guzów małych (2–3 cm), oscylowała wokół 50% [6–8].

Po opublikowaniu w roku 1996 przez Mazzafero wyników transplantacji wątroby u chorych z HCC i wprowadzeniu zaproponowanych przez niego kryteriów mediolańskich, LTx stało się najlepszą i najskuteczniejszą metodą leczenia guzów wątrobowokomórkowych [5]. Mazzafero udowodnił, że warunkiem uzyskania lepszych wyników jest kwalifikowanie chorych z jednym guzem nie przekraczającym 5 cm lub z trzema, z których żaden nie przekracza 3cm, ponadto nowotwór nie może naciekać na żyły układu wrotnego [5]. W grupie chorych spełniających powyższe kryteria odsetek przeżyć pięcioletnich po LTx osiągał 65%.

Lata doświadczeń potwierdziły w pełni obserwacje Mazzafero. Równocześnie jednak niektóre ośrodki zaczęły proponować transplantacje wątroby chorym, u których rozwój no-

wotworu przekraczał kryteria mediolańskie. Postępowanie swoje motywując tym, że pomimo 50% ryzyka wznowy nowotworu, dają nadal szansę na pięcioletnie przeżycie 40% pacjentów [3,9,10].

Na podstawie dotychczasowych obserwacji wydaje się, że sukces transplantacji, przejawiający się przeżyciem biorcy i brakiem nawrotu, zależy przede wszystkim od naciekania naczyń przez nowotwór i biologii samego guza [11,12]. Jeśli pierwszy z czynników, będący pochodną wielkości guza, możemy poznać w badaniach przedoperacyjnych lub na podstawie patomorfologii usuniętej wątroby [11], to drugi z nich nie jest obecnie dokładnie zdefiniowany; zależy od pochodzenia komórek nowotworowych jak również od ekspresji genów je reprezentujących [13].

Niezależnie od przyjętych kryteriów kwalifikacji chorych z HCC do LTx istotnym problemem jest długi czas oczekiwania na operację spowodowany ograniczoną liczbą dostępnych narządów.

Poszerzenie puli narządów przez zastosowanie graftów pochodzących z podziału wątroby („split”), czy też pozyskiwanych po przeszczepieniu chorych z amyloidozą („domino”) [14] ma do tej pory marginalne znaczenie. Przeszczepianie wątroby od rodzinnych dawców żywych („living donor LTx”) zapoczątkowane na początku lat 90 ubiegłego wieku zyskuje coraz większą liczbę zwolenników. Początkowo dedykowane transplantologii dziecięcej, znalazło zastosowanie także u dorosłych biorców, w tym u biorców z HCC [3,14]. Zaletą tego rodzaju transplantacji jest krótki czas oczekiwania biorcy z nowotworem na operację oraz możliwość zakwalifikowania biorcy, u którego wielkość i zaawansowanie nowotworu przekracza przyjęte w większości ośrodków kryteria mediolańskie [3,10]. Niektórzy autorzy wskazują jednak na wyższy odsetek nawrotów nowotworu u biorców otrzymujących narząd od żywych dawców [15]. Zdaniem Chung Mao Lo u biorców wątroób od żywych dawców nawrót choroby występuje w 40% przypadków, podczas gdy u biorców wątroób od dawców zmarłych jedynie w 10% [15]. Inni autorzy nie potwierdzają tych obserwacji [3,10].

Przeważająca większość ośrodków transplantacyjnych wykorzystuje wątroby pochodzące od zmarłych dawców. Ograniczona liczba narządów, oraz finansowanie leczenia z szeroko pojętych środków publicznych narzuca konieczność wprowadzania zasad alokacji narządów poszczególnym grupom biorców.

W Stanach Zjednoczonych w okresie sprzed stosowania kryteriów MELD, chorych z HCC kwalifikowano do transplantacji wątroby na podstawie parametrów wydolności wątroby (UNOS).

Ten sposób kwalifikacji powodował, że chorzy z HCC stanowili zaledwie 7% wszystkich chorych, którym wykonywano przeszczepienie wątroby. Lista chorych z nowotworem oczekujących na transplantację była długa a i czas oczekiwania przekraczał niekiedy 2 lata [15]. Skutkowało to rozwojem nowotworu i w konsekwencji wykreśleniem chorego z listy oczekujących na transplantację z powodu przekroczenia przyjętych kryteriów mediolańskich.

Wprowadzenie w USA w 2002 roku zasady, że chorzy z rakiem wątrobowokomórkowym, ale spełniający kryteria mediolańskie uzyskuje 29 punktów w kwalifikacji MELD, a cho-

rzy z guzami do 2 cm – 24 punkty, spowodowało, że odsetek transplantacji z powodu HCC wzrósł z 7% do 22% [15]. Wzrastający odsetek transplantacji wykonywanych z powodu HCC wpłynął tym samym na wydłużenie kolejki oczekujących na zabieg kwalifikowanych z innych niż nowotwór powodów. Spowodowało to skrócenie czasu oczekiwania na LTx chorych z HCC i tym samym wzrost śmiertelności wśród pozostałych chorych z niewydolnością wątroby, oczekujących na przeszczepienie. Taka sytuacja była nie do zaakceptowania albowiem faworyzowała grupę chorych obarczonych nowotworem, kosztem chorych z niewydolnością wątroby [15,16]. Ponadto okazało się w badaniach histopatologicznych wątroób usuniętych podczas LTx, że w około 30% przypadków, guzki nie przekraczające 2 cm a oceniane przed transplantacją jako nowotworowe, były zmianami łagodnymi. Dowiedziono tym samym, że znana, 90% skuteczność rozpoznania HCC na podstawie CT, NMR i poziomu AFP w większych guzach, nie przekracza 70% w zmianach o średnicy do 2 cm [3,4].

W roku 2003 powrócono do stanu sprzed 2002 roku i chorych z HCC kwalifikowano jedynie na podstawie MELD wynikającej jedynie ze stopnia niewydolności wątroby. Powrót do dawnych zasad spowodował natychmiast spadek liczby transplantacji wykonywanych z powodu HCC. I tak po roku 2003 odsetek przeszczepień wątroby z powodu HCC spadł do 16% [15].

Doprowadziło to w roku 2006 [15] do kolejnej zmiany polityki w kwalifikowaniu chorych z HCC do LTx w USA. Zdecydowano o powrocie premiowania chorych z większymi guzami, ale nie przekraczającymi kryteriów mediolańskich, tym razem do 22 punktów w skali MELD. Natomiast chorzy z guzami nie przekraczającymi średnicy 2 cm, nie otrzymują dodatkowych punktów a ocena MELD uzależniona jest jedynie od stopnia niewydolności wątroby. Efekt wprowadzonych zmian będzie można prześledzić w przeciągu kilku najbliższych lat.

Innym, związanym z długim oczekiwaniem na przeszczepienie, problemem jest stosowanie leczenia mającego na celu zahamowanie wzrostu nowotworu. Liczne prace dowodzą, że stosowanie przez tętniczej chemoembolizacji, termoabblacji lub alkoholizacji guza spowalnia rozwój choroby [3], a w 18–58% doprowadza do zniszczenia zmiany [17–22]. Wykazano również, że 23–40% chorych nie spełniających, z powodu rozmiaru guza, kryteriów do LTx lub resekcji wątroby, po zastosowaniu leczenia ablacyjnego lub chemioterapii mogło być zakwalifikowanych do operacji [18,19].

Niektórzy autorzy uważają, że chorzy kwalifikowani do transplantacji, mogą być, w pierwszej kolejności poddani resekcji wątroby a w przypadku nawrotu nowotworu ponownie zakwalifikowani do LTx [6]. Badania porównawcze wykazały jednak że resekcja guza wątroby jako „pomost” do transplantacji pogarsza rokowania chorych po przeszczepieniu. Transplantacja wątroby w tej grupie chorych obarczona jest ponad 20% śmiertelnością, ponadto pięcioletnie przeżycie nie przekracza 40% a odsetek nawrotów raka wynosi 54%, podczas gdy po Ltx wykonywanym pierwotnie: śmiertelność nie przekracza kilku procent, pięcioletnie przeżycie wynosi ponad 60% a odsetek nawrotów oscyluje wokół 18% [23].

Postęp jaki dokonał się w ustaleniu kryteriów leczenia chorych z HCC w ciągu ostatnich 40 lat jest ogromny mimo tego

dyskusje dotyczące sposobów kwalifikacji chorych z HCC do LTx, miejsca przeszczepiania wątroby, resekcji wątroby, metod ablacyjnych i chemioterapii w leczeniu chorych z rakiem

wątrobowokomórkowym trwają nadal i są jednym z koronnych tematów wszystkich transplantologicznych i hepatologicznych zjazdów naukowych.

Piśmiennictwo:

1. Małkowski P, Pacholczyk M, Łągiewska B i wsp: Rak wątrobowokomórkowy – epidemiologia i leczenie. *Przegl Epidemiol*, 2006; 60: 731–40
2. Thomas MB: Hepatocellular Carcinoma: The Need for Progress. *J Clin Oncol*, 2005; 23: 2892–99
3. Roberts J: Liver transplantation for HCC: Western perspective w: Controversies in liver transplantation. CME-Acredited Satellite Symposium preceding the 11th Annual International Congress of the ILTS, Los Angeles, July 20, 2005; 44–45
4. Freeman RB: Diagnostic worup for HCC patients w: Controversies in liver transplantation. CME-Acredited Satellite Symposium preceding the 11th Annual International Congress of the ILTS, Los Angeles, July 20, 2005; 39–40
5. Mazzaferro V, Regalia E, Doci R i wsp: Liver transplantation for the treatment of small hepatocellular carcinomas in patients with cirrhosis. *N Engl J Med*, 1996; 334: 693–99
6. Belghiti J: Debate: is resection a suitable bridge in the transplant candidate? Pro argument w: Controversies in liver transplantation. CME-Acredited Satellite Symposium preceding the 11th Annual International Congress of the ILTS, Los Angeles, July 20, 2005; 49–50
7. Belghiti J, Kianmanesh R: Surgical treatment of hepatocellular carcinoma. *HPB* 2005; 7: 42–49
8. Fukuda S, Itamoto T, Nakahara H i wsp: Clinicopathologic features and prognostic factors of resected solitary small-sized hepatocellular carcinoma. *Hepatogastroenterology*, 2005; 52(64): 1163–67
9. Roberts J: Tumor surveillance – what can and should be done? Screening for recurrence of hepatocellular carcinoma after liver transplantation. *Liver Transpl*, 2005; 11(11 Suppl.2): S45–46
10. Freeman RB: LRD/CAD for HCC beyond Milan: How far should you go? W: Expanding the frontiers of liver transplantation. Satellite Symposium to the ILTS 13th Annual International Congress, Rio de Janeiro, Jun 20, 2007: 30–32
11. Pawlik TM, Delman KA, Vauthey JN: Tumor size predicts vascular invasion and histologic grade: implications for selection of surgical treatment for hepatocellular carcinoma. *Liver Transpl*, 2005; 11(9): 1086–92
12. Busuttil RW: Future evolution of treatment for HCC w: Controversies in liver transplantation. CME-Acredited Satellite Symposium preceding the 11th Annual International Congress of the ILTS, Los Angeles, July 20, 2005; 62–63
13. Ju-Seog Lee Identification of novel prognostic subtype of hepatocellular carcinoma derived from hepatic progenitor cells by comparative functional genomic approach. *Hepatology*, 2005; 42(4 Suppl.1): 238A (104)
14. Małkowski P, Chmura A, Pacholczyk M i wsp: Przeszczepienie wątroby – metody klasyczne i warianty. *Hepatologia 2005 Review* 2005; 5: 119–26
15. G Evans, A Tzakis: Session: Liver transplantation for HCC. 10th Congress of Asian Society of Transplantation, 1–4. December 2007, Pattaya, Thailand
16. Roayaie K, Feng S: Allocation policy for hepatocellular carcinoma in the MELD era: room for improvement? *Liver Transpl*, 2007; 13(11 Suppl.2): 536–43
17. Miraglia R, Pietrosi G, Maruzzelli L i wsp: Efficacy of transcatheter embolization/chemoembolization (TAE/TACE) for the treatment of single hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol*, 2007; 13(21): 2952–55
18. Lau WY, Ho SK, Yu SC i wsp: Salvage surgery following downstaging of unresectable hepatocellular carcinoma. *Ann Surg*, 2004; 240(2): 299–305
19. Kulik LM, Atassi B, van Holsbeeck L i wsp: Yttrium-90 microspheres (TheraSphere) treatment of unresectable hepatocellular carcinoma: downstaging to resection, RFA and bridge to transplantation. *J Surg Oncol*, 2006; 94(7): 572–86
20. Huang GT, Lee PH, Tsang YM i wsp: Percutaneous ethanol injection versus surgical resection for the treatment of small hepatocellular carcinoma: a prospective study *Ann Surg*, 2005; 242(1): 36–42
21. Sotiropoulos GC, Malago M, Molmenti E i wsp: Efficacy of transarterial chemoembolization prior to liver transplantation for hepatocellular carcinoma as found in pathology *Hepato-Gastroenterology*, 2005; 52(62): 329–32
22. Maluf DG, Stravitz RT, Williams B i wsp: Multimodality therapy and liver transplantation in patients with cirrhosis and hepatocellular carcinoma: 6 years, single-center experience. *Transplant Proc*, 2007; 39(1): 153–59
23. Adam R, Azoulay D, Castaing D i wsp: Debate: is resection a suitable bridge in the transplant candidate? Con argument w: Controversies in liver transplantation. CME-Acredited Satellite Symposium preceding the 11th Annual International Congress of the ILTS, Los Angeles, July 20, 2005; 52–53

Zaburzenia metaboliczne po przeszczepieniu wątroby

Metabolic disorders in patients after liver transplantation

Urszula Ołdakowska-Jedynak¹, Aldona Wierzbicka², Joanna Pawłowska³, Leszek Pączek¹

¹ Klinika Immunologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych Instytutu Transplantologii, Uniwersytet Medyczny w Warszawie

² Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej Instytutu „Pomnik – Centrum Zdrowia Dziecka” w Warszawie

³ Klinika Gastroenterologii, Hepatologii i Immunologii Instytutu „Pomnik – Centrum Zdrowia Dziecka” w Warszawie

Summary: Authors present the most important metabolic disturbances in patients after liver transplantation. Hypertension, hyperlipidemia and hypertriglyceridaemia are risk factors for the development of vascular disease and are a predictor of graft loss and chronic rejection. Obesity and hypertension are generally associated with multiple acquired factors predisposing to insulin resistance including lifestyle, high-fat diet and medications.

Słowa kluczowe: transplantacja wątroby • zaburzenia metaboliczne

Key words: liver transplantation • metabolic disturbances

Praca powstała w ramach projektu badawczego MNiSW Nr 1977/P01?2007/32 „Ocena czynników ryzyka miażdżycy u pacjentów po transplantacji wątroby”.

Adres do korespondencji: Urszula Ołdakowska-Jedynak, Klinika Immunologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych Instytutu Transplantologii, ul. Nowogrodzka 59, 02-006 Warszawa, Polska, e-mail: ula.oldakowska@wp.pl

Wstęp

Historia medycyny transplantacyjnej notuje dzień 1 marca 1963 r. jako datę pierwszej transplantacji wątroby wykonanej przez pioniera w tej dziedzinie Thomasa E. Starzla. Zabieg przeprowadzono u dziecka z niedrożnością zewnątrzwątrobowych dróg żółciowych. Wprawdzie zakończył się niepowodzeniem, wyznaczył jednak ważny etap rozwoju transplantologii. Pierwsze udane przeszczepienie przeprowadził ten sam zespół w Pittsburghu w 1967 r. u 1,5-letniego dziecka z pierwotnym rakiem wątroby (*hepatoblastoma*). Do nawrotu choroby w przeszczepionym narządzie i rozwoju odległych przerzutów doszło po 13 miesiącach obserwacji.

Współczesny sukces tej dziedziny medycyny transplantacyjnej stał się możliwy dzięki osiągnięciom intensywnych badań naukowych prowadzonych w ostatnim stuleciu, wiele z nich uhonorowanych nagrodą Nobla. Obserwowana znacząca poprawa wyników przeszczepiania, wyrażająca się zmniejszeniem liczby zgonów i częstości występowania poważnych powikłań, zwłaszcza we wczesnym okresie po transplantacji, wynika przede wszystkim z postępu, który dokonał się w za-

kresie techniki chirurgicznej, standardów opieki anestezyjologicznej i internistycznej oraz poznania mechanizmów odpowiedzi immunologicznej i opracowania optymalnych schematów leczenia immunosupresyjnego.

Wraz z wydłużającym się czasem przeżycia pacjentów i ich przeszczepów coraz większego znaczenia nabierają czynniki, które mają kluczowy wpływ nie tylko na odległe wyniki przeszczepiania i losy biorcy przeszczepu ale również na jakość życia pacjenta. W ogólnej populacji na podstawie danych ogólnoiwotowych mówi się o zjawisku epidemii otyłości i zespołu metabolicznego, czemu sprzyjają czynniki środowiskowe i styl życia. Stwierdzono, że występowanie zespołu metabolicznego zwiększa ryzyko rozwoju choroby wieńcowej i udaru mózgu oraz ryzyko zgonu z przyczyn sercowo-naczyniowych [1].

Zaburzenia metaboliczne obserwowane po przeszczepieniu narządów są wieloczynnikowe i zależą między innymi od czynności przeszczepionego narządu, działań ubocznych stosowanej immunosupresji, powikłań narządowych spowodowanych niewydolnością przeszczepianego narządu oraz dotychczas-

wego leczenia (immunosupresja, dializoterapia), współistniejących chorób (np. zakażenia HBV i HCV) oraz konsekwencji procesów ostrego i przewlekłego odrzucania. Jak wskazują badania epidemiologiczne, pochodzące z dużych rejestrów transplantacyjnych z Europy i Stanów Zjednoczonych, u biorców przeszczepu wątroby (ltx) obserwuje się zwiększoną częstość występowania czynników ryzyka chorób sercowo-naczyniowych (CVD, cardiovascular disease) takich jak: otyłość, hiperlipidemia, zaburzenia gospodarki węglowodanowej, nadciśnienie tętnicze. Odpowiada to wyższej częstości zdarzeń sercowo – naczyniowych w obserwacji po ltx, która wynosi od 9,5% po 5 latach i wzrasta do 25% po 10 latach [2]. CVD stanowią jedną z istotnych przyczyn zgonów po ltx – 21% biorców przeżywających 3 lata umiera z tego powodu [3,4]. Dlatego też choroby zwiększające ryzyko CVD powinny być leczone u biorcy przeszczepu wątroby podobnie jak w ogólnej populacji. Z uwagi jednak na pewne odrębności tej populacji pacjentów, ogólne zasady postępowania muszą uwzględniać specyfikę wynikającą z choroby podstawowej wątroby własnej, funkcji przeszczepu wątroby i jego wpływu na czynniki metaboliczne ryzyka chorób sercowo-naczyniowych, funkcji nerek, stosowanego leczenia immunosupresyjnego oraz potencjalnych interakcji łącznie stosowanych leków.

W opracowaniu zostały omówione najistotniejsze zaburzenia metaboliczne, występujące po przeszczepieniu wątroby.

Nadciśnienie tętnicze

Nadciśnienie tętnicze jest częstym powikłaniem po ltx. Występuje u 50–70% biorców przeszczepu wątroby i jest czynnikiem ryzyka powikłań sercowo-naczyniowych [4–6]. Choć patogenezą nie jest do końca wyjaśniona, wymienia się udział kilku czynników: aktywacja układu renina-angiotensyna-aldosteron, wzmoczona odpowiedź wazokonstrykcyjna na działanie noradrenaliny i angiotensyny II, obniżona aktywność czynników wazodylatacyjnych (system kinin, kalikreina i NO). Nadciśnienie tętnicze po ltx charakteryzuje się hemodynamicznie uogólnioną wazokonstrykcją. Ostra czy przewlekła nefrotoksyczność wtórna do cyklosporyny (CsA) i takrolimus (Tac), upośledzając hemodynamikę nerkową (skurcz tętniczki doprowadzającej) i ustrojową homeostazę sodu odgrywa dodatkową rolę. Choć patomechanizm nie jest do końca poznany uważa się, iż zaburzenia funkcji endotelium naczyń odgrywają istotną rolę w patogenie nadciśnienia tętniczego po ltx. Potwierdzone zostały nieprawidłowości regulacji wazomotoryki i zaburzenia równowagi krążących wazoaktywnych czynników takich jak prostacyklina i endotelina. Dodatkowo, poza inhibitorami kalcyneuryny może mieć znaczenie sodoretencyjny efekt glikokortykoidów. W trakcie przewlekłej terapii cyklosporyną wykazano również wzmoczoną aktywność układu współczulnego. Cyklosporyna stymuluje uwalnianie reniny i powoduje nasiloną ekspresję receptorów dla angiotensyny II w komórkach mięśni gładkich naczyń. Cyklosporyna i takrolimus zwiększają syntezę endoteliny i uczestniczą w generacji wolnych rodników nadlenkowych, które utleniają NO i upośledzają NO zależną wazodylatację. Skurcz naczyń nerkowych odpowiada za zmniejszenie filtracji kłębuszkowej i wzrost reabsorpcji sodu w cewkach nerkowych [4,6,7]. Badania doświadczalne i kliniczne dostarczyły dowodów, że ACEI i ARB (blokery receptora dla angiotensyny II) wywierają istotny wpływ na stres oksydacyjny w naczyniach, zmniejszają zwężenie naczyń, zwiększają aktywność biologiczną NO i mogą hamować wytwarzanie ponadtenku lokalnie w naczyniach.

Antagoniści wapnia również wykazują wpływ na stres oksydacyjny. W badaniach eksperymentalnych stwierdzono zmniejszenie peroksydacji lipidów. Warto podkreślić ochronny kardio- i nefroprotektoryjny wpływ tej grupy leków w kontekście działań niepożądanych inhibitorów kalcyneuryny.

W populacji ogólnej u osób z łagodnym nadciśnieniem tętniczym stwierdza się insulinooporność. Wykazano także, iż insulinooporność i hiperinsulinemia zwiększają skłonność do nadciśnienia tętniczego. Zaproponowano w jednej z hipotez, że wzrost ciśnienia tętniczego jest skutkiem bezpośredniego wpływu podwyższonego stężenia insuliny na aktywność układu współczulnego [8].

Zaburzenia gospodarki węglowodanowej

Cukrzyca potransplantacyjna (post transplant diabetes mellitus – PTDM) należy do stosunkowo częstych powikłań po przeszczepieniu narządów allogenicznym i ma wyraźny związek z rodzajem stosowanego schematu leczenia immunosupresyjnego, przyspieszającego genetyczną predyspozycję do jej wystąpienia.

Wystąpieniu cukrzycy po przeszczepieniu narządów sprzyja obciążający wywiad rodzinny w kierunku cukrzycy typu 2, wiek powyżej 40–45 lat, częściej pojawia się też u rasy czarnej oraz pacjentów z wielotorbielowością nerek. Czynnikiem ryzyka jest także płeć męska, zakażenie HCV, stosowanie takrolimusu w podstawowej immunosupresji [9,10].

Obserwuje się większą częstość występowania cukrzycy u biorców leczonych prednizonem (Pred) w skojarzeniu z cyklosporyną (7–19%), niż otrzymujących leczenie klasyczne Pred i azatiopryną (6–13%) lub mykofenolan mofetylu. Częstość występowania cukrzycy *de novo* po transplantacji ocenia się w piśmiennictwie na 4–20% a ryzyko jej rozwoju jest największe w pierwszych kilku miesiącach po przeszczepieniu [8–10].

W cukrzycy potransplantacyjnej stwierdza się zwiększenie wątrobowej syntezy glukozy (hiperglikemia na czczo), zaburzenia utylizacji glukozy, jej utleniania i magazynowania w formie glikogenu przez tkanki, głównie mięśnie szkieletowe (insulinooporność obwodowa) oraz zaburzenie wydzielania insuliny. Cukrzyca potransplantacyjna tradycyjnie kojarzona jest jako powikłanie kortykoterapii (GS – glikokortykosteroidy), niemniej jednak szereg doniesień wskazuje także na diabetogenny wpływ inhibitorów kalcyneuryny: takrolimus i cyklosporyny. Diabetogenne działanie GS wynika z wywołanej przez nie insulinooporności wątrobowej i obwodowej. Przebiega ono dwufazowo jako efekt receptorowy: zmniejszenie liczby i powinowactwa receptorów insulinowych oraz postreceptorowy: zmniejszenie aktywności syntetazy glikogenu, zaburzenia komórkowego transportu glukozy oraz procesu wiązania insuliny z białkami cytoplazmatycznymi. U biorców przeszczepów obserwuje się także zaburzenia wydzielania insuliny.

GS wywierają bezpośredni wpływ na uwalnianie insuliny przez komórki B wysp trzustkowych pod wpływem glukozy. Ma on charakter stymulujący, tłumaczący hiperinsulinemię u osób otrzymujących GS, albo hamujący sekrecję insuliny jako hormon stresu. Cyklosporyna hamuje syntezę i wydzielanie insuliny przez trzustkę. Bezpośredni toksyczny wpływ CsA na komórki trzustki wykazano na zwierzęcym modelu doświadczalnym, brakując jednak takich danych u ludzi [11–14].

U pacjentów po transplantacji serca stwierdzono istotną ujemną korelację pomiędzy stężeniem podstawowym CsA a stężeniami insuliny, proinsuliny i peptydu C oraz dodatnią korelację pomiędzy stężeniem CsA a stężeniem glukozy. Zaburzenia węglowodanowe po przeszczepieniu serca leczonych CsA wynikają z supresyjnego wpływu CsA na wydzielanie insuliny i jej prekursorów [15].

Pacjenci leczeni takrolimusem znacznie częściej rozwijają cukrzycę *de novo* po przeszczepieniu (12–20%) niż chorzy otrzymujący cyklosporynę (2–4%). Diabetogenny efekt takrolimusu nie jest do końca wyjaśniony i jak się przypuszcza, jest skutkiem zaburzeń sekrecji insuliny względnie obwodowej insulinooporności. Wśród biorców przeszczepu wątroby zaburzenia gospodarki węglowodanowej występują u 4–20% pacjentów zaś insulinoterapii wymaga ok. 40% z nich. Diabetogenny efekt Tac występujący w pierwszym roku po przeszczepieniu, wydaje się być zależny od dawki leku i jego poziomu we krwi, w kolejnych latach obserwacji po ltx jest porównywalny (oznaczano poziom glukozy, HbA1c, peptydu C i insuliny) do tego jaki wykazuje CsA.

Cukrzyca potransplantacyjna należy do istotnych czynników obciążających rokowanie co do przeżycia pacjentów i funkcji przeszczepów. Insulinooporność, obserwowana w potransplantacyjnych zaburzeniach węglowodanowych, odgrywa ważną rolę w patogenezie miażdżycy i jej następstw. Dominują wśród nich powikłania ze strony układu krążenia i infekcje [9,10,12,14].

Nie podlega zatem dyskusji potrzeba starannego monitorowania kontroli glikemii u biorców przeszczepów. Prewencja, wczesne wykrycie i optymalne leczenie cukrzycy potransplantacyjnej ograniczają zakres jej powikłań u biorców przeszczepu, poprawiają rokowanie i komfort życia pacjentów.

Dyslipidemia u biorców alloprzeszczepu wątroby

Zaburzenia lipidowe są uznanym czynnikiem ryzyka rozwoju miażdżycy w populacji ogólnej, jak też u biorców przeszczepów narządowych. Hipercholesterolemia, hipertriglicydemia, podwyższony współczynnik cholesterolu LDL/HDL, stanowią niezależne czynniki ryzyka wystąpienia powikłań sercowo-naczyniowych i mózgowo-naczyniowych. Lipidy w nadmiarze są także nefrotoksyczne. W badaniach wykazano, że hipercholesterolemia stanowi czynnik ryzyka wystąpienia niewydolności nerek, zarówno w populacji osób zdrowych, jak też u pacjentów z cukrzycą czy nadciśnieniem. Niektóre frakcje lipoprotein (VLDL, LDL) mają działanie prokoagulacyjne: zwiększają generację trombiny oraz zmniejszają aktywność lipolityczną osocza. Wykazano że prawie we wszystkich typach hiperlipidemii wzrasta aktywność PAI-1. Skład lipoprotein osocza wpływa na morfologię i funkcję płytek krwi [16].

Dyslipidemia po przeszczepieniu narządów dotyczy od 17–66% pacjentów, w zależności od czasu jaki upłynął od przeszczepienia. Hipercholesterolemia dotyczy około 60–75% biorców przeszczepu nerki zaś u 35–50% stwierdza się hipertriglicydemię. Etiologia poza dietą uwzględnia między innymi genetyczną predyspozycję, PTDM, dysfunkcję nerek i stosowane leczenie immunosupresyjne [17,18].

Wiele uwagi poświęca się zaburzeniom lipidowym również po transplantacji z uwagi nie tylko na udowodniony etiologiczny związek z rozwojem miażdżycy i jej powikłań ze strony układu sercowo-naczyniowego ale także ze względu na ewidentną korelację z dynamiką procesu przewlekłego odrzucania i postępu przewlekłej waskulopatii przeszczepu. Aterogeneza po transplantacji ma przyspieszony przebieg i już po roku bywa istotna klinicznie. Ryzyko wystąpienia zawału mięśnia sercowego po TPN jest 25 razy wyższe niż w porównywalnej co do wieku i płci generalnej populacji. Raport EDTA (European Dialysis and Transplant Association) podaje, iż zgony z powodu chorób układu sercowo-naczyniowego stanowią 32–52% u pacjentów po TPN z czynnym przeszczepem. Uważa się, iż zmiany histopatologiczne w kłębuszkach nerki przeszczepionej są dostrzegalne już po kilku tygodniach od pojawienia się zaburzeń lipidowych. Komórki mezangium posiadają receptor i zdolność kumulowania frakcji lipoprotein o niskiej gęstości LDL-cholesterolu. W badaniach opublikowanych przez Isonisemi i wsp. poziom cholesterolu i trójglicerydów po 2 latach po TPN był czynnikiem predyktorem przewlekłej nefropatii obserwowanej po 4 latach po TPN [18]. Massey udowodnił iż, poziom trójglicerydów jest niezależnym czynnikiem ryzyka utraty przeszczepu w przebiegu przewlekłej nefropatii [19]. Podobnie, na podstawie retrospektywnych badań, ocenia się cholesterolemię w aspekcie rozwoju chorób układu sercowo-naczyniowego i progresji niewydolności przeszczepu. W badaniach doświadczalnych udokumentowano iż dieta bogatolipidowa powoduje ogniskowe szkliwienie kłębuszków nerkowych zaś redukcja poziomu cholesterolu i trójglicerydów powoduje zmniejszenie zmian czynnościowych i strukturalnych patologii w nerkach.

Patogeneza dyslipidemii po przeszczepieniu jest złożona. Proponuje się szereg mechanizmów odpowiedzialnych za jej rozwój. Czynnikiem dominującym wydaje się być stosowane leczenie immunosupresyjne przede wszystkim glikokortykoidy, cyklosporyna i od niedawna stosowany ksenobiotyk sirolimus. GS zwiększają stężenie cholesterolu całkowitego, VLDL i trójglicerydów w surowicy w następujących mechanizmach: pobudzanie syntezy trójglicerydów (zwiększenie aktywności enzymów wątrobowych zaangażowanych w syntezie lipoprotein VLDL i wywoływanie insulinooporności), hamowaniu metabolizmu LDL (zmniejszenie aktywności receptorów wątrobowych dla LDL) zwiększenie syntezy i degradacji apolipoproteiny B, powodowanie niedoboru ACTH, co sprzyja wzrostowi trójglicerydów i cholesterolu. Wykazano również, że GS mogą nasilać ekspresję genu dla ACAT (acylotraansferazy acylo-cholesterolowej, enzymu katalizującego nieodwracalną estyfikację wolnego cholesterolu. Jako inne patogenetyczne mechanizmy należy wymienić także predyspozycję genetyczną, otyłość, współistniejące zaburzenia węglowodanowe, proteinurię oraz stosowane jednocześnie leczenie diuretykami lub b-blokerami.

Cyklosporyna jest lipofilna, aż 50% leku jest transportowana w surowicy głównie przez lipoproteiny. Wiązanie cyklosporyny z LDL i prawdopodobnie z Lp(a) może upośledzać klirens lipoprotein i zwiększać ich poziom. Interakcja CsA z receptorem dla LDL może dodatkowo zmniejszyć jego aktywność.

Ponadto CsA hamując aktywność 26-hidroksylazy, zmniejsza syntezę kwasów żółciowych z cholesterolu, podwyższa poziom LDL-cholesterolu w surowicy. Cyklosporyna nasi-

la oksydację LDL–chol. Alternatywny mechanizm dyspilemicznego działania CsA to interferowanie z wątrobowym metabolizmem Lp(a). Odstawienie CsA powoduje zmniejszenie stężenia cholesterolu i trójglicerydów.

Wyłączne stosowanie diety niskocholesterolowej zwykle jest niewystarczające dla normalizacji zaburzeń lipidów. Pacjenci ponadto nie są w stanie przestrzegać jej restrykcyjnych założeń przez dłuższy okres czasu i większość z nich wymaga farmakologicznego leczenia hipolipemizującego. O wyborze leczenia farmakologicznego decyduje profil zaburzeń lipidowych. Największą grupę leków stanowią statyny i im przypada szczególne miejsce w farmakoterapii z uwagi na pleiotropowe działanie. Mechanizm działania statyn nie został do końca wyjaśniony. Leki te ograniczają syntezę *de novo* cholesterolu w komórce poprzez blokowanie kluczowego enzymu biosyntezy cholesterolu, katalizującego redukcję 3-hydroksy-3-metylo-koenzymu A (HMG-Co) do mewanionu. Efekty leczenia statynami nie dają się uzasadnić jedynie redukcją poziomu cholesterolu.

Ostatnio publikowane wyniki badań eksperymentalnych i klinicznych wskazują, że inhibitory reduktazy A (HMG-CoA) poza tradycyjnym hipolipemicznym efektem, mogą hamować proces ostrego i przewlekłego odrzucania przeszczepu serca. Badania wykonane na zwierzętach wykazały terapeutyczny wpływ statyn w glomerulopatiach i miażdżycy. Przypuszcza się, że mogą one wpływać na regulację transkrypcji DNA. Lowastatyna hamuje aktywację czynnika transkrypcyjnego NFκB (nuclear factor κB), biorącego udział w kontroli ekspresji wielu genów kodujących niektóre cytokiny, cząsteczki adhezyjne i czynniki wzrostowe. Wykazano także, iż statyny mogą obniżać poziom białka C-reaktywnego i powstawanie nadtlenków. W badaniach klinicznych podkreśla się efekt stabilizujący płytkę miażdżycową, korygujący funkcję śródbłonnika oraz odwracając zaburzoną w hipercholesterolemii równowagę koagulacyjno-fibrynolityczną.

Nadto statyny demonstrują pewne właściwości immunomodulacyjne między innymi: hamują cytotoxyczność komórek NK i cytotoxyczność komórkową zależną od przeciwciał. Badania *in vitro* przeprowadzone w Zakładzie Immunologii Klinicznej Instytutu Transplantologii A.M. w Warszawie, oceniające wpływ lowastatyny i simvastatyny na czynność limfocytów T i B wykazały, że obie statyny a szczególnie simvastatyna obniżają odpowiedź proliferacyjną limfocytów T, hamują adhezję aktywowanych PHA limfocytów do elastyny i ich interakcje ze śródbłonkiem naczyńnym [20].

Efekty obserwowane *in vitro* porównywalne są do wyników leczenia pacjentów z hiperlipidemią, kiedy to po 3 miesięcznej terapii lowastatyna obserwowano istotne obniżenie efektu kostymulacyjnego elastyny. Statyny wywierały także hamujący wpływ na odpowiedź humoralną. (MK). Prezentowane wyniki sugerują, że podawanie statyn może mieć istotne znaczenie w prewencji przewlekłego odrzucania allop przeszczepów narządowych poprzez hamowanie procesów immunologicznych zaangażowanych w ten proces.

Optymalną zatem jest modyfikacja leczenia immunosupresyjnego, zapewniająca adekwatną supresję układu immunologicznego a jednocześnie obciążona minimalnymi powikłaniami metabolicznymi. Wiadomo, że CsA w skojarzeniu z GK może powodować głębokie zaburzenia parametrów gospo-

darki lipidowej. Dość powszechnie relacjonuje się obniżenie stężenia cholesterolu całkowitego po odstawieniu GS.

Stosując statyny, należy pamiętać o potencjalnych działaniach ubocznych, wśród których szczególnie ważna u biorców przeszczepów narządowych jest możliwość wystąpienia hipertransaminazemii i cholestazy a także rhabdomyolizy podczas jednoczesnego podawania z cyklosporyną.

Fibraty mają również swoje miejsce w leczeniu zaburzeń lipidowych po transplantacji. Mechanizm działania fibratów polega na aktywacji czynników transkrypcyjnych PPAR-α (peroxisome proliferator activated receptors-α). Gemfibrozil redukuje hipertriglicerydemie i hipercholesterolemie, w sposób zmienny obniża wskaźnik cholesterolu całkowitego do HDL i trójglicerydów, z tendencją 15% obniżania TC i wzrostu 19% frakcji HDL. W kombinacji z dietą ograniczającą podaż węglowodanów, gemfibrozil znacząco koryguje zaburzenia lipoproteinowe u biorców przeszczepu nerki, nie indukując istotnych toksyczności. Nie zaleca się podawania cholestyraminy ze względu na powodowane zaburzenia jelitowej absorpcji cyklosporyny oraz wchłaniania innych leków. Kwas nikotynowy nasila zaburzenia gospodarki węglowodanowej i hiperuricemii u pacjentów z cukrzycą co eliminuje go z listy leków zalecanych po przeszczepieniu szczególnie w tej populacji chorych [16,21,22].

Poza tradycyjnymi testami o ustalonej roli w diagnostyce chorób sercowo-naczyniowych najnowsze metody nieinwazyjne uwzględniają ocenę grubości kompleksu intima-media tętnic szyjnych, sztywność tętnic, rozszerzalność tętnicy ramiennej. Rezonans magnetyczny serca i naczyń wieńcowych wykazują również użyteczność kliniczną. Publikowane ostatnio wyniki badań dokumentują potencjał diagnostyczny nowych nieinwazyjnych metod. Badania nieinwazyjne pozwalają wykrywać zmiany subkliniczne i w efekcie zapobiegać wystąpieniu klinicznych zdarzeń sercowo-naczyniowych. Grubość kompleksu intima-media tętnic szyjnych (cIMT) – parametr oceniany w badaniu ultrasonograficznym tętnic szyjnych w projekcji B-mode, stanowi wartościowe badanie opisujące obecność subklinicznych zmian miażdżycowych. W ostatnim okresie opublikowano kilka badań, w których wykazano związki tych zmian z cukrzycą. W metaanalizie Brohall i wsp. przedstawili dane 24 111 pacjentów z 23 badań w celu porównania cIMT u chorych na cukrzycę typu 2, osób z nieprawidłową tolerancją glukozy i w grupie kontrolnej bez cukrzycy. Analiza ujawniła średni wzrost cIMT o 0,13 mm u chorych na cukrzycę typu 2, co wskazuje na wyższe ryzyko względne wystąpienia incydentów sercowo-naczyniowych u tych chorych [23]. Badania cIMT u dzieci stanowią predyktor wystąpienia incydentów sercowo-naczyniowych w przyszłości. Kilka ostatnich publikacji pomiary cIMT opisywały stopień zaawansowania miażdżycy w populacji dzieci chorych na cukrzycę typu 1. Wartości cIMT wykazywały ujemną korelację ze stężeniem cholesterolu HDL i dodatnią korelację ze stężeniem cholesterolu LDL do HDL [24].

Otyłość

Otyłość została zdefiniowana jako jeden z niezależnych czynników wpływających na wczesne i odległe wyniki przeszczepiania narządów. Otyły biorca demonstruje więcej poważnych powikłań w bezpośrednim okresie po transplantacji. Po przeszczepieniu istotny wpływ na stan odżywienia ma stosowane leczenie immunosupresyjne. Od 15 do 40% biorców

alloprzeszczepu wątroby rozwija otyłość w pierwszym roku po transplantacji. Wiele czynników ma nato wpływ: nadwaga przed transplantacją, styl życia po ltx. Glikokortykoidy sprzyjają otyłości głównie poprzez zwiększenie apetytu, powodującego dodatni bilans energetyczny. GS zmniejszają wydzielanie kortykoliberyny oraz hamują aktywność układu współczulnego i nasilają wpływ neuropeptydu Y na podwzgórze. Wpływ GS na leptynę, białko odpowiedzialne za powstawanie uczucia sytości, nie jest jednoznacznie ustalony. Nadmiar GS prowadzi do otyłości typu trzewnego w następstwie redystrybucji tkanki tłuszczowej z obwodowych do centralnych części ciała i gromadzenia lipidów w bogatej w receptory dla GS tłuszczowej tkance trzewnej [10].

W patogenezie otyłości trzewnej bierze się pod uwagę lokalną syntezę kortyzolu w tkance tłuszczowej sieci. Otyłość typu trzewnego, nawet niewielka, w istotny sposób wpływa na chorobowość i śmiertelność, związanej głównie z powikłaniami w układzie sercowo-naczyniowym. Zwiększa się ryzyko zachorowania na chorobę wieńcową, nadciśnienie tętnicze, cukrzycę typu II i hiperlipidemię. Otyłość jest istotnym czynnikiem wpływającym na wystąpienie mikroalbuminurii i białkomoczu, także u osób z prawidłowym ciśnieniem tętniczym i bez współistniejącej cukrzycy. Wiadomo także, iż redukcja masy ciała powoduje obniżenie ciśnienia tętniczego, często do wartości prawidłowych, ponadto koryguje zaburzenia lipidowe i poprawia gospodarkę węglowodanową u chorych z cukrzycą typu II(a). Dieta ubogotłuszczowa, niskokaloryczna połączona z wysiłkiem fizycznym jest powszechnie zalecana po przeszczepieniu. Odstawienie GS w ciągu pierwszych 6 miesięcy może mieć korzystny wpływ w tej grupie biorców.

Hiperhomocysteinemia

Wprawdzie prawidłowy poziom homocysteiny (Hcy) nie został jeszcze dokładnie sprecyzowany to zaobserwowano, iż biorcy przeszczepu nerki wykazują dwukrotnie wyższy jej poziom w surowicy na czczo niż porównywalna wiekiem i płcią grupa kontrolna populacji generalnej. Podwyższone poziomy odwrotnie korelowały ze stężeniem w surowicy kwasu foliowego i witaminy B12. W metabolizmie i klirensie homocysteiny kluczową rolę odgrywają nerki. U pacjentów z nieprawidłową funkcją nerki Hcy był wysoki [25], z tendencją do wyższych wartości u pacjentów leczonych CsA. Homocysteina jest metabolitem metioniny. Już w 1969 roku McCully opisał przypadki nasilonej miażdżycy i zmian zakrzepowych w tętnicach u dzieci z hiperhomocysteinemią i homocysteinurią. Mechanizmem odpowiedzialnym za uszkodzenie naczyń jest proces szybkiej oksydacji homocysteiny w surowicy. Homocysteina jest metabolizowana w procesie metylacji i sulfurylacji. Stąd metaboliczne uzasadnienie efektu obniżającego poziom homocysteiny przez podaż kwasu foliowego. Na podstawie retrospektywnej analizy i prospektywnych badań klinicznych w ogólnej populacji, przybywa dowodów etiopatologicznego związku podwyższonego stężenia homocysteiny a rozwoju choroby sercowo-naczyniowej (CVD) i mózgowo naczyniowej. Brakuje jeszcze doniesień demonstrujących wymierne korzyści z obniżenie poziomu homocysteiny w postaci znaczącej redukcji ryzyka rozwoju CVD.

W badaniach przeprowadzonych u biorców przeszczepów nerkowych stwierdzono wyższe stężenie Hcy w grupie chorych z CVD niż u biorców bez CVD. Hiperhomocysteinemia, dość często obserwowana u chorych po przeszczepieniu wątroby,

jest także niezależnym czynnikiem ryzyka rozwoju powikłań sercowo-naczyniowych, w tak znaczący sposób kształtujących odległe rokowanie po ltx [26]. Zaburzenie metaboliczne ma związek ze stosowanym leczeniem immunosupresyjnym, w szczególności użyciem inhibitorów kalcyneuryny [27]. W odniesieniu do pacjentów po przeszczepieniu takie obserwacje są dostatecznym powodem do monitorowania poziomu homocysteiny i wyłonienia dzięki temu grupy szczególnego ryzyka rozwoju CVD. Podwyższone poziomy Hcy mogą korygować kwas foliowy, witamina B6 i B12. Wydaje się, że takie leczenie może być korzystne, wskazane są jednak dalsze obserwacje, oceniające wpływ takiego leczenia na częstość CVD i śmiertelności z tego powodu. W ostatnich doniesieniach wskazuje się, że hiperhomocysteinemia może być czynnikiem proonkogenym i postuluje się uznanie homocysteiny jako nowego markera nowotworowego [28].

Hiperurikemia

Hiperurikemia to jedno z częstszych zaburzeń metabolicznych obserwowanych u biorców przeszczepów nerki (TPN), wątroby (ltx) czy serca (OHT). Obserwuje się hiperuricemię u 30–80% pacjentów po TPN i OHT leczonych cyklosporyną podczas gdy rozwija ją tylko 30% biorców otrzymujących kombinację GS i azatiopryny. Zaburzenia nerkowych mechanizmów wydalania kwasu moczowego zależne od cyklosporyny i wysokie wartości uricemii mogą wystąpić szczególnie często w pierwszych miesiącach po transplantacji. Wskazuje się na pozytywną korelację dawki CsA (CsA mg/kg) z osoczymym stężeniem kwasu moczowego. Mechanizm oddziaływania CsA na klirens kwasu moczowego nie jest ostatecznie wyjaśniony.

Niektórzy badacze wyjaśniają powstawanie hiperurikemii pocyklosporynowej zwiększoną reabsorpcją kwasu moczowego w cewce bliższej (jedynie cewka bliższa bierze udział w procesie nerkowej sekrecji moczanów u człowieka), inni zaś proponują mechanizm pocyklosporynowego spadku kłębuszkowej frakcji filtracji (GFR), wtórnego wzrostu reabsorpcji i obniżonej cewkowej sekrecji w cewce proksymalnej. Zaobserwowano również, iż obniżonemu klirensowi kwasu moczowego towarzyszy wzrost reabsorpcji sodu w cewce bliższej. Jest prawdopodobne, że CsA indukowana hiperurikemia to wyraz wzrostu aktywności cewkowego mechanizmu sodowo-moczowego kotransportu. Cyklosporyna nie ma wpływu na endogenną syntezę kwasu moczowego.

Hiperurikemię nasila jednoczesne leczenie diuretyczne (wtórnie do hipowolemii i wzrostu reabsorpcji cewkowej). Szereg opublikowanych danych wskazuje na korzystny efekt minimalizowania lub niestosowania diuretyków w hipotensyjnym leczeniu CsA indukowanego nadciśnienia tętniczego. Należy ograniczać stosowanie furosemidu tak dalece jak jest to możliwe. Poziom kwasu moczowego ujemnie koreluje z funkcją nerek, obniżenie wydalania moczanów występuje w przewlekłej niewydolności nerek. Hiperurikemia jest odwracalna po odstawieniu cyklosporyny. Powikłaniami nieprawidłowego klirensu moczanów u biorców wszystkich rodzajów przeszczepów jest dna moczanowa, kamica nerkowa i uropatia moczanowa.

Wytrącanie się kryształów moczanów w tkankach nieunaczynionych (chrząstka) lub słabo unaczynionych (ścięgna, więzadła) stawów dystalnych a w bardziej zaawansowanych postaciach dużych stawach i narządach mięsistych (nefropatia moczanowa, kamica moczowa).

By zapobiec potencjalnym komplikacjom podwyższonego poziomu kwasu moczowego w surowicy powinien być oznaczany przynajmniej raz w ciągu pierwszych 2–3 miesięcy po przeszczepieniu i dodatkowo u pacjentów z upośledzoną funkcją nerek/nerki. Interwencję terapeutyczną należy podjąć u bezobjawowych pacjentów ze znaczącą hiperurycemią.

Leczenie allopurinolem jest dość skuteczne w obniżaniu stężenia kwasu moczowego i zapobieganiu powikłaniom hiperuricemii. Ostrożnie należy kojarzyć allopurinol z azatiopryną, której dawkę należy zredukować o 50–75%. Badania kliniczne wykazały unikalny, urikozuryczny efekt losartanu u pacjentów po OHT. Podanie losartanu może przynieść wymierną korzyść chorym z hiperurycemią i nadciśnieniem tętniczym oraz koniecznością stosowania diuretyków w leczeniu hipotensyjnym [29–32].

Odrębności zaburzeń metabolicznych po przeszczepieniu wątroby u dzieci

U dzieci po transplantacjach narządowych, w tym nerek, wątroby, serca obserwuje się występowanie licznych czynników ryzyka chorób sercowo-naczyniowych (hipercholesterolemia, hipertriglicerydemia, otyłość, nadciśnienie tętnicze). U pacjentów dorosłych wstępnie sformułowano hipotezę mechanizmów prowadzących do rozwoju miażdżycy które uwzględniają zaburzenia gospodarki lipidowej, działania wolnych rodników tlenowych, tworzenie nadtenków lipidowych, dietę z nadmiarem wielonienasyconych kwasów tłuszczowych i proces zapalny. W obrazie choroby u dzieci należy brać pod uwagę również takie mechanizmy jak oporność na insulinę, która może zwiększać depozycję lipidów, a zwłaszcza przemianę tlenową kwasów tłuszczowych powodując zmniejszoną wrażliwość na insulinę w hepatocytach. Do oporności tkanek na insulinę, prowadzącej do akumulacji tłuszczów w hepatocytach, dochodzi w dwóch różnych mechanizmach: lipolizy i hiperinsulinemii. Wydaje się, że przyczyną tego może być zwiększone stężenie kwasów tłuszczowych w komórkach wątrobowych. Wyższe stężenie wolnych kwasów tłuszczowych (WKT) związane jest ze zwiększoną ilością tkanki tłuszczowej i nasileniem lipolizy oraz wpływa na pogorszenie insulino-wrażliwości zarówno w wątrobie, jak i mięśniach szkieletowych. W wątrobie dopływ WKT prowadzi do zmniejszenia klirensu insuliny, a hiperinsulinemia może sama w sobie prowadzić do insulinooporności zmniejszając ilość receptorów (zjawisko *down-regulation*) oraz inaktywując drogi postreceptorowe sygnalizacji insuliny [33].

Miażdżycę uważa się za przewlekły proces zapalny. Zaburzenia lipidowe (hipercholesterolemia, hipertriglicerydemia), hiperhomocystynemia oraz zaburzenia syntezy asymetrycznej dimetyloargininy (ADMA), dieta, uwarunkowania genetyczne, cukrzyca i otyłość w konsekwencji przyczyniają się do rozwoju miażdżycy i jej powikłań sercowo-naczyniowych. Obniżone stężenie frakcji HDL i apolipoproteiny – apo AI może przyspieszyć proces arteriosklerozy. Lepszym markerem odzwierciedlającym stężenie frakcji HDL w surowicy jest ocena stężenia apolipoproteiny AI (apo AI), a stężenie apolipoproteiny B (apoB-100) jest lepszym wykładnikiem zawartości frakcji LDL w surowicy krwi.

Istotną rolę w etiopatogenezie miażdżycy odgrywa wzrost sztywności ścian naczyń, gdyż podwyższone stężenie lipoprotein o niskiej gęstości (LDL – low density lipoprotein) sprzyja infiltracji ściany naczyniowej przez te cząstki, dochodzi do

uszkodzenia śródbłonna naczyń krwionośnych, które pojawia się przede wszystkim w wyniku utraty endogennych mechanizmów przeciwdziałających miażdżycy (np. produkcji tlenu azotu) i przepuszczalności naczyń krwionośnych dla krążących lipoprotein o niskiej gęstości (LDL). W procesie miażdżycowym podczas uszkodzenia naczynia dochodzi do wytwarzania w zwiększonej ilości tzw. wolnych rodników tlenowych, które charakteryzują się silnymi właściwościami „utleniającymi” strukturę naczynia. Lipoproteiny ulegają licznym modyfikacjom, heterogenność lipoprotein jest pochodną diety, stylu życia oraz wpływów metabolicznych. Niektóre obszary unaczynienia tętniczego (np. miejsca podziału tętnic) są szczególnie podatne na rozwój zmian miażdżycowych. W miejscach tych dochodzi do rozwoju zmian ogniskowych: uszkodzenia śródbłonna naczyń krwionośnych, które pojawia się przede wszystkim w wyniku utraty endogennych mechanizmów przeciwdziałających miażdżycy (np. produkcji tlenu azotu) i przepuszczalności naczyń krwionośnych dla krążących lipoprotein LDL.

W wyniku pobudzenia komórek śródbłonna dochodzi m.in. do wzbudzenia cyklu wtórnego przekaznika (cykliczny adenylo-mono-fosforan c-AMP), który inicjuje syntezę czynnika chemotaktycznego monocytów (MCP-1), czynnika stymulującego kolonie makrofagów (MCSF) i molekuł adhezyjnych [34]. Śródbłonek staje się przepuszczalny zarówno dla oksydowanego i wolnego LDL, jak i dla przyciąganych leukocytów, co wzmacnia stres oksydacyjny. Leukocyty w ścianie naczynia (makrofagi) pochłaniają zmodyfikowane lipoproteiny LDL, przekształcają się w komórki piankowe oraz uwalniają wiele prozapalnych cytokin, czynników chemotaktycznych i hormonów wzrostu, które między innymi stymulują proliferację i migrację komórek mięśni gładkich, aktywizując w ten sposób głębiej leżące warstwy naczynia.

Wzrost stężenia cholesterolu wewnątrz hepatocytów może prowadzić do uruchomienia cytoprotekcyjnego zjawiska tzw. *down regulation*, chroniącego komórkę przed jej przeładowaniem estrami cholesterolu. U pacjentów w okresie po-transplantacyjnym mogą wystąpić zwiększone poziomy cholesterolu frakcji LDL [35]. Fosfolipidy zawarte w LDL są bogatsze w nienasycone kwasy tłuszczowe, które z kolei są bardziej podatne na proces utleniania. Modyfikacja LDL-i w procesie oksydacji indukuje zmiany, zarówno w strukturze cząsteczki, jak i ich aktywności biologicznej. Efektem końcowym jest powstanie komórek piankowych (*foam cells*), w wyniku niekontrolowanej fagocytozy zmodyfikowanych LDL-i drogą receptorową poprzez scavenger makrofagów.

U dzieci po transplantacji wątroby również obserwuje się występowanie cech otyłości, która w istotny sposób wpływa na zmiany w układzie sercowo-naczyniowym, profil metaboliczny i funkcjonowanie układu dokrewnego (hiperinsulinizm, insulinooporność) i jest składową zespołu metabolicznego. Zaburzenia metaboliczne towarzyszące otyłości związane są z aktywnością metaboliczną i hormonalną tkanki tłuszczowej. Charakter przemian metabolicznych i czynność dokrewna są różne w zależności od rozmieszczenia tkanki tłuszczowej. Zgodnie z tzw. teorią krążenia wrotnego (*portal theory*), wolne kwasy tłuszczowe uwalniane z tkanki tłuszczowej trzewnej przedostając się do wątroby blokują działanie insuliny. Leptyna jest białkiem syntetyzowanym w adipocytach, hormon ten jest odpowiedzialny za regulację równowagi energetycznej – działając ośrodkowo poprzez hamowanie apetytu zmniejsza pobieranie pokarmu, powoduje również zwiększone wydatkowanie energii. Syntezę leptyny pobudzają insulina, TNF-α,

estrogeny i glikokortykosteroidy a obniżają wolne kwasy tłuszczowe, hormon wzrostu, agonisci aktywujący receptor γ proliferatora peroksysomów (PPAR γ). Wydaje się, że otyłość jest stanem oporności na leptynę. Leptyna hamuje pierwszą fazę wydzielania insuliny poprzez wpływ na ATP-zależny kanał potasowy w komórkach beta wysp trzustkowych. Adiponektyna (APM) wspomaga działanie insuliny w wątrobie poprzez zahamowanie glukoneogenezy i zahamowanie syntezy kwasów tłuszczowych a tym samym syntezy VLDL na skutek zmniejszenia aktywności syntazy kwasów tłuszczowych (FAS – fatty acid synthase). W otyłości wzrasta stężenie TNF i może powodować supresję wydzielania APM z adipocytów. W mięśniach adiponektyna uczestniczy w aktywacji ekspresji białek uczestniczących w β -oksydacji kwasów tłuszczowych.

Wpływ czynnika martwicy nowotworów TNF- α (TNF- α , *ang. Tumor Necrosis Factor- α*), którego zwiększony poziom obserwuje się u osób otyłych, a który hamuje czynność receptorów insulinowych oraz fosforylację receptora insulinowego, wpływa również bezpośrednio na metabolizm glukozy poprzez obniżanie ekspresji GLUT-4 w komórkach mięśniowych. Czynniki martwicy nowotworów poprzez hamowanie ekspresji receptorów aktywowanych przez proliferatory peroksysomów (PPAR-gamma) w adipocytach i miocytach zmniejsza pośrednio syntezę trójglicerydów i zwiększa stężenie wolnych kwasów tłuszczowych. TNF-alfa jest cytokiną, której mRNA jest obecny w tkance tłuszczowej i mięśniach szkieletowych. Czynniki martwicy guzów (TNF α) jest to cytokina, początkowo zidentyfikowana jako produkt makrofagów, mająca znaczenie w obronie organizmu w przypadku procesu zapalnego lub choroby nowotworowej. Uważa się, że tkanka tłuszczowa trzewna wewnątrztrzewnowa w odróżnieniu do podskórnej jest bardzo aktywna metabolicznie i ma znaczenie w patogeniezie insulinooporności. Z badań epidemiologicznych wynika, że istotniejsze znaczenie dla ryzyka sercowo-naczyniowego ma rozkład tkanki tłuszczowej powodujące otyłość trzewną a nie otyłość.

Leczenie immunosupresyjne stanowi niezbędną konieczność mającą na celu niedopuszczenie do odrzucenia przeszczepionego narządu i utrzymanie jego czynności przez wiele kolejnych lat. Niestety działanie leków immunosupresyjnych i możliwe interakcje z innymi lekami, mogą powodować wielokierunkowe efekty uboczne łącznie z zaburzeniem funkcji samego przeszczepu. Podczas długoterminowej immunosupresji funkcja przeszczepionej wątroby może ulec znacznemu osłabieniu, co manifestuje się upośledzonym klirensiem cholesterolu frakcji VLDL i LDL oraz zwiększonym poziomem cholesterolu całkowitego [36].

W miarę wydłużania się okresu obserwacji dzieci po transplantacji wątroby oraz ciągle pogłębianej wiedzy, dotyczącej stosowania leków immunosupresyjnych i technik przeszczepiania narządowego – zwiększyła się liczba doniesień o możliwych późnych powikłaniach tego sposobu leczenia. Powikłania te mają różny charakter i mogą być związane z objawami ubocznymi immunosupresji, zakażeniami wirusowymi

(CMV, HCV, EBV), chorobą limfoproliferacyjną, nawrotem choroby podstawowej, zwężeniami dróg żółciowych lub powikłaniami naczyniowymi. Badania eksperymentalne wykazały, że rodzaj zastosowanego leku po transplantacji wątroby może mieć wpływ na stan metaboliczny organizmu. Stwierdzono, że u pacjentów leczonych takrolimusem w porównaniu z cyklosporyną A występuje mniej nasiloną hiperlipidemię, zaś frakcja LDL-i jest mniej podatna na oksydacyjną modyfikację.

W badaniach Pawłowskiej, Wierzbickiej, Siirtoli A. i wsp [37–39] wykazano ujemną zależność pomiędzy stężeniem cyklosporyny A we krwi a poziomem cholesterolu zawartego we frakcji HDL.

Kolejnym czynnikiem pro-aterogenym, silnie przewidującym możliwość utraty przeszczepu lub wystąpienia procesu jego przewlekłego odrzucania jest stan hipertriglicerydemii. Taki stan został stwierdzony w badaniach Siirtola A. i wsp, przeprowadzanych u dzieci po przeszczepie wątroby (3–5 lat po transplantacji). Zgodnie z tymi badaniami zaobserwowano również, stopniowy spadek stężenia triglicerydów w miarę wydłużania się czasu od przeprowadzonego przeszczepu [39].

Podobnym działaniem do cyklosporyny A cechuje się związek makrolidowy, takrolimus, którego działanie wykorzystano w terapii indukującej lub jako leczenie podtrzymujące w prewencji ostrego odrzucania przeszczepów.

Nadrzędnym celem jest zahamowanie syntezy i uwalniania różnych cytokin, np. γ -interferonu oraz IL-1, IL-2, IL-3, IL-6, IL-8. Hamowanie proliferacji oraz różnicowania się limfocytów T i B oraz obniżanie zdolności wytwarzania przeciwciał – to domeny kortykosteroidów. Hamujący efekt wywierają one również na migrację monocytów do miejsca zapalenia oraz na samą aktywność makrofagów. Zastosowanie kortykosteroidów, do niedawna jednego z podstawowych składników protokołów immunosupresyjnych, ma charakter różnokierunkowy. Są one stosowane w leczeniu indukcyjnym i podtrzymującym po przeszczepie wątroby. Aktualnie u pacjentów pediatrycznych preferowane są schematy z szybkim odstawieniem lub całkowicie bez sterydów.

Kolejnym lekiem jest kwas mykofenolowy, zaliczany do grupy antymetabolitów. Jest prolekiem – estrem kwasu mykofenolowego, antybiotyku uzyskanego z pleśni *Penicillium*. Obecnie, posiada zastosowanie w profilaktyce odrzucania, głównie w fazie ostrego odrzucania przeszczepów. Zazwyczaj, podawany jest w kombinacji z cyklosporyną A lub z takrolimusem, ale również i w połączeniu ze sterydami, w zależności od potrzeb klinicznych.

Arteriopatie wyindukowane dyslipidemią, mogą być przyczyną utraty przeszczepu. Wysokie stężenie cholesterolu LDL, triglicerydów oraz niskie stężenie cholesterolu HDL są czynnikami ryzyka zmian chorób sercowo-naczyniowych u dzieci [37–39].

Piśmiennictwo:

1. Isoma B, Almren P, Tuomi T i wsp: Cardiovascular morbidity and mortality associated with the metabolic syndrome. *Diabetes Care*, 2001; 24: 683–89
2. Mazuelos F, Abril J, Zaragoza C i wsp: Cardiovascular morbidity and obesity in adult liver transplant recipients. *Transplant Proc*, 2003; 35: 1909–11
3. Pruthi J, Medkiff KA, Esrason KT i wsp: Analysis of causes of death in liver transplant recipients who survived more than 3 years. *Liver Transpl*, 2001; 7: 811–15
4. Gonwa TA: Hypertension and renal dysfunction in long term liver transplant recipients. *Liver Transpl*, 2001; 7(Suppl.): S22–26

5. Rabkin JM, Corless CL, Rosen HR i wsp: Immunosuppression impact on long term cardiovascular complications after liver transplantation. *Am J Surg*, 2002; 183: 595–99
6. Johnston SD, Morris JK, Cramb R i wsp: Cardiovascular morbidity and mortality after liver transplantation. *Transplantation*, 2002; 73: 901–6
7. Canzanello VJ, Textor SC, Taler SJ i wsp: Renal sodium handling with cyclosporine A and tacrolimus after liver transplantation. *J Am Soc Nephrol*, 1995; 5: 1910–17
8. Sowers JR, Frohlich ED: Insulin and insulin resistance: impact on blood pressure and cardiovascular disease. *Med Clin North Am*, 2004; 88: 63–82
9. Kasiske BL, Snyder JJ, Gilbertson D i wsp: Diabetes mellitus after transplantation in United States. *Am J Transplant*, 2003; 3: 178
10. Correlá MITD, Rego LO, Lima AS: Post-liver transplant obesity and diabetes. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2003; 4: 457–60
11. Ekstrand AV, Erikson JG, Gronhagen-Riska C i wsp: Insulin resistance and insulin deficiency in the pathogenesis of posttransplantation diabetes in man. *Transplantation*, 1996; 53: 563–69
12. Miles AM, Sumrani N, Horowitz R i wsp: Diabetes mellitus renal transplantation: As deleterious as non-transplant-associated diabetes? *Transplantation*, 1998; 65: 38–84
13. Jindal RM, Sidner RA, Milgrom ML: Post-transplant diabetes mellitus. *Drug Safety*, 1997; 16: 242–57
14. Zielińska T, Zakliczynski M, Szewczyk M, Zembala M: Rola cyklosporyny w rozwoju cukrzycy u pacjentów po przeszczepie serca. *V Zjazd PTT, Mikołajki*, 2001
15. Nefroprotekcja. Podstawy fizjologiczne i standardy postępowania terapeutycznego. Rutkowski B, Czekalski S, Myśliwiec M (red.) *Wyd Czelej*, 2006; 179–97
16. Kobashigawa JA, Kasiske BL: Hyperlipidemia in solid organ transplantation. *Transplantation*, 1997; 63: 331–38
17. Vaughan CJ, Gotto AM, Basson CT: The evolving role of statins in the management of atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol*, 2000; 35(1): 1–10
18. Isoniemi H, Nurminen M, Tikkanen M, von Willenbrand E i wsp: Risk factors predicting chronic rejection of renal allograft. *Transplantation*, 1994; 57: 68–72
19. Massy ZA, Guijarro C, Wiederkahr MR i wsp: Chronic allograft rejection: Immunologic and nonimmunologic risk factors. *Kidney Int*, 1996; 49: 518–24
20. Górski A, Kasprzycka M, Nowaczyk M i wsp: Statins as immunomodulatory drugs, *Prog Basic Clin Immunol*, wyd. Mackiewicz i wsp. Kluwer Academic/Plenum Publisher, New York, 283–88
21. Knight RJ, Vathsala A, Schoeueberg L i wsp: Treatment of hyperlipidemia in renal transplant recipients with gemfibrosil and dietary modification. *Transplantation*, 1991; 53: 224–25
22. Vergoulas G, Miserlis G, Solonaki F i wsp: Combined treatment of hypercholesterolemia of renal transplant recipients with fluvastatin and gemfibrozil. *Transpl Int*, 2000; 13: S64
23. Brohall G, Oden A, Fagberg B: Carotid artery intima-media thickness in patients with type 2 diabetes mellitus and impaired glucose tolerance: a systemic review. *Diabet Med*, 2006; 23: 609–16
24. Wadwa P: Nieinwazyjne pomiary zmian zachodzących w układzie sercowo-naczyniowym w przebiegu cukrzycy. *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity*, 2007; 14: 263–68
25. Shemin D, Bostom AG, Selhub J: Treatment of hiperhomocysteinemia in end-stage renal disease. *Am J Kidney Dis*, 2001; 38: S91–94
26. Herrero JJ, Quiroga J, Sangro B, Belouqui O i wsp: Hyperhomocysteinemia in liver transplant recipients: Prevalence and Multivariate Analysis of predisposing factors. *Liver Transplant*, 2000; 6(5): 614–18
27. Mehra MR, Uber PA, Scott RL i wsp: Effect of immunosuppressive regimen on novel markers of atherothrombosis in heart transplantation. *Transplant Proc*, 2002; 34: 1866–68
28. Wu LL, Wu JT: Hyperhomocysteinemia is a risk factor for cancer and new potential tumor marker. *Clin Chim Acta*, 2002; 322: 21–28
29. Burack DA, Gryffith BP, Thompson ME i wsp: Hyperuricemia and gout in heart recipients. *Am J Med*, 1992; 42: 141–45
30. Lin HY, Rocher LL, Mc Quillan MA i wsp: Cyclosporine-induced hyperuricemia and gout. *N Engl J Med*, 1989; 321: 287–92
31. Noordzij TC, Leunissen KML, Ven Hoof JP: Renal handling of urate and the incidence of gout arthritis during cyclosporine and diuretic use. *Transplantation*, 1991; 52: 64–66
32. Minghelli G, Seydoux Ch, Goy JJ, Burner M: Uricosuric effect of the angiotensin II receptor antagonist losartan in heart transplant recipients. *Transplantation*, 1998; 66(2): 268–71
33. Shneider BL: Pediatric liver transplantation in metabolic disease: Clinical decision making. *Pediatr Transplantation*, 2002; 6(1): 25–29
34. Moench C: The role of monocyte chemoattractant protein-1 in orthotopic liver transplantation. *Transplant Proc*, 2003; 35(4): 1452–55
35. Neal DA, Tom BD, Luan J i wsp: Is there disparity between risk and incidence of cardiovascular disease after liver transplant? *Transplantation*, 2004; 77(1): 93–99
36. Granot E, Shemesh P, Rivkin L, Kohen R: Plasma and low-density lipoprotein lipid peroxidation in cyclosporine a-treated children after liver transplantation. *Transplant Proc*, 1998; 30: 4057–59
37. Pawłowska J, Wierzbicka A, Socha P i wsp: Lipids metabolism, carbohydrates and antioxidant stress in children after liver transplantation according to immunosuppressive regimen. *Pediatr Transplant*, 2005; 9(Suppl.6): 108
38. Wierzbicka A, Pawłowska J, Socha P i wsp: Lipid, carbohydrate metabolism, and antioxidant status in children after liver transplantation. *Transplant Proc*, 2007; 39: 1523–25
39. Siirtola A, Antikainen M, Ala-Houhala M i wsp: Serum lipids in children 3 to 5 years after kidney, liver and heart transplantation. *Transplant Int*, 2004; 17: 109–19

Medical Science Review. Hepatologia (MSR) jest publikacją poglądowo-edukacyjną wydawaną w języku polskim, prezentującą najnowszą wiedzę oraz osiągnięcia polskich naukowców i badaczy w hepatologii.

MSR ukazuje się raz w roku. Redakcja przyjmuje do druku artykuły w języku polskim (z angielskim tytułem, streszczeniem i słowami kluczowymi). Na prośbę pierwszego autora Redakcja może zlecić tłumaczenie wykwalifikowanemu tłumaczowi na koszt autora(ów).

Redakcja MSR uznaje zasady zawarte w Deklaracji Helsińskiej i w związku z tym oczekuje od autorów, aby wszelkie badania wykonane z udziałem człowieka zostały przeprowadzone zgodnie z tymi zasadami.

W przypadku eksperymentów na zwierzętach wymagamy przestrzegania Międzynarodowych zasad i wytycznych w zakresie udziału zwierząt w badaniach i edukacji, wydanych przez Komisję d/s Badań na Zwierzętach przy Nowojorskiej Akademii Nauk. Wymagana jest również zgoda komisji bioetycznej właściwej dla głównego autora na prowadzenie eksperymentów z udziałem ludzi lub zwierząt. Wskazane jest załączenie kopii wyżej wymienionego dokumentu do złożonej pracy.

Regulamin recenzowania i przyjmowania prac

Redakcja rozpatruje nadesłane prace oryginalne i kazuistyczne, które zostaną uznane przez recenzentów i redaktorów za właściwe pod względem tematyki i stanowiące oryginalny wkład do postępu w nauce i/lub praktyce klinicznej lub posiadają pożądane walory dydaktyczne (szkoleniowe). Podpis pierwszego autora pod oświadczeniem jest równoznaczny ze stwierdzeniem, że:

- złożona praca jest własna,
- praca nie była nigdzie wcześniej publikowana tak w całości, jak i w istotnej części w druku lub mediach elektronicznych,
- wyniki badań nie zostały przedtem opublikowane lub złożone do druku,
- wszyscy autorzy wyrażają zgodę na publikację przedstawionego materiału.

Otrzymany manuskrypt jest na wstępie oceniany przez zespół redakcyjny MSR pod względem poprawności przygotowania manuskryptu, dokumentacji fotograficznej, obecności zgody wszystkich autorów na publikację w Medical Science Review. Hepatologia. Manuskrypty niekompletne będą zwracane autorom do uzupełnienia bez analizy merytorycznej.

Manuskrypt, co do którego nie ma uwag wstępnych, zostaje opatrzony kolejnym numerem, o którym informuje się autora korespondencyjnego. Maszynopis każdej pracy poddaje się recenzjom. Kompetentnych recenzentów wyznacza Redaktor Naczelny. Recenzenci przygotowują opinie, które

zawierają uzasadnione zalecenia i sugestie poprawek i uzupełnień treści i formy artykułu. Recenzje są anonimowe.

Dyskwalifikacja nadesłanego maszynopisu wymaga dwóch negatywnych recenzji. Redaktor Naczelny zastrzega sobie prawo odmowy druku pracy zawierającej wyniki badań, w których nie przestrzegano zasad etycznych eksperymentu klinicznego sformułowanych w deklaracji Światowego Zgromadzenia Medycznego w Helsinkach w r. 1964, w Tokio w 1975 i w zaleceniach Światowej Organizacji Zdrowia w 1982 r.

Ostateczna decyzja o przyjęciu pracy do druku lub jej odrzuceniu należy do uprawnień Kolegium Redakcyjnego i nie podlega odwołaniu. Podjętych decyzji Kolegium Redakcyjne nie musi uzasadniać.

Proces recenzowania pracy nie powinien trwać dłużej niż 3–4 tygodnie, jednak Redakcja nie może zagwarantować określonego terminu podjęcia decyzji.

Sprzeczność interesów

Redakcja MSR oczekuje, że autorzy artykułów nie będą mieli udziału finansowego w firmie mającej w ofercie produkt przedstawiany w tekście lub w innej firmie konkurującej z tą firmą.

Autorzy artykułu naukowego powinni ujawnić w momencie złożenia pracy istnienie jakichkolwiek umów z firmą, której produkt jest przedmiotem dyskusji w pracy. Podczas procesu recenzowania informacje te pozostają do wyłącznej wiadomości Redakcji i nie będą miały wpływu na naukową ocenę pracy. Jednak w momencie zatwierdzania artykułu do druku, Redakcja uzgodni z autorem formę upowszechnienia tej informacji lub odstąpi od tego.

Regulamin pracy czasopisma wymaga, aby recenzenci, redaktorzy, zastępcy redaktorów i honorowi redaktorzy ujawnili w piśmie do redaktora naczelnego istnienie jakichkolwiek związków, które mogłyby stanowić podstawę do podejrzenia konfliktu interesów wobec autora pracy. Pismo winno zawierać ujawnienie umów z firmą komercyjną związaną z przedstawianym w artykule produktem medycznym.

Zezwolenia na druk

Materiałom wykorzystanym z innych źródeł musi towarzyszyć pisemna zgoda pierwszego autora, jak i wydawcy pierwotnej publikacji, w której materiał ten został opublikowany, w których wyrażona jest zgoda na przedruk na łamach MSR Hepatologia.

W stosunku do prac, które są w trakcie przygotowania do druku należy uzyskać zgodę na piśmie od autorów, osoby, jak również Redakcji czasopisma które udostępniło

dane niepublikowane lub informacje ustne wykorzystywane w artykule.

Poufność informacji o pacjencie

Zmiana danych biograficznych pacjenta w celu ochrony tożsamości stanowi manipulację danych i nie powinna mieć miejsca. Niemniej jednak autorzy prac naukowych mają obowiązek ochraniać dane osobowe pacjenta. Publikować należy wyłącznie informacje o znaczeniu naukowym czy klinicznym. W związku z tym, jeżeli zawarte w artykule informacje umożliwiają w jakikolwiek sposób ustalenie tożsamości badanej osoby, autorzy muszą uzyskać pisemną zgodą tej osoby lub jej opiekuna na opublikowanie jej wyników, w tym zdjęć fotograficznych, obrazów radiologicznych i innych przed złożeniem pracy do druku. Szczegóły dotyczące rasy, pochodzenia etnicznego, kulturowego i religii osoby badanej powinny być podane wyłącznie w przypadku, gdy, zdaniem autora, wywierają wpływ na przebieg choroby i/lub leczenia dyskutowanego w danym tekście.

Prawa autorskie

Po akceptacji pracy do druku złożone materiały stają się własnością Medical Science International Sp. z o.o. jako wydawcy Medical Science Review. Hepatologia i nie mogą się ukazywać w innej publikacji bez pisemnej zgody Medical Science International Sp. z o.o.

Za datę przyjęcia do druku uważa się datę nadesłania ostatecznej wersji artykułu lub jego części. Redakcja nie dostarcza odbitek autorskich.

Odpowiedzialność cywilna

Wydawca wraz z Redaktorem Naczelnym i Radą Naukową czynią wszelkie starania, aby zapewnić rzetelność informacji, opinii i stwierdzeń zawartych w artykule ukazującym się w MSR.Hepatologia. Niemniej jednak za treść artykułów i reklam odpowiada wyłącznie autor, sponsor lub firma marketingowa. Zgodnie z powyższym ani Wydawca, ani Redaktor Naczelny, ani Rada Naukowa nie ponoszą odpowiedzialności za skutki ewentualnych nierzetelności.

Redakcja stara się zapewnić w zakresie publikacji rzetelność dawkowania leków i innych danych ilościowych. Jednakowoż Redakcja zaleca czytelnikom, aby wszystkie metody i techniki polegające na podawaniu leków opisane w MSR, były stosowane wyłącznie zgodnie z instrukcjami i zaleceniami producentów leków lub sprzętu, wydanymi w kraju danego czytelnika.

Kategorie artykułów

Redakcja Medical Science Review. Hepatologia przyjmuje do druku wyłącznie **prace przeglądowe**, tj. doniesienia

przedstawiające obecny stan wiedzy na dany temat, ze szczególnym uwzględnieniem bieżących kontrowersji, podejścia teoretycznego i praktycznego do zagadnienia, nierozwiązanych problemów itp, uwzględniające właściwie dobrane piśmiennictwo.

Instrukcja dla autorów

Niniejszy regulamin jest zgodny z wytycznymi opracowanymi przez Wspólny Komitet Wydawców Czasopism Biomedycznych, opublikowanymi w opracowaniu pt.: Jednolite wymagania dotyczące prac złożonych do druku w czasopismach biomedycznych" (Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals N Eng J Med 1997; 336: 309–15; www.acponline.org/journals/resource/unifreqr.htm).

Przygotowywanie i nadsyłanie manuskryptów

Przesyłka powinna zawierać list przewodni od autorów. Manuskrypt w dwóch kopiach wydrukowany jednostronnie na papierze formatu A4 (210×297 mm), z marginesami min. 2,5 cm (z każdej strony) oraz ponumerowanymi stronami, dokumentację fotograficzną, nośnik komputerowy (lista dopuszczalnych nośników załączona jest w dodatku B), zawierający pliki tekstowe i graficzne (wg warunków opisanych w dodatku A). Tekst należy pisać czcionką 12-punktową z odstępami półtorej linii pomiędzy wierszami.

Strona tytułowa

Praca powinna posiadać stronę tytułową, na której znajdują się następujące informacje:

- pełny tytuł artykułu w języku polskim i angielskim,
- imię i nazwisko każdego autora (bez tytułów) jednostkę organizacyjną każdego autora (miejsce pracy) z dokładnym adresem,
- streszczenie wyłącznie w języku angielskim,
- 3–6 słów kluczowych w języku polskim i angielskim, wybranych zgodnie z systemem MeSH (Medical Subject Headings, Index Medicus, MEDLINE),
- imię i nazwisko, tytuł, adres, numer telefonu i/lub faksu, ewentualnie adres e-mail pierwszego autora, który odpowiada za przygotowanie pracy do druku,
- źródła wsparcia materialnego w postaci grantów i dotacji, subwencji, sprzętu, leków itp, jeżeli taki istnieje.

Streszczenia

Streszczenia nadesłane w języku angielskim nie powinny przekraczać 250 słów.

Układ tekstu

W tekście artykułu należy wyodrębnić: Wprowadzenie (lub Wstęp), Wnioski oraz Piśmiennictwo. Po obligatoryjnym

dziale Wprowadzenie (lub Wstęp) pozostała część tekstu może zostać podzielona wg uznania autorów.

Przed piśmiennictwem, w razie potrzeby, można załączyć Podziękowania. Każdy z tych działów musi być wyraźnie wydzielony tytułem zaznaczonym grubszym drukiem.

Wprowadzenie (lub Wstęp) obejmuje naukowe i/lub kliniczne uzasadnienie podjęcia tematu, główne zagadnienia i kontrowersje.

Wnioski powinny stanowić podsumowanie pracy.

Piśmiennictwo zawiera pozycje z literatury ponumerowane w kolejności ich występowania w tekście, wybrane pod względem ważności i dostępności. Pozycje występujące po raz pierwszy w tabelach lub rycinach należy ponumerować tak, aby utrzymać kolejność z pozycjami cytowanymi w tekście. Redakcja oczekuje na konsekwentne i staranne stosowanie stylu piśmiennictwa Index Medicus. W przypadku artykułu mającego nie więcej niż sześciu współautorów należy podać wszystkie nazwiska, natomiast w przypadku siedmiu lub więcej współautorów podaje się tylko pierwsze trzy nazwiska dodając „i wsp.”

Pytanie Testowe. Autor powinien nadesłać razem z kompletnym manuskrypcem 5 pytań w oparciu o artykuł; forma pytań zamknięta, z 4–5 wariantami odpowiedzi. Pytania należy przesłać wraz z zaznaczonymi odpowiedziami.

Dopuszczalne nośniki danych

Redakcja przyjmuje następujące nośniki danych: dyskietki 3,5" 1,44 MB, płyty CD-R jednokrotnego zapisu 650 i 700 MB (preferowane), płyty DVD jednokrotnego zapisu 4,7 GB (preferowane). Nośniki nie podlegają zwrotowi (chyba że zaznaczono inaczej). W przypadku formatu nośnika innego niż MS Windows/IBM PC, prosimy o zaznaczenie tego na nośniku (format MacOS nie jest problemem).

Prosimy jednoznacznie opisywać nazwiskiem i fragmentem tytułu manuskryptu dostarczone nośniki. Można dokonywać kompresji plików programami RAR, WINZIP.

Ze względu na dużą awaryjność nośników, prosimy je odpowiednio zabezpieczyć podczas wysyłki.

Dopuszczalne formaty cytowania

We wszystkich przypadkach prosimy zwrócić uwagę na stosowane znaki interpunkcyjne, oddzielające poszczególne pola bibliograficzne cytowanej pozycji. Źródła internetowe z racji łatwości zmian czy korekt powinny zawierać datę pobrania bądź przejrzenia pliku. Podając listę autorów należy użyć zwrotu „et al.”, jeśli ilość autorów cytowanej pozycji jest wyższa niż 3. Skrót tytułów cytowanych czasopism powinny być zgodne z MEDLINE

Typowy artykuł w czasopiśmie

Lahila R, Kluger J, Drayer DE, Koffler D, Reidenberg MM: Antibodies to nuclear antigens in patients treated with procainamide or acetylprocainamide. N Engl J Med, 1979; 301: 1382–85

Ten sam artykuł z uwagi na pomyłki redakcyjne z opublikowaną później erratą

Koffler D, Reidenberg MM: Antibodies to nuclear antigens in patients treated with procainamide or acetylprocainamide [errata opublikowana w: N Engl J Med, 1979; 302: 322–25]. N Engl J Med, 1979; 301: 1382–85

Artykuł opublikowany wyłącznie elektronicznie

Drayer DE, Koffler D: Factors in the emergence of infectious diseases. Emerg Infect Dis [periodyk online] 1995 Jan–Mar [cytowany 1996.06.05]; 1(1): [24 ekrany]. Dostępny pod adresem URL: <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/eid.htm>

Artykuł bez autora

Cancer in South Africa [tekst redakcyjny]. S Afr Med J, 1994; 84: 15

Monografia z określonym(i) autorem(ami)

Ringsven MK, Bond D: Gerontology and leadership skills for nurses. Ilwyd. Alhany (NY), Delmar Publishers, 1996

Książka redagowana

Norman U, Redfern SJ (red.): Mental health care for elderly people. Nowy Jork, Churchill Livingstone, 1996

Książka wydana przez organizację

Institute of Medicine (US). Looking at the future of the medical program. Waszyngton, The Institute, 1992

Rozdział w książce

Phillips SJ, Whisnant JR: Hypertension and stroke. W: Laragh JH, Brenner BM (eds.) Hypertension: pathophysiology, diagnosis, and management. II wyd. Nowy Jork, Raven Press, 1995; 465–78

Materiały kongresowe

Kimura J, Shibasaki H (red.): Recent advances in clinical neurophysiology. Materiały z X Międzynarodowego Kongresu EMG i Neurofizjologii Klinicznej; 1995.10.15–19; Kyoto, Japonia. Amsterdam, Elsevier, 1996

Bengtsson S, Solheim BG: Enforcement of data protection, privacy and security in medical informatics. W: Lun KG, Oegoulet P, Piemme TE, Rienhoff O (red.) MEDINFO 92. Materiały z VII Światowego Kongresu nt. Informatyki Medycznej; 1992.09.6–10; Genewa, Switzerland

Nie należy cytować, na ogół, abstraktów i przeglądów, jak również „niepublikowanych danych” oraz „informacji ustnej”. Jeżeli jednak są one niezbędne, można je włączyć do tekstu w odpowiednim miejscu.

Tabele i ilustracje. Tabele mają swoje numeracje w kolejności występowania pierwszego odwołania w tekście oraz krótki tytuł. W nagłówkach kolumn stosuje się krótkie hasła lub skróty. Wskazany jest najprostszy możliwy układ tabeli, bez zbędnych poziomych lub pionowych linii podziału. Wyjaśnienia, w tym tłumaczenia niestandardowych skrótów, należy umieścić w przypisach pod tabelą, nie zaś w samej tabeli. Dolne przypisy pod tabelą należy ponumerować odrębnie, zaczynając od 1 dla każdej tabeli. Każdą tabelę należy wydrukować (nie fotografować) na odrębnej stronicie. Należy się upewnić, czy każda tabela jest wymieniona w tekście.

Należy przedstawić pomiary statystyczne odmienności, jak np. odchylenie standardowe, standardowy błąd pomiaru średniej. Jeżeli dane pochodzą z innego źródła opublikowanego lub niepublikowanego, należy uzyskać zgodę i podać źródło w pełnym cytacie.

Ryciny i zdjęcia powinny być wykonane profesjonalnie; nie-dopuszczalne są napisy ręczne lub dopisane na maszynie. Redakcja przyjmuje ostre, czarno-białe zdjęcia wykonane na błyszczącym papierze, najlepiej w formacie 127×173 mm (5×7 cal), nie większe niż 203×254 mm (8×10 cal); nie przyjmujemy oryginalnych rysunków, zdjęć rentgenowskich i innych materiałów. Litery, cyfry i symbole muszą być wszędzie jasne i równomierne, i mieć taki rozmiar, aby po zmniejszeniu w celu drukowania pozostały czytelne. Tytuły i wyjaśnienia należy pisać w podpisach, nie zaś na samych rycinach. Każde zdjęcie musi mieć etykietą na odwrocie, podającą numer ryciny, nazwisko autora i oznaczenie góry i dołu ryciny. Nie wolno pisać na odwrocie zdjęć, rysować lub zginać pod spinaczami, lub montować na tekturze.

Ryciny powinny być ponumerowane w kolejności występowania pierwszego odwołania w tekście. Należy się upewnić, czy każda rycina jest wymieniona w tekście. Jeżeli dana rycina została już opublikowana, należy podać źródło i uzyskać pisemną zgodę osoby mającej prawa autorskie na przedruk materiału, za wyjątkiem dokumentów stanowiących dobro publiczne. Zdjęcia mogą być kolorowe lub czarno-białe, wykonane na błyszczącym papierze, z podpisem na odwrocie podającym tytuł pracy, autorów, numer fotografii i legendę. Redakcja drukuje standardowo zdjęcia w postaci czar-

no-białej. Istnieje możliwość wydrukowania zdjęcia w pełnych kolorach, za opłatą.

Zdjęcia mikroskopowe powinny mieć wewnętrzne oznaczenie skali. Używane w zdjęciu mikroskopowym symbole, strzałki i litery powinny być w kolorze kontrastującym z tłem. W przypadku fotografii badanych osób albo należy ukryć tożsamość, albo uzyskać pisemną zgodę na opublikowanie zdjęcia.

Legendy pod rycinami należy wydrukować na odrębnej kartce, używając podwójnego odstępu, z cyframi arabskimi odpowiadającymi cyfrom widocznym na rycinie. W przypadku symboli, strzałek, cyfr lub liter używanych w celu wyodrębnienia określonych części ryciny, każdy element musi być identyfikowany i wyjaśniony wyraźnie w legendzie. Należy wyjaśnić wewnętrzną skalę i określić metodę barwienia stosowaną w fotografiach.

Jednostki miary. Pomiary długości, wysokości, wagi i objętości powinny być podane w jednostkach metrycznych (np. metr, kilogram, litr i inne) lub w systemie dziesiętnym (np. decymetry). Temperatura musi być podana w stopniach Celsjusza. Ciśnienie tętnicze powinno być podane w milimetrach słupa rtęci. Wszystkie kliniczne pomiary hematologiczne i chemiczne powinny być podane w systemie metrycznym według Międzynarodowego Systemu Miar (SI). Alternatywne jednostki, nie pochodzące z tego systemu, powinny być dodane w nawiasach.

Skróty i symbole. Redakcja wymaga stosowania jedynie standardowych skrótów. Nie należy używać skrótów w tytułach i w streszczeniach. Pełna wersja terminu, dla którego używa się danego skrótu, musi być podana przed pierwszym wystąpieniem skrótu w tekście, za wyjątkiem standardowych jednostek miar.

Wysłanie artykułu do czasopisma

Autorzy są proszeni o wysłanie dwóch (2) kopii manuskryptu z odpowiednią liczbą tabel, zdjęć i fotografii oraz dyskietkę. Wymaganą liczbę kopii należy przesłać w grubej, papierowej kopercie z tekturowym wkładem, zabezpieczającą dyskietkę/ płytę CD, zdjęcia itp. przed zniszczeniem. Fotografie należy włożyć do odrębnej koperty.

Manuskryptowi powinien towarzyszyć list przewodni podpisany, w miarę możliwości, przez wszystkich autorów. List ten powinien zawierać:

- 1) oświadczenie, dotyczące statusu danej pracy, faktu, że nie była dotąd opublikowana, albo została opublikowana częściowo w innej redakcji, według wytycznych zawartych powyżej,
- 2) zaświadczenie, ujawniające istnienie ewentualnych związków finansowych (w tym informacje dotyczące np. grantu, z podaniem źródła i numeru grantu) lub powiązań mogących budzić zastrzeżenia (zob. powyżej: konflikt interesów),

- 3) oświadczenie, że wszyscy autorzy czytali i potwierdzili, że określone powyżej wymagania dotyczące współautorstwa zgodnie z powyższym zostały spełnione oraz, że każdy autor uważa, że złożony tekst stanowi rzetelną pracę wszystkich wymienionych autorów,
- 4) dane personalne, adres i telefony głównego autora, który odpowiada za porozumiewanie się z pozostałymi w sprawach dotyczących ewentualnych korekt i końcowego za-twierdzenia „szczotki” autorskiej (jeżeli autornie poda odrębnego adresu do korespondencji dla czytelników, adres ten zostanie wydrukowany na końcu opublikowanej pracy jako „adres do korespondencji”) do druku.

Należy załączyć również zgody na przedruki opublikowanych materiałów, na wykorzystanie reprodukcji publikowanych materiałów, na użycie zdjęć lub podawanie danych o osobach, których tożsamość można ustalić oraz zgody na imienne wyróżnienie osób za ich wkład.

Wszystkie materiały ukazują się czarno-białym drukiem, jednak na życzenie autorów istnieje możliwość zamówienia kolorowych zdjęć.

Redakcja Medical Science Review. Hepatologia uważa w/w warunki za spełnione, jeżeli złożony zostanie podpis pierwszego autora.

Komplet materiałów należy przelać do redakcji na adres:

Index Copernicus International S.A.

Redaktor Naczelny, Medical Science Review. Hepatologia

Ustrzycka 11, 02-141 Warszawa

tel./fax 022 868 12 65, 022 868 12 73

lub e-mailem: m.peksyk@medscimonit.com

Bibliografia:

1. Baraclude® (entecavir). Summary of Product Characteristics. January 2008.
2. Han S, Chang TT, Chao YC, i wsp. Four-year Entecavir treatment in nucleoside-naïve HBeAg(+) patients: Results from studies ETV-022 and -901. Poster presented at the 58th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD); November 2-6, 2007; Boston, MA, USA (Hepatology. 2007; 46: 654A Abstract 938).
3. Colonna RJ, Rose RE, Pokornowski K, i wsp. Four year assessment of ETV resistance in nucleoside-naïve and lamivudine-refractory patients. Oral presentation at the 42nd Meeting of the European Association for the Study of Liver Diseases (EASL); April 11-15, 2007; Barcelona, Spain (J Hepatol. 2007; 46 (suppl 1): S294).

SKRÓCONA INFORMACJA O LEKU BARACLUDE (ENTEKAWIR) Tabletki 0,5 i 1 mg entekawiru.
Roztwór doustny: 0,05 mg/ml entekawiru

Wskazania: Baraclude wskazany jest do leczenia przewlekłego wirusowego zapalenia wątroby typu B (HBV) u osób dorosłych z wyrównaną czynnością wątroby, stwierdzoną czynną replikacją wirusa, trwałą podwyższoną aktywnością aminotransferazy alaninowej (AlAT) i histologicznie potwierdzonym czynnym stanem zapalnym i (lub) zwłóknieniem wątroby. **Dawkowanie i sposób podawania:** Leczenie powinno być rozpoczęte przez lekarza doświadczonego w leczeniu przewlekłego wirusowego zapalenia wątroby typu B. Baraclude należy przyjmować doustnie, raz na dobę. Pacjenci nie leżący przednio analogami nukleozydowymi: 0,5 mg/dobę, niezależnie od posiłków. Pacjenci z opornością na lamiwudynę 1 mg/dobę, na czczo. **Przeciwwskazania:** Nadwrażliwość na substancję czynną lub na którąkolwiek substancję pomocniczą. **Ostrzeżenia i środki ostrożności:** U pacjentów z zaburzeniem czynności nerek zaleca się zmianę dawkowania przy jednoczesnym ścisłym kontrolowaniu odpowiedzi wirusologicznej (Dodatkowe informacje, patrz Charakterystyka produktu leczniczego). W przebiegu przewlekłego WZW typu B stwierdza się spontaniczne zaostreżenia charakteryzujące się przemijającym zwiększeniem aktywności AlAT w surowicy. U pacjentów z wyrównaną czynnością wątroby wraz z takim zwiększeniem aktywności AlAT w surowicy nie zwiększa się stężenie bilirubiny w surowicy ani nie nasila dekompensacja czynności wątroby. Ostre nasilenie WZW typu B opisywano także u pacjentów, którzy przerwali leczenie wirusowego zapalenia wątroby typu B. Zaostreżenia po zakończeniu leczenia wiążą się zwykle ze zwiększeniem miana DNA HBV i w większości przypadków mają charakter samo ograniczający się. Jednak opisywano ciężkie zaostreżenia, także kończące się zgonem. Wśród pacjentów, którzy nie byli leżący wcześniej analogami nukleozydowymi, średni czas do wystąpienia zaostreżenia po zakończeniu leczenia wynosił 23 - 24 tygodni. W większości przypadków zaostreżenia dotyczyły pacjentów z ujemnym wynikiem oznaczenia HBeAg. U pacjentów z niewyrównaną mądrością wątroby częściej obserwuje się ciężkie zdarzenia niepożądane związane z czynnością wątroby niż u pacjentów z wyrównaną czynnością wątroby. Podczas stosowania analogów nukleozydowych zaobserwowano przypadki, czasami zakończone zgonem, występowania kwasicy mleczanowej zazwyczaj w połączeniu z ciężką hepatomegalią i stłuszczeniem wątroby. Takiego ryzyka nie można wykluczyć w przypadku entekawiru. Należy zaprzestać leczenia, gdy wystąpi gwałtowny wzrost aktywności aminotransferaz, postępujące powiększenie wątroby lub kwasica metaboliczna (mleczanowa) o nieznanej etiologii. W ciężkich przypadkach, czasami kończących się śmiercią, występowało zapalenie trzustki, niewydolność wątroby lub stłuszczenie wątroby, niewydolność nerek oraz zwiększone stężenie mleczanów w surowicy. Należy zachować ostrożność przepisując analogi nukleozydowe pacjentom ze znanymi czynnikami ryzyka schorzeń wątroby. Mutacje polimerazy HBV, które kodują substytucje warunkujące oporność na lamiwudynę, mogą prowadzić do konsekwencji do pojawienia się wtórnych substytucji, włącznie ze związanymi z opornością na entekawir (ETV). W populacji opornej na lamiwudynę należy ściśle monitorować odpowiedź wirusologiczną, a także należy wykonywać odpowiednie testy oporności. U pacjentów po przeszczepie wątroby otrzymujących cyklosporynę lub takrolimus, należy uważnie monitorować czynność nerek przed leczeniem i w czasie leczenia entekawirem. Brak danych dotyczących skuteczności entekawiru u pacjentów z równoczesnym zakażeniem wirusem wątroby typu C lub D, a także u pacjentów bez HBeAg, z równoczesnym zakażeniem wirusem HIV. Pacjenci zakażeni jednocześnie HIV i HBV, nie otrzymujący jednocześnie HAART: nie badano entekawiru u pacjentów zakażonych HIV i HBV, którzy nie otrzymywali skutecznego leczenia przeciw HIV.

U pacjentów otrzymujących entekawir w monoterapii bez HAART, zakażonych HIV i HBV, stwierdzono zmniejszenie ilości HIV RNA. W pewnych przypadkach doszło do selekcji szczepu M184V HIV. Ze względu na możliwy rozwój oporności HIV, nie należy stosować entekawiru w takim przypadku. U pacjentów z rzadkimi wrodzonymi chorobami – nietolerancja

galaktozy, niedoborem laktazy typu Lapp lub zaburzeniem wchłaniania glukozy-galaktozy, nie należy stosować tabletek. Dla tych chorych dostępny jest roztwór doustny Baraclude nie zawierający laktazy. Nie przeprowadzono badań nad wpływem produktu na zdolność prowadzenia pojazdów mechanicznych i obsługiwanie urządzeń mechanicznych w ruchu. Zawroty głowy, zmęczenie oraz senność, to często występujące objawy niepożądane, które mogą upośledzać zdolność prowadzenia pojazdów oraz obsługiwanie urządzeń mechanicznych w ruchu. **Interakcje:** Jednoczesne stosowanie leków ograniczających czynność nerek lub konkurujących w aktywnym wydalaniu kanalikowym może prowadzić do zwiększenia ich stężenia w osoczu. Cięża i karmienie piersią: Baraclude nie należy stosować w okresie ciąży, jeśli nie jest to bezwzględnie konieczne. Zaleca się, aby kobiety w wieku rozrodczym stosowały skuteczne metody zapobiegania ciąży podczas stosowania Baraclude. Nie zaleca się karmienia piersią w okresie stosowania leku.

DZIAŁANIA NIEPOŻĄDANE. Najczęstsze zdarzenia niepożądane opisywane w czterech badaniach klinicznych 1720 pacjentów z przewlekłym wirusowym zapaleniem wątroby typu B obejmowały: bóle głowy, uczucie przemęczenia, zawroty głowy i nudności. Opisywane zdarzenia niepożądane o nasileniu umiarkowanym lub większym, co najmniej możliwe związane ze stosowaniem entekawiru: bezsenność lub nadmierna senność, wymioty, biegunki, niestrawność, nieprawidłowe wyniki badań laboratoryjnych, np. zwiększenie aktywności ALT, bilirubiny całkowitej i amylazy.

Dodatkowe informacje, patrz Charakterystyka produktu leczniczego. PRZEDDAWKOWANIE. Nie zgłoszono żadnego przypadku przedawkowania. W razie stwierdzenia objawów przedawkowania należy obserwować objawy toksyczne i w razie potrzeby, zastosować właściwe leczenie wspomagające.

KATEGORIA LEKU: lek wydawany na zastrzeżoną receptę lekarską

NUMERY ZEZWOLEN wydanych przez Komisję Europejską: BARACLUDE 0,5 mg tabletki powlekane (EU/1/06/343/003), blistry po 30 tabletek. BARACLUDE 1,0 mg tabletki powlekane (EU/1/06/343/004), blistry po 30 tabletek. BARACLUDE 0,05 mg/ml roztwór doustny (EU/1/06/343/005) butelka 210 ml i łyżka miarowa.

PODMIOT ODPOWIEDZIALNY: BRISTOL-MYERS SQUIBB PHARMA EEIG.

DATA PRZYGOTOWANIA: marzec 2008

Przed zastosowaniem leku należy zapoznać się z Charakterystyką Produktu Leczniczego.

Bibliografia: 1. Lok ASF, McMahon B. AASLD Practice Guidelines. Chronic hepatitis B. Hepatology 2007; 45: 507 – 539. 2. ACT-HBV Asia-Pacific Steering Committee Members. Chronic hepatitis B: treatment alert. Liver International 2006; 26: 47-58. 3. Hooe UH, Yang H, Su J, i wsp. Predicting liver cirrhosis risk based on the level of circulating hepatitis B viral load. Gastroenterology 2006; 130: 678–686. 4. Baraclude (entecavir). Charakterystyka produktu leczniczego. 20 listopada 2007. 5. Lai C-L, Shouval D, Lok AS, i wsp. Entecavir versus lamivudine for patients with HBeAg-negative chronic hepatitis B. N Engl J Med 2006; 354: 1011-1020. 6. Shouval D, Akarca US, Hatzis G, i wsp. Continued virologic and biochemical improvement through 96 weeks of entecavir treatment in HBeAg(+) chronic hepatitis B patients (study ETV-027). J Hepatol 2006; 44: (suppl 2): S21. Abstract 45. 7. Colonna R, Rose R, Baldick C, i wsp. Entecavir resistance is rare in nucleoside naïve patients with hepatitis B. Hepatology 2006; 44: 1656-1665. 8. Chang T-T, Gish RG, de Man R, i wsp. A comparison of entecavir and lamivudine for HBeAg-positive chronic hepatitis B. N Engl J Med 2006; 354: 1001-1010. 9. Chang T-T, Chao YC, Sollano J, i wsp. Entecavir (ETV) treatment through 96 weeks results in substantial virologic and biochemical improvement and HBeAg seroconversion in HBeAg(+) chronic hepatitis B patients (study ETV-022). J Gastroenterol Hepatol 2006; 21: (suppl 2): A89. Abstract 52. 10. Chang TT, Chao YC, Kaymakoglu S i wsp. Entecavir maintained virologic suppression through 3 years of treatment in antiviral-naïve HBeAg(+) patients (ETV 022/901). 57th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD); October 27-31, 2006; Boston, MA. Oral presentation (Hepatology 2006; 44 (4, suppl 1): 229A. Abstract 109).



Bristol-Myers Squibb

Baraclude® jest zastrzeżonym znakiem handlowym firmy Bristol-Myers Squibb Company i jej oddziałów. ©2008 Bristol-Myers Squibb. Wszelkie prawa zastrzeżone.

Data przygotowania: Kwiecień 2008

08m158

Zaburzenia ukrwienia

Propozycje naczyniowo-niedokrwienieniowej etiologii NDŻ oparte są głównie na badaniach eksperymentalnych [58]. Przewody żółciowe zaopatrywane są w krew wyłącznie z tętnicy wątrobowej. Zaburzenia ukrwienia mogą prowadzić do przewężeń podobnie jak u pacjentów po przeszczepie wątroby. Niektórzy autorzy przedstawiają również anomalie rozgałęzień tętnicy wątrobowej w NDŻ [59] co nie wiąże się jednak z pogorszeniem rokowania (obserwacje własne).

Uszkodzenie toksyczne

Ekspozycja matek w ciąży na toksyny zewnętrzne była rozważana pod kątem patogenyzy NDŻ, ale do tej pory w piśmiennictwie nie ma żadnych dowodów popierających tę hipotezę. Jedyny interesujący raport dotyczy toksycznego uszkodzenia wątroby u jagniąt i cieląt, klinicznie przypominający NDŻ. Harper i wsp. [60] opisał dwa szczyty zachorowań w ciągu 4 tygodni od urodzenia u 300 jagniąt oraz 9 cieląt w Nowej Walii i Australii. Drogi żółciowe i pęcherzyk żółciowy były całkowicie zwłókniałe, a w wątrobie obecna była proliferacja przewodów żółciowych, zapalenie i włóknienie, co wiązano z toksycznym działaniem fitotoksyn i mitotoksyn na pastwiskach terenach zalewowych w latach o szczególnie niskim poziomie wody.

Mechanizmy obumierania komórek

Śmierć komórek może się odbywać w mechanizmie nekrozy lub apoptozy. Pierwszy proces związany jest z natychmiastowym obumarciem komórki w wyniku działającego czynnika uszkodzającego. Apoptoza to zaprogramowany mechanizm stopniowego obumarcia komórki, który po raz pierwszy zaproponowali w 1972 roku John Kerr, Andrew Wyllie i Alastair Currie [61]. Próbę wyjaśnienia udziału mechanizmów apoptozy w NDŻ rozpoczął Funaki i wsp. [62] sugerując jej rolę w przebudowie embrionalnej tworzących się dróg żółciowych. Ostatnio coraz częściej przedstawiany jest model uszkodze-

nia cholestazy wątroby z udziałem drogi sygnałowej zapoczątkowanej generacją wolnych rodników tlenowych [63]. Toksyczne działanie hydrofobowych kwasów żółciowych zapoczątkowuje kaskadę reakcji prowadzących do aktywacji powierzchniowych receptorów śmierci komórkowej (CD95/Fas oraz TRAIL) oraz uwolnienie mitochondrialnych czynników promujących apoptozę [64].

Ostatnio Mao-Meng i wsp. wykazali, iż początkowe stadia niedrożności dróg żółciowych mogą być związane z nasiloną reakcją zapalną, uszkodzeniem DNA oraz mitochondriów, co objawiało się podwyższeniem immunoreaktywnej 8-hydroxydeoxyguanozyny oraz spadkiem liczby mitochondriów [65].

Podsumowanie

Niewyjaśniona patogenyza NDŻ związana z ograniczeniami badań molekularnych oraz z wieloletnim brakiem odpowiedniego modelu zwierzęcego choroby to główne przyczyny pytań jakie nagromadziły przez lata zmagania z tą enigmatyczną chorobą. Np. jak wiele dzieci z rozpoznaniem niedrożności dróg żółciowych ma inną chorobę wątroby, naśladującą swoim obrazem klinicznym oraz charakterem uszkodzenia NDŻ? Co odpowiada za postęp choroby w grupie pacjentów, u których uzyskano prawidłowy pooperacyjny odpływ żółci i co decyduje o optymalnym momencie zabiegu operacyjnego?

W ciągu ostatniej dekady ogromny postęp i nacisk, szczególnie ze strony ośrodków amerykańskich na współpracę w ramach wielośrodkowych badań nad NDŻ pozwala mieć nadzieję, iż w najbliższych latach odkryte zostaną kolejne elementy niezbędne do ostatecznego wyjaśnienia patogenyzy NDŻ. W chwili obecnej badania skupiają się głównie na biologicznych mechanizmach uszkodzenia wątroby, szczególnie na nieprawidłowej odpowiedzi zapalnej oraz uwarunkowaniu genetycznym. Próby ustalenia zewnętrznych czynników sprawczych jak na razie zeszły na drugi plan.

Piśmiennictwo:

1. Sokol RJ: Swiss Outcomes in Biliary Atresia: Are There Lessons to Be Learned? *J Pediatr Gastr Nutr*, 46: 238-240
2. Landing BH: Considerations of the pathogenesis of neonatal hepatitis, biliary atresia and choledochal cyst - the concept of infantile obstructive cholangiopathy. *Prog Pediatr Surg*, 1974; 6: 113-39
3. Pawłowska J: Dziecko z niedrożnością dróg żółciowych u progu XXI wieku. *Ped Pol*, 2000; 75(2): 99-102
4. Balistreri WF, Grand R, Hoofnagle JH i wsp: Biliary Atresia: Current Concepts and Research Directions. Summary of a symposium. *Hepatology*, 1996; 23: 1682-92
5. Bezerra JA: Potential Etiologies of biliary atresia. *Pediatr Transplant*, 2005; 9: 646-51
6. Schweitzer P, Kerrmans J: Discordant findings in extrahepatic bile duct atresia in 6 sets of twins. *Z Kinderchir*, 1988; 43: 72-75
7. Hyams JS, Glaser JH, Leichtner AM i wsp: Discordance for biliary atresia in two sets of monozygotic twins. *J Pediatr*, 1985; 107: 420-22
8. Mack C, Sokol R: Unraveling the pathogenesis and etiology of biliary atresia. *Pediatr Res*, 2005; 57(5): 87R-94R
9. Rolleston HD, Hayne LB: A case of congenital hepatic cirrhosis with obliterative cholangitis (congenital obliteration of the bile ducts). *BMJ*, 1901; 1: 758-60
10. Tan CE, Driver M, Howard ER i wsp: Extrahepatic biliary atresia: a first trimester event? Clues from light microscopy and immunohistochemistry. *J Pediatr Surg*, 1994; 29: 808-14
11. Tan CE, Davenport M, Driver M, Howard ER: Does the morphology of the extrahepatic biliary remnants in biliary atresia influence survival? A review of 205 cases. *J Pediatr Surg*, 1994; 29(11): 1459-64
12. Tan CE, Moscoso GJ: The developing human biliary system at porta hepatis level between 11 and 25 weeks of gestation: A way to understanding biliary atresia. Part 2. *Pathol Int*, 1994; 44: 600-10
13. Vijayan V, Tan CE: Developing human biliary system in three dimensions. *Anat Rec*, 1997; 249: 389-98
14. Desmet VJ: Congenital diseases of intrahepatic bile ducts. Variations on the theme "ductal plate malformation". *Hepatology*, 1992; 16: 1069-83
15. Lemaigre FP: Development of biliary tract. *Mech Dev*, 2003; 120: 81-87
16. Schmidt C, Bladt F, Goedecke S i wsp: Scatter factor/hepatocyte growth factor is essential for liver development. *Nature*, 1995; 373: 699-702
17. Stamatoglou SC, Enrich C, Manson MM, Hughes RC: Temporal changes in the expression and distribution of adhesion molecules during liver development and regeneration. *J Cell Biol*, 1992; 116: 1507-15
18. Knisely AS: Biliary tract malformations. *Am J Med Genet*, 2003; 122: 343-50
19. Clotman F, Lannoz VJ, Reber M i wsp: The onecut transcription factor HNF6 is required for normal development of the biliary tract. *Development*, 2002; 129: 1819-28
20. Coffinier C, Gresh L, Fiette L i wsp: Bile system morphogenesis defects and liver dysfunction upon targeted deletion of HNF1beta. *Development*, 2002; 129: 1829-39

21. Kohsaka T, Yuan ZR, Guo SX i wsp: The significance of human jagged 1 mutations detected in severe cases of extrahepatic biliary atresia. *Hepatology*, 2002; 36: 904-12
22. Mazziotti MV, Willis LK, Heuckeroth RO i wsp: Anomalous development of the hepatobiliary system in the INV Mouse. *Hepatology*, 1999; 30: 372-78
23. Yokoyama T, Copeland NG, Jenkins NA i wsp: Reversal of left-right asymmetry: A situs inversus mutation. *Science*, 1993; 260: 679-82
24. Shon P, Tsuchiya K, Lenoir D i wsp: Identification, genomic organization, chromosomal mapping and mutation analysis of the human INV gene, the ortholog of a murine gene implicated in left-right axis development and biliary atresia. *Hum Genet*, 2002; 110: 157-65
25. Bamford RN, Roessler E, Burdine RD i wsp: Loss-of-function mutations in the EGF-CFC gene CFC1 are associated with human left-right laterality defects. *Nat Genet*, 2000; 26: 365-69
26. Ware SM, Peng J, Zhu L i wsp: Identification and functional analysis of ZIC3 mutations in heterotaxy and related congenital heart defects. *Am J Hum Genet*, 2004; 74: 93-105
27. Broome U, Nemeth A, Hultcrantz R, Scheynius A: Different expression of HLA-DR and ICAM-1 in livers from patients with biliary atresia and Byler's disease. *J Hepatol*, 1997; 26: 857-62
28. Kobayashi H, Puri P, O'Brian DS i wsp: Hepatic overexpression of MHC class II antigens and macrophage-associated antigens (CD68) in patients with biliary atresia of poor prognosis. *J Pediatr Surg*, 1997; 32: 590-93
29. Nakada M, Nakada K, Kawaguchi F i wsp: Immunologic reaction and genetic factors in biliary atresia. *Tohoku J Exp Med*, 1997; 81: 41-47
30. Schreiber RA, Kleinman RE: Genetics, immunology and biliary atresia: an opening or a diversion? *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 1993; 16: 111-13
31. Mack CL, Tucker RM, Sokol RJ i wsp: Biliary atresia is associated with CD4+ Th1 cell mediated portal tract inflammation. *Pediatr Res*, 2004; 56: 79-87
32. Davenport M, Gonde C, Redkar R i wsp: Immunohistochemistry of the liver and biliary tree in extrahepatic biliary atresia. *J Pediatr Surg*, 2001; 36: 1017-25
33. Dillon P, Belchis D, Tracy T i wsp: Increased expression of intracellular adhesion molecules in biliary atresia. *Am J Pathol*, 1994; 145: 263-67
34. Tracy TF Jr, Dillon P, Fox ES i wsp: The inflammatory response in pediatric biliary disease: macrophage phenotype and distribution. *J Pediatr Surg*, 1996; 31: 121-25
35. Urushihara N, Iwaguchi H, Yagi T i wsp: Elevation of serum interleukin-18 levels and activation of Kupfer cells in biliary atresia. *J Pediatr Surg*, 2000; 35: 446-49
36. Bezerra JA, Tiao G, Ryckman FC i wsp: Genetic induction of proinflammatory immunity in children with biliary atresia. *Lancet*, 2002; 360: 1563-59
37. Shivakumar P, Campbell KM, Sabla GE i wsp: Obstruction of extrahepatic bile ducts by lymphocytes is regulated by INF-gamma in experimental biliary atresia. *J Clin Invest*, 2004; 114: 322-29
38. Rose N, Bona C: Defining criteria for autoimmune diseases (Witebsky's postulates revised). *Immunol Today*, 1993; 14(9): 426-28
39. Vasiliasukas E, Targan S, Cobb L i wsp: Biliary atresia - an autoimmune disorder? *Hepatology*, 1995; 22: 87
40. Kerkar N, Hadzic N, Davies ET i wsp: *De novo* autoimmune hepatitis after liver transplantation. *Lancet*, 1998; 351: 409-13
41. Hernandez HM, Kovarik P, Whittington PF, Alonso EM: Autoimmune hepatitis as a late complication of liver transplantation. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 2001; 32: 131-36
42. Rosenthal P, Woolf GM, Tyan DB: A striking association between HLA-C and biliary atresia. *Gastroenterology*, 1995; 108: A1158
43. Silveira TR, Salzano FM, Donaldson PT, Mieli-Vergani G i wsp: Association between HLA and extrahepatic biliary atresia. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 1993; 16: 114-17
44. Tanaka M, Ishikawa T, Samaguchi M: The pathogenesis of biliary atresia in Japan: immunohistochemical study of HBV-associated antigen. *Acta Pathol Jpn*, 1993; 43: 360-66
45. Tarr PI, Haas JE, Christie DL: Biliary atresia, cytomegalovirus and age at referral. *Pediatrics*, 1996; 97(6 Pt 1): 828-31
46. Fishler B, Ernst A, Forsgren M i wsp: The viral association of neonatal cholestasis in Sweden: a possible link between cytomegalovirus infection and extrahepatic biliary atresia. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 1998; 27: 57-64
47. Jevon JP, Dimmick JE: Biliary atresia and cytomegalovirus infection: a DNA study. *Pediatric Develop Pathology*, 1999; 2: 11-14
48. Fajer RB, Bruu A-L, Nordbo SA: Extrahepatic biliary atresia and viral involvement. *Pediatr Transplant*, 2005; 9: 68-73
49. Bangaru B, Morecki R, Glaser JH i wsp: Comparative studies of biliary atresia in the human newborn and reovirus-induced cholangitis in weanling mice. *Lab Invest*, 1980; 43: 456-62
50. Riepenhoff-Talty M, Schaeckel K, Clark HF i wsp: Group A rotaviruses produce extrahepatic biliary obstruction in orally inoculated newborn mice. *Pediatr Res*, 1993; 33 (4 Pt 1): 394-99
51. Morecki R, Glaser JH, Cho S i wsp: Biliary atresia and reovirus type 3 infection. *N Engl J Med*, 1982; 307: 481-84
52. Brown WR, Sokol RJ, Levin MJ i wsp: Lack of correlation between infection with reovirus 3 and extrahepatic biliary atresia and neonatal hepatitis. *J Pediatr*, 1988; 113: 670-76
53. Riepenhoff-Talty M, Gouvea V, Evans MJ i wsp: Detection of group C rotavirus in infants with extrahepatic biliary atresia. *J Infect Dis*, 1996; 174: 8-15
54. Drut R, Drut RM, Gomez MA i wsp: Presence of human papillomavirus in extrahepatic biliary atresia. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 1998; 27: 530-35
55. Drut R, Gomez MA, Drut RM i wsp: Human papillomavirus, neonatal giant cell hepatitis and biliary duct atresia. *Acta Gastroenterol Latinoam*, 1998; 28: 27-31
56. Domiati-Saad R, Dawson DB, Margraf LR i wsp: Cytomegalovirus and human herpesvirus 6, but not human papillomavirus, are present in neonatal giant cell hepatitis and extrahepatic biliary atresia. *Pediatr Dev Pathol*, 2000; 3: 367-73
57. Mason AL, Xu L, Guo L i wsp: Detection of retroviral antibodies in primary biliary cirrhosis and other idiopathic biliary disorders. *Lancet*, 1998; 351: 1620-24
58. Klippel CH: A new theory of biliary atresia. *J Pediatr Surg*, 1972; 7: 651-54
59. Ho CW, Shioda K, Shirasaki K i wsp: The pathogenesis of biliary atresia: a morphological study of the hepatobiliary system and the hepatic artery. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 1993; 16: 53-60
60. Harper P, Plant JW, Linger DB: Congenital biliary atresia and jaundice in lambs and calves. *Aust Vet J*, 1990; 67: 18-22
61. Margaret CC, Winterford CM, Walker NI: Apoptosis. *Am J Surg Pathol*, 1997; 21: 88-101
62. Funaki N, Sasano H, Shizawa S i wsp: Apoptosis and cell proliferation in biliary atresia. *J Pathol*, 1998; 186: 429-33
63. Sokol RJ, M Devereaux, R Dahl, E Gumprecht: "Let the bile be" Understanding Hepatic Injury in Cholestasis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 2006; 43: S4-9
64. Gucciardi ME, Gores GJ: Apoptosis: a mechanism of acute and chronic liver injury. *Gut*, 2005; 54: 1024-33
65. Mao-Meng T, Tsu-Ksung L, Fang-Ying K i wsp: Early stage of biliary atresia is associated with significant changes in 8-hydroxydeoxyguanosine and mitochondrial copy number. *J Pediatr Gastr Nutr*, 2007; 45: 329-34

Zaburzenia hemodynamiczne w obrębie krążenia układowego jako przyczyna powikłań nadciśnienia wrotnego u chorych z marskością wątroby

Hemodynamic abnormalities in systemic circulation as source of complications of portal hypertension in cirrhotic patients

Marek Hartleb

Katedra i Klinika Gastroenterologii i Hepatologii, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Summary: In patients with cirrhosis and portal hypertension the splanchnic vasodilatation is the principal pathology in systemic circulation. Progressive fall in peripheral vascular resistance is responsible for neurohormonal dysregulation, which is associated with activation of potent vasoconstrictor and sodium-retaining mechanisms. Peripheral vasodilatation, increased activity of sympathetic system and hypervolemia form a hyperdynamic circulation in both the systemic and pulmonary vascular bed. High-output state leads to portal cardiomyopathy affecting systolic and diastolic cardiac functions. Pulmonary dysfunction involves diffusing abnormalities with the development of the hepatopulmonary syndrome and less frequently portopulmonary hypertension. Late cirrhosis is associated with abnormalities in blood distribution resulting in coexistence of hyper- and hypo-perfused organs. Hypoperfused kidneys underlie functional renal failure (hepatorenal syndrome). Despite lack of specific therapy for cardiac and pulmonary complications of portal hypertension, pertinent constriction of splanchnic arterial vasculature prevents many disastrous effects of hyperdynamic circulation.

Słowa kluczowe: marskość wątroby • nadciśnienie wrotne • zespół wątrobowo-nerkowy • zespół wątrobowo-płucny • nadciśnienie wrotno-płucne • kardiomiopatia wrotna • nadciśnieniowa gastropatia wrotna

Key words: liver cirrhosis • portal hypertension • hepatorenal syndrome • hepatopulmonary syndrome • portopulmonary hypertension • portal cardiomyopathy • hypertensive portal gastropathy

Adres do korespondencji: Prof. Marek Hartleb, Katedra i Klinika Gastroenterologii i Hepatologii, Śląski Uniwersytet Medyczny, ul. Medyków 14, 40-752 Katowice, Polska, e-mail: lakmus@poczta.wprost.pl

Wstęp

Obraz kliniczny u chorych z marskością wątroby jest zdominowany przez powikłania nadciśnienia wrotnego, którymi są wodobrzusze, krwawiące żylaki przełyku lub encefalopatia. Patologia naczyniowa w marskości wątroby nie ogranicza się jednak do układu wrotnego. Przyczyną zaburzeń hemodynamicznych w krążeniu układowym są zmiany na obwodzie układu tętniczego o nierozpoznanej do końca patogenizie. Polegają one na wazodilatacji tętniczek i tworzeniu przetok tętniczo-żylnych. Zmiany te są najbardziej nasilone na poziomie mikrokrażenia trzewnego. Spadek obwodowe-

go oporu tętniczego jest odpowiedzialny za rozwój krążenia hiperdynamicznego, którego cechami są niskie ciśnienie tętnicze, zwiększona pojemność minutowa oraz przyspieszona akcja serca.

Konsekwencją obwodowej wazodilatacji tętniczej jest spadek efektywnej objętości krwi w obrębie centralnego łóżyska naczyniowego, prowadzący do pobudzenia hormonalnych mechanizmów wazopresyjnych i sodoretencyjnych. Mechanizmy te mają charakter adaptacyjny i przez długi okres skutecznie przeciwdziałają spadkowi układowego ciśnienia tętniczego i perfuzji narządowej. Wysokie stężenia wazokonstryktorów

we krwi z współistniejącą wazodilatacją trzewną mają wyjątkowo niekorzystny wpływ na ciśnienie krwi w żyłę wrotnej, bowiem pierwszy czynnik zwiększa wewnątrzwątrobowy opór naczyniowy, a drugi jest odpowiedzialny za wzrost napływu krwi do układu wrotnego [1].

Krążenie hiperdynamiczne połączone z redystrybucją krwi do trzewnego układu żylnego zagraża prawidłowej pracy serca i perfuzji narządów. Zjawisko to prowadzi do wielonarządowej dysfunkcji pochodzenia naczyniowego. Do narządowych powikłań nadciśnienia wrotnego zalicza się 1) niewydolność nerek jako objaw zespołu wątrobowo-nerkowego, 2) niewydolność oddechową będącą wynikiem zespołu wątrobowo-płucnego, 3) niewydolność serca na podłożu kardiomiopatii wrotnej lub nadciśnienia płucnego, 4) krwawienia z przewodu pokarmowego spowodowane wrotną gastropatią lub kolopatią oraz 5) zaburzenia perfuzji mózgu [1–4]. Narządowe powikłania mają w większości charakter czynnościowy, a ich występowanie nie zależy wyłącznie od stopnia wazodilatacji trzewnej, lecz także od wydolności lokalnych mechanizmów homeostatycznych nadzorujących perfuzję poszczególnych narządów.

Hiperdynamiczne krążenie układowe

Krążenie układowe u chorych z marskością wątroby odznacza się cechami hiperdynamicznymi. Taki stan krążenia wynika z obwodowej wazodilatacji, obecności kolaterali wrotno-układowych, zwiększonej objętości krążącej krwi oraz hiperkinezy mięśnia sercowego.

Tętnicza wazodilatacja i zwiększony przepływ trzewny

Tętnicza wazodilatacja została udokumentowana u chorych ze zdekompensowaną marskością wątroby w obrębie przedramienia i dłoni, kończyn dolnych, płuc, mózgu, a przede wszystkim narządów trzewnych [4]. U zwierząt z nadciśnieniem wrotnym trzewny przepływ krwi jest znacznie większy niż u zwierząt zdrowych. Wcześniejsze badania upatrywały przyczyny wazodilatacji trzewnej w hormonach przewodu pokarmowego przedostających się łatwo do krążenia układowego z powodu ich upośledzonego metabolizmu wątrobowego i/lub obecności zewnątrz- i wewnątrzwątrobowych kolaterali wrotno-układowych. W kręgu zainteresowania do dnia dzisiejszego znajdują się VIP, CGRP (*calcitonin gene related peptide*), adrenomedulina, substancja P, glukagon oraz sole kwasów żółciowych. Stężenia tych związków we krwi chorych z marskością wątroby są na ogół podwyższone, a somatostatyna, która zmniejsza ich uwalnianie jednocześnie zwiększa obwodowy opór naczyniowy [5].

W ostatnim okresie najwięcej uwagi poświęca się czynnikom śródbłonkowym. Śródbłonek tętniczek krążenia układowego, w szczególności zaś tętniczek żołądkowych i jelitowych jest nadmiernie aktywny w zakresie produkcji NO. Zwiększone uwalnianie NO jest wynikiem wzrostu aktywności śródbłonkowej syntazy NO (eNOS) w odpowiedzi na stres mechaniczny tych komórek, spowodowany zwiększonym przepływem krwi. Ważną rolę w pobudzeniu eNOS odgrywa także naczyniowy śródbłonkowy czynnik wzrostowy (vascular endothelial growth factor; VEGF), który po połączeniu z odpowiednim receptorem aktywuje fosforylację eNOS. U zwierząt z nadciśnieniem wrotnym stwierdzono w obrębie mikrokrążenia trzewnego zwiększoną ekspresję VEGF, która korelowała ze

stężeniem eNOS. Zastosowanie inhibitora receptora VEGF typu 2 (SU5416) obniżało w modelu eksperymentalnym ciśnienie wrotne [6]. U chorych z marskością stwierdzono z kolei zwiększone wydalenie NO w powietrzu wydechowym, którego wartość korelowała ze stopniem systemowych zaburzeń hemodynamicznych [7]. Wyniki badań eksperymentalnych wskazują na nadprodukcję układową NO, która wyprzedza rozwój krążenia hiperdynamicznego. Wynika z tego, że NO jest odpowiedzialny za tętniczą wazodilatację trzewną i małą wrażliwość naczyń tego układu na działanie wazokstryktorów. Farmakologiczna blokada NOS powodowała większe wzrosty ciśnienia krwi u szczurów z marskością niż zdrowych zwierząt kontrolnych [1].

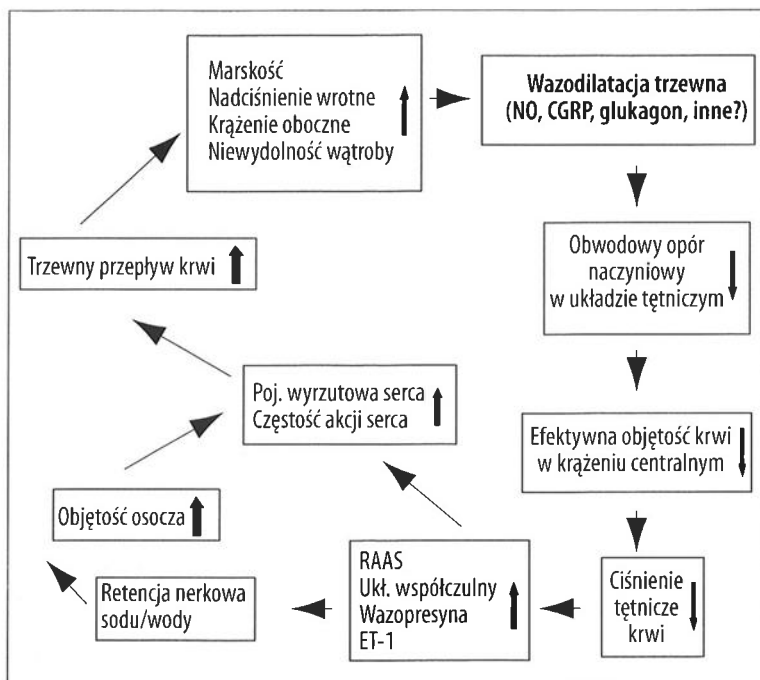
Nie wiadomo, czy NO jest jedynym mediatorem relaksującym mięśniówkę gładką naczyń tętniczych. Spośród czynników śródbłonkowych wymienia się też prostacyclinę (PGI₂), której stężenia we krwi chorych z marskością wątroby są podwyższone. Potencjalnymi wazodilatatorami są też tlenek węgla i anandamid. Tlenek węgla jest końcowym produktem katabolizmu hemoglobiny, powstającym przy udziale oksygenazy hemowej. Związek ten zwiększa stężenie cGMP w miocytach naczyń tętniczych. Zwiększoną ekspresję oksygenazy hemowej stwierdzono w trzewnym układzie tętniczym zarówno u szczurów jak i ludzi z marską wątrobą. Anandamid jest jednym z endogennych ligandów endokannabinoidowych, wiążących się z receptorem CB₁. Pobudzenie tego receptora powoduje wazodilatację trzewną. W patogenezie wazodilatacji trzewnej poza czynnikami rozkurczającymi naczynia istotną rolę odgrywa także zmniejszona reaktywność miocytów wobec endogennych substancji wazopresyjnych.

Wazodilatacja trzewna tłumaczy większość systemowych powikłań hemodynamicznych obserwowanych u chorych z marskością wątroby (Rycina 1). Patofizjologiczne znaczenie wazodilatacji trzewnej polega z jednej strony na utrzymywaniu wysokiego ciśnienia wrotnego (portal inflow) mimo obecności kolaterali wrotno-układowych, z drugiej zaś na zaburzeniu równowagi w homeostazie ciśnieniowej układu tętniczego. Trzewna wazodilatacja u chorych z marskością ma charakter postępujący, a niezdolność mechanizmów adaptacyjnych do utrzymania prawidłowego ciśnienia tętniczego jest źródłem większości powikłań nadciśnienia wrotnego (Rycina 2).

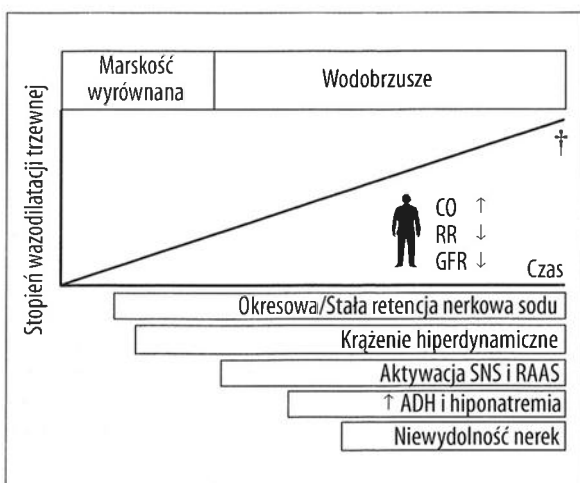
Kolaterale wrotno-układowe

Rozwój wrotno-układowego krążenia obocznego jest reakcją układu naczyniowego na wysokie ciśnienie wrotne. Naczynia oboczne mogą pojawiać się w wielu trzewnych i pozatrzewnych obszarach naczyniowych. Proces kolateralizacji polega na zaadaptowaniu do zwiększonego przepływu krwi już istniejących szlaków naczyniowych oraz tworzeniu na poziomie mikrokrążenia nowych naczyń w procesie angiogenezy. Siłą napędową w powstawaniu kolaterali wydaje się być również zwiększony przepływ trzewny krwi, bowiem leki zmniejszające ten przepływ hamują rozwój krążenia obocznego [1].

Najważniejszą rolę w powstawaniu nowych struktur naczyniowych odgrywa VEGF. Czynnik ten indukuje migrację i proliferację komórek śródbłonka oraz wydłuża czas przeżycia tych komórek, jednocześnie zwiększając na ich powierzchni ekspresję molekuł adhezyjnych. W badaniach na szczurach z nadciśnieniem wrotnym wykazano równoległe wzrosty ekspresji CD31 (białko powierzchniowe proliferujących



Rycina 1. Patofizjologiczne znaczenie wazodilatacji trzewnej dla rozwoju zespołu dysfunkcji hemodynamicznej.



Rycina 2. Związek między stopniem wazodilatacji trzewnej i zaburzeniami hormonalnymi, prowadzącymi do rozwoju krążenia hiperdynamicznego i zespołu wątrobowo-nerkowego. CO – pojemność minutowa serca; RR – ciśnienie tętnicze; GFR – przesączanie kłębkowe nerek; SNS – układ współczulny, RAAS – układ renina-angiotensyna-aldosteron, ADH – wazopresyna.

komórek śródbłonkowych), VEGF i receptora typu 2 VEGF. Zastosowanie inhibitora receptora-2 VEGF (SU5416) miało hamujący wpływ na rozwój obocznego krążenia wrotno-systemowego [8].

Poza pożądanym efektem odbarczającym nadciśnieniowy układ wrotny, krążenie oboczne jest źródłem wielu zjawisk niekorzystnych. Przeciek wrotno-układowy stanowi poważne obciążenie dla mięśnia sercowego i jest drogą przenikania do krążenia systemowego (z pominięciem wątroby) toksyn jelitowych. Bezpośrednią konsekwencją krążenia obocznego jest też częściowe lub całkowite pozbawienie wątroby unaczynienia wrotnego. Powyższe zjawiska odgrywają istot-

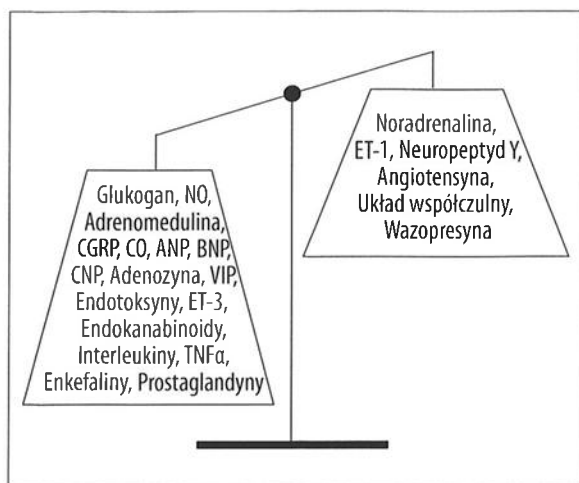
ną rolę w patogenezie kardiomiopatii wrotnej, encefalopatii wątrobowej i niewydolności wątroby.

Hipertrofia serca

Bezpośrednią przyczyną dodatniego bilansu sodowego i wodnego u chorych z marskością wątroby jest hiperaldosteronizm, wysoka aktywność nerkowego układu współczulnego oraz zwiększone uwalnianie wazopresyny w podwzgórze. Z tego powodu chorzy z dużym nadciśnieniem wrotnym eliminują drogą nerkową wyłącznie śladowe ilości sodu. Ze względu na obecność obwodowej wazodilatacji tętniczej oraz tendencję do nieprawidłowej dystrybucji krwi, hormonalne mechanizmy sodoretencyjne ulegają szczególnej aktywacji w spionizowanej pozycji ciała. Tak, więc nerkowa retencja sodu jest zjawiskiem nasilającym się w ciągu dnia i słabnącym w okresie spożycia nocnego [4]. Pozycja leżąca sprzyja wydalaniu sodu przez nerki z powodu „centralizacji krążącej krwi”, co wyraża się wzrostem stężenia we krwi przedsionkowego peptydu natriuretycznego (ANP) oraz spadkiem stężenia aldosteronu.

Hiperkineza serca

Zwiększoną pojemność wyrzutową serca u chorych z marskością opisano ponad 50 lat temu [9]. Pojemność wyrzutowa zależy od wielkości powrotu żylnego, częstości akcji serca oraz kurczliwości mięśnia sercowego. Czynniki te znajdują się pod kontrolą autonomicznego układu nerwowego. Zjawiskami, które istotnie zwiększają minutową pojemność wyrzutową serca są wzrost aktywności adrenergicznej, wazodilatacja tętnicza, zwiększona objętość osocza oraz obecność naczyniowych mikroprzetok tętniczo-żylnych. Wszystkie z wymienionych czynników są obecne u chorych z niewyrównaną marskością lub też odgrywają wybiórczą rolę na wcześniejszych etapach chorobowych. U chorych z marskością wątroby praca serca charakteryzuje się przyspieszoną akcją i zwiększonym rzutem. Hiperkineza serca jest związana z zaawansowaniem marskości, bowiem nie stwierdza się jej we wczesnych stadiach choroby. Badania hemodynamiczne



Rycina 3. Zaburzenie równowagi między związkami o właściwościach wazokonstrykcyjnych i wazodilacyjnych. NO – tlenek azotu; CGRP – białko zależne od genu kalcytoniny; CO – tlenek węgla; ANP – natriuretyczny peptyd przedsionkowy; BNP – natriuretyczny peptyd mózgowy; CNP – peptyd natriuretyczny typu C; VIP – naczynioaktywny peptyd jelitowy; ET-1 i ET-3 – endotelina typu 1 i 3; TNF- α – czynnik martwicy guza alfa.

przeprowadzone w pozycji stojącej i leżącej wskazują, że pozycja leżąca ujawnia lub nasila hiperkinezę serca [10]. Ze względu na fakt, iż w pozycji leżącej dochodzi do częściowej deaktywacji układów wazopresyjnych można sądzić, że obwodowa wazodilatacja ma największy udział w rozwoju hiperkinezy mięśnia sercowego. Podejrzewa się, że hiperkinezytyczne serce nie dotrzymuje kroku postępującej wazodilatacji w układzie trzewnym, a tym samym nie jest w stanie – mimo zwiększonego rzutu – utrzymać na adekwatnym poziomie układowego ciśnienia krwi i perfuzji nerkowej.

Narządowe zmiany dystrybucji i przepływu krwi

U chorych z marskością objętość krwi i osocza są zwiększone, a ich dystrybucja w poszczególnych obszarach naczyniowych jest nieprawidłowa, przy czym stopień tych nieprawidłowości jest zależny od zaawansowania choroby wątroby. Badania przeprowadzone u zwierząt i ludzi ze zdekompensowaną marskością wskazują na zmniejszenie objętości krwi w obrębie dużych naczyń tętniczych, jam serca i krążenia płucnego [4]. Z drugiej strony stwierdza się zwiększoną objętość krwi w obrębie trzewnego łożyska naczyniowego. Za zjawisko to jest odpowiedzialna tętnicza wazodilatacja, która lokuje dużą objętość krwi w żylnych naczyniach trzewnych, tworzących ze względu na obecność kolaterali układ naczyniowy o dużej pojemności. Z powyższego powodu u większości chorych z zaawansowaną marskością wątroby po podaniu dożylnym płynów zamiast spodziewanego wzrostu ciśnienia tętniczego obserwuje się jego spadek. Z kolei przetoczenie albumin lub roztworów hiperosmotycznych poprawia perfuzję narządową, zwiększając objętość krwi w wyniku przesączania płynu z przestrzeni śródkomórkowej do łożyska naczyniowego. Albuminy wykorzystuje się do wypełniania układu naczyniowego po dużej paracentezie, która nasila obwodową wazodilatację.

Spadek efektywnej objętości krwi w krążeniu centralnym jest odpowiedzialny za odbarczenie wysokociśnieniowych baro-

receptorów, które na drodze odruchowej aktywują układ współczulny, układ renina-angiotensyna-aldosteron oraz uwalnianie wazopresyny w mechanizmie nieosmotycznym. Być może, iż układ współczulny jest także aktywowany na drodze niezwiązanej z centralną hipowolemią np. w mechanizmie neurogennym z wysokociśnieniowego układu wrotnego. Pobudzenie neurohormonalne z jednej strony przeciwdziała wazodilatacji trzewnej, z drugiej zaś zwiększa objętość osocza w wyniku nerkowej retencji sodu i wody.

Małe naczynia tętnicze są u chorych z marskością wątroby obiektem działania wielu związków o działaniu wazodilacyjnym i wazokonstrykcyjnym (Rycina 3). Wypadkowa działania tych związków decyduje o napięciu spoczynkowym tętniczek i o przepływie krwi przez dany narząd. Wielkość przepływu jest wynikiem rozkładu oporów naczyniowych w różnych obszarach naczyniowych. Przepływ krwi może więc ulegać zmianom w zależności od zaawansowania choroby wątroby, stanu czynnościowego mięśnia sercowego oraz wolemii. Mimo zwiększonej pojemności wyrzutowej serca u chorych ze zdekompensowaną marskością do niektórych narządów dociera więcej krwi, do innych mniej, a są również obszary o prawidłowej perfuzji. Obszarem naczyniowym, który jest narażony na największe spadki przepływu krwi są nerki. Wazokonstrykcja naczyń zaopatrujących zewnętrzną część kory nerkowej leży u podłoża zespołu wątrobowo-nerkowego. Na wielkość przepływu krwi w poszczególnych narządach istotny wpływ mogą wywierać stosowane leki np. albuminy, beta-blokery lub diuretyki.

Zespół dysfunkcji hemodynamicznej

Zjawisko interakcji hemodynamicznych spowodowanych wazodilatacją w jednych obszarach naczyniowych i wazokonstrykcją w innych stanowi podłoże do hiperperfuzji lub hipoperfuzji poszczególnych narządów. Zaburzenia hemodynamiczne leżą u podłoża narządowych zmian czynnościowych, które nazywa się zespołem dysfunkcji hemodynamicznej. Czynnościowe zaburzenia ważnych dla życia narządów takich jak serce, mózg, nerki czy jelito pogarszają wskaźniki przeżywalności chorych z marskością i mogą stanowić poważniejsze zagrożenie dla życia od lepiej znanych powikłań nadciśnienia wrotnego jak krwotok z żyłaków przełyku bądź wodobrzusze. W kilku badaniach stwierdzono zależność pomiędzy niskim ciśnieniem tętniczym krwi a ciężkością marskości oraz czasem przeżycia [11,12].

Zespół wątrobowo-nerkowy

Zespół wątrobowo-nerkowy (hepato-renal syndrome; HRS) jest czynnościową niewydolnością nerek, rozwijającą się u chorych ze schyłkową marskością wątroby. Podłożem HRS jest spadek nerkowego przepływu krwi i przesączania kłębkowego. Zespół ten rozpoznaje się w przypadku stężenia kreatyniny we krwi $>1,5$ mg/dl i/lub spadku klirensu kreatyniny <40 ml/min [13]. HRS został podzielony na 2 typy zależnie od dynamiki procesu chorobowego. W HRS typu 1 w okresie 2-tygodniowej obserwacji dochodzi do podwojenia stężenia kreatyniny do wartości $>2,5$ mg/dl. Niewydolność nerek jest najczęściej konsekwencją pojawienia się czynników nasilających wazodilatację trzewną i/lub upośledzających ukrwienie nerek. Rozwój HRS typu 1 jest związany z 80-procentową śmiertelnością [13].

HRS typu 2 jest formą umiarkowanego upośledzenia zdolności wydzielniczej nerek ze stabilną kreatyniną na po-

zienie 1,5–2,5 mg/dl. Rozpoznawalność subtelnej niewydolności nerek może być utrudniona z uwagi na fakt, iż u części chorych z małą masą mięśniową (mała produkcja kreatyniny) obniżonym wartościom kłębkowego przesączania nie towarzyszy wzrost stężenia kreatyniny.

Warunkiem rozpoznania HRS jest wykluczenie posocznicy, wstrząsu pokrwotocznego, odwodnienia, choroby mięszonej nerek i obstrukcji dróg moczowych. Test polegający na ocenie kreatyninemii po przetoczeniu 1,5 litra fizjologicznego roztworu NaCl z równoczesnym odstawieniem diuretyków dobrze różnicuje HRS z hipowolemią. Zdolność zagęszczania moczu jest w HRS zachowana, a nerkowa retencja sodu skrajnie wysoka (wydalanie sodu <10 mEq/l). Nadmierna reabsorpcja sodu odbywa się w całym nefronie i jest zależna zarówno od wysokich stężeń aldosteronu (cewka dystalna i kanaliki zbiorcze), jak również od aktywacji nerkowego układu współczulnego (cewka proksymalna, pętla Henlego, cewka dystalna).

U chorych z nadciśnieniem wrotnym przedkłębkowe naczynia tętnicze są obiektem działania hormonów o działaniu wazokonstrykcyjnym, przede wszystkim noradrenaliny, angiotensyny oraz wazopresyny. Ponadto obecność nasilonej wazodilatacji trzewnej (mały opór trzewny) sprawia, że do nerek dociera mniejsza niż w warunkach fizjologicznych frakcja pojemności wyrzutowej serca. Mimo istnienia tak niekorzystnych warunków przez długi czas perfuzja nerek u chorych z marskością jest zachowana dzięki skutecznemu antagonizowaniu efektów wazokonstryktorów zwiększoną produkcją nerkową tlenu azotu, peptydu natriuretycznego, a zwłaszcza prostacykliny [14]. Ta chwiejna równowaga może jednak zostać łatwo zakłócona przez czynniki, które u zdrowych osób nie stwarzają ryzyka niewydolności nerek. W badaniach na zwierzętach z nadciśnieniem wrotnym zahamowanie produkcji któregośkolwiek z wymienionych związków wazodilatacyjnych powoduje spadek zarówno przepływu krwi przez nerki jak i przesączu kłębkowego. Z kolei jednoczesne zahamowanie nerkowej produkcji prostacykliny i tlenu azotu jest równoznaczne z indukcją niewydolności nerek. Z powyższych powodów podaż niesteroidowych leków przeciwzapalnych pacjentom ze zdekompenowaną marskością wątroby wiąże się z dużym ryzykiem rozwoju HRS. Silnie niedokrwiona kora nerkowa ogranicza z kolei lokalną syntezę związków wazodilatacyjnych oraz uruchamia produkcję angiotensyny, adenozyiny i endoteliny-1 [15]. Wytwarza się więc mechanizm „błędnego koła”, nasilający niedokrwienie nefronu.

Najczęstszą przyczyną rozwoju HRS typu 1 jest spontaniczne zapalenie otrzewnej lub inna infekcja bakteryjna. HRS bywa również częstym powikłaniem krwotoku z żyłaków przełyku, zabiegu chirurgicznego lub ostrego uszkodzenia wątroby, nakładającego się na marskość tego narządu. Spośród czynników jatrogennych oprócz leków przeciwzapalnych niepokojąco częstymi przyczynami HRS są: indukacja nadmiernej diurezy, zaniechanie podaży albumin po wykonaniu dużej paracentezy oraz stosowanie leków hipotensyjnych (np. losartan, enalapril, klonidyna).

Gastropatia i kolopatia wrotna

W 1985 roku McCormack [16] opisał zmiany endoskopowe błony śluzowej żołądka u chorych z marskością wątroby i zaproponował dla nich nazwę „gastropatii zastoinowej”. Późniejsze badania eksperymentalne i kliniczne wykazały

jednak, że u podłoża nadciśnieniowej gastropatii wrotnej (hipertensive portal gastropathy; HPG) leży nie tylko utrudniony odpływ krwi z żył żołądkowych, ale również zwiększony napływ tętniczy z hiperdynamicznego krążenia systemowego [17,18]. W efekcie nakładania się tych zaburzeń hemodynamicznych żołądkowe naczynia ulegają poszerzeniu, a sama śluzówka cierpi na deficyt tlenu. Niedotleniona śluzówka żołądkowa staje się nadwrażliwa na działanie kwasu solnego, pepsyny i/lub kwasów żółciowych. Uszkodzenia śluzówki i ściany poszerzonych naczyń są przyczyną krwawień. W badaniu histopatologicznym stwierdza się poszerzenie naczyń żylnych i włosowatych błony śluzowej oraz podśluzowej, wynaczynienia krwi oraz brak komórek nacieku zapalnego. HPG występuje w obrębie śluzówki trzonu oraz sklepienia żołądka i bardzo rzadko w jego części przedodźwiernikowej. Naczyniowe ektazje części przedodźwiernikowej (Gastric Antral Vascular Ectasias) tworzące obraz żołądka arbusowatego mogą występować u chorych z marskością, lecz w przeciwieństwie do HPG są mało specyficzne dla nadciśnienia wrotnego [19]. HPG jest źródłem różnych obrazów endoskopowych począwszy od nadmiernie wyrażonego poletkowania śluzówki (objaw mozaiki) po obecność na tle mozaiki punktowych bądź zlewających się w plamy wybroczyn podśluzówkowych o barwach wiśniowo- lub rdzawo-czarnych. Podobne do HPG zmiany naczyniowe mogą występować w śluzówce dwunastnicy lub jelita grubego, gdzie stanowią potencjalne źródło krwawień.

Chociaż HPG występuje najczęściej u chorych ze zdekompenowaną marskością wątroby, to zmiany te nie wykazują bezpośredniej zależności ani od stanu czynnościowego wątroby ani wielkości nadciśnienia wrotnego. Częstość występowania HPG u chorych z marskością wątroby jest oceniana w bardzo szerokim zakresie od 7% do 98% w zależności od klinicznej charakterystyki badanych, przyjętych kryteriów diagnostycznych oraz technicznych parametrów endoskopu [20]. HPG stanowi 12–40% przyczyn odpowiedzialnych za krwawienie z górnego odcinka przewodu pokarmowego u chorych z marskością wątroby, przy czym przewlekła utrata krwi jest znacznie częstsza niż ostre krwawienia. Historia naturalna HPG jest słabo poznana, a zwłaszcza czynniki decydujące o postępie lub regresji zmian. Sklerotyzacja żyłaków przełyku, a w mniejszym stopniu ich opaskowanie indukują lub nasilają już istniejącą HPG, czego przyczyną jest pogorszenie warunków odpływu krwi z górnej części żołądka przez niedrożne kolaterale [21].

Encefalopatia wrotna

Istnieje mało badań na temat mózgowego przepływu krwi u chorych z marskością wątroby. Dostępne badania przemawiają za zwiększonym przepływem mózgowym krwi u chorych ze zdekompenowaną marskością wątroby. Wazodilatacja naczyń mózgowych może odgrywać ważną rolę w patogenezie encefalopatii wątrobowej. Zwiększony przepływ krwi przez mózg, który znajduje się w sztywnej obudowie, podnosi ciśnienie wewnątrzczaszkowe, prowadząc do obrzęku mózgu. Wazodilatacja powoduje też wzrost powierzchni dyfuzji toksycznych związków pochodzenia jelitowego np. amoniaku [1].

Kardiomiopatia wrotna

Badania eksperymentalne i kliniczne dowiodły obecności w marskości wątroby wielu czynnościowych, a nawet anato-

micznych nieprawidłowości mięśnia sercowego, które objęto wspólnym mianem kardiomiopatii wrotnej. Kardiomiopatia wrotna obejmuje zaburzenia kurczliwości mięśnia sercowego, dysfunkcję lewej komory w okresie rozkurczu oraz nieprawidłowości zjawisk elektromechanicznych, polegających głównie na wydłużeniu odstępu Q-T. Nadal nie wiadomo czy kardiomiopatia wrotna jest bezpośrednią konsekwencją marskości wątroby, czy też ma charakter wtórny do zaburzeń hemodynamicznych związanych z nadciśnieniem wrotnym.

Należy zaznaczyć, iż u chorych z marskością będących w spoczynku nie stwierdza się istotnych i powtarzalnych nieprawidłowości w zakresie ciśnień w jamach serca i tętnicy płucnej lub lewokomorowej frakcji wyrzutowej. W spoczynku kardiomiopatia wrotna ma na ogół charakter subkliniczny, bowiem jest maskowana przez niskie obciążenie następcze (niski opór obwodowy). Kardiomiopatię ujawnia dopiero farmakologiczna „normalizacja” obwodowego oporu naczyniowego. Ten zabieg, podobnie jak inne czynniki narażające serce na „stres hemodynamiczny” (wysiłek fizyczny, przetoczenie dużej objętości płynów, TIPS) sprawiają, iż frakcja wyrzutowa lewej komory i jej rzut skurczowy wykazują dalece mniejsze przyrosty niż u osób zdrowych [4]. Ponadto upośledzona kurczliwość mięśnia sercowego jest oporna na działanie leków inotropowych. Pogorszenie skurczowej funkcji lewej komory serca ze spadkiem pojemności wyrzutowej u pacjentów z nasiloną wazodilatacją tętniczą oraz dużym pobudzeniem układu renina-angiotensyna-aldosteron jest prawdopodobnie ważną przyczyną rozwoju zespołu wątrobowo-nerkowego [22].

Zaburzenia kurczliwości serca mają charakter czynnościowy, bowiem zanikają po transplantacji wątroby [23]. Źródłem niewydolności serca oprócz jego przeciążenia (high-output heart failure) mogą być też liczne związki chemiczne o właściwościach kardiodepresyjnych, które są obecne we krwi chorych z marskością w stężeniach ponadfizjologicznych. Zalicza się do nich tlenek azotu, endotoksyny, endoteliny, kwasy żółciowe lub TNF- α .

W warunkach „stresu hemodynamicznego” u chorych ze zdekompensowaną marskością obok zaburzeń kurczliwości stwierdzono również podwyższone ciśnienie późno-rozkurczowe w lewej komorze serca [24]. Przyczyną utraty podatności lewej komory w okresie rozkurczu jest przerost mięśniówki serca oraz obecność w jej obrębie ognisk włóknienia. Te zmiany morfologiczne mogą być wynikiem pracy serca w warunkach permanentnego przeciążenia, spowodowanego przewlekłą aktywacją układu adrenergicznego, hiperwolemii i obecnością naczyniowych połączeń wrotno-płucnych. Uważa się, że niewydolność rozkurczowa wyprzedza w czasie zaburzenia kurczliwości serca. Nieprawidłowości parametrów hemodynamicznych charakteryzujących dysfunkcję rozkurczową serca ulegają zmniejszeniu w wyniku leczenia preparatami przeciwaldosteronowymi oraz po paracentezie.

U chorych z marskością wątroby stwierdzono podwyższone stężenia surowicze przedsionkowego (ANP) i mózgowego peptydu natriuretycznego (BNP). Wykazano, że wzrost stężenia ANP i BNP jest wynikiem zwiększonego uwalniania tych peptydów przez kardiomiocyty, a nie upośledzenia procesu ich ekstrakcji z krwi przez marską wątrobę [4]. ANP jest markerem zwiększonego ciśnienia przedsionkowego, a BNP świadczy nie tylko o wzroście ciśnienia w lewej komorze serca, ale także jest miarą przeciążenia mięśnia sercowego.

Dyskusję o rzeczywistym znaczeniu niewydolności rozkurczowej serca wnieśli pojedyncze opisy nagłych zgonów sercowych wśród pacjentów z marskością wątroby, poddanych zabiegom naczyniowym typu shunt, transplantacji wątroby lub TIPS [4]. Wszystkie te zabiegi wiążą się ze wzrostem obciążenia wstępnego serca (*preload*), a więc mogą u chorego z niewydolnością rozkurczową sprowokować rozwój obrzęku płuc.

U chorych z marskością wątroby wrażliwość mięśnia sercowego na bodźce hormonalne i farmakologiczne jest obniżona. W badaniach na szczurach z nadciśnieniem wrotnym stwierdzono zmniejszenie gęstości beta₁-adrenoceptorów na powierzchni kardiomiocytów. Ponadto receptory te wykazują zmniejszoną wrażliwość wobec noradrenaliny w wyniku jeszcze słabo poznanych defektów w obrębie kanałów wapniowych oraz postreceptorowego przekazu sygnału, w które zaangażowane jest białko G [25,26]. Ward i wsp. [27] wykazali obecność zaburzeń w przewodzeniu prądu potasowego przez błonę kardiomiocytów szczurów z marskością wątroby. Anomalia ta była odpowiedzialna za wydłużenie odstępu Q-T w badaniu elektrokardiograficznym. Podobne zjawisko obserwuje się u pacjentów z marskością, a czas Q-T koreluje z zaawansowaniem choroby wątroby, stężeniem noradrenaliny i czasem przeżycia [28]. Istnieje podejrzenie, że wydłużenie odstępu Q-T zwiększa u chorych z marskością ryzyko arytmii komorowych i nagłych zgonów kardiologicznych.

Szczególnymi i niezależnymi od nadciśnienia wrotnego przyczynami uszkodzenia serca u chorych z marskością wątroby mogą być alkoholizm, hemochromatoza lub amyloidoza.

Zaburzenia regulacji sercowo-naczyniowej

Badania reakcji układu sercowo-naczyniowego chorych z marskością wątroby na standardowe testy takie jak próba Valsalvy, test zmienności akcji serca lub wysiłku izometrycznego wskazują na dysregulację autonomicznego układu nerwowego. Stwierdzono nieprawidłowości zarówno w odniesieniu do współczulnego jak i przywspółczulnego układu nerwowego [4]. Ponadto badania reakcji ciśnienia tętniczego na ortostazę wskazują na zaburzenia odruchu z baroreceptorów. Jedną z przyczyn tego zjawiska może być hipoksja, często obecna u chorych z marską wątrobą. Większość stwierdzanych nieprawidłowości ma charakter czynnościowy i zanika po transplantacji wątroby. Korzystne efekty opisywano również po zastosowaniu leków z grupy antagonistów receptora angiotensynowego lub aldosteronowego. Patofizjologiczne podłoże dysfunkcji układu autonomicznego nie jest znane. Może ono dotyczyć centralnego układu nerwowego, nerwów obwodowych lub procesów neurotransmisji.

Obwodowe naczynia tętnicze chorych z marskością wykazują obniżoną reaktywność wobec egzogennych i endogennych wazokonstryktorów. Przyczyną tego patofizjologicznie ważnego zjawiska może być zmniejszona liczba lub powinowactwo receptorów bądź też pozareceptorowy defekt przekazu sygnału w miocytach. Obniżona reaktywność naczyń tętniczych układu trzewnego wydaje się być najważniejszym czynnikiem odpowiedzialnym za wazodilatację trzewną i zwiększony przepływ krwi w tym obszarze naczyniowym oraz spadek ciśnienia tętniczego krwi. Niskie ciśnienie tętnicze krwi u chorych z marskością nie jest wyłącznie konsekwencją obwodowej wazodilatacji, lecz także obniżonej podatności (arterial compliance) dużych naczyń tętniczych [29].

Istnieje mała grupa chorych z marskością wątroby, u których stwierdza się nadciśnienie tętnicze. Grupa tych pacjentów nie została jeszcze dokładnie przebadana. Są to prawdopodobnie osoby z chorobą nadciśnieniową, łagodzoną przez zmiany hemodynamiczne towarzyszące marskości. Być może są to jednak osoby, których układ tętniczy nie wykazuje zmniejszonej wrażliwości wobec krążących we krwi silnych wazokonstryktorów.

Zaburzenia krążenia płucnego

U chorych z marskością duszność wysiłkowa oraz umiarkowana hipoksemia należą do częstych objawów. Istnieje wiele potencjalnych przyczyn zaburzonego stosunku wentylacji do perfuzji płuc u tych chorych. Pacjenci z alkoholową marskością wątroby są często nałogowymi palaczami papierosów, co sprzyja występowaniu u nich obturacyjnej choroby płuc. Czynność wentylacyjna płuc może być także upośledzona z powodu masywnego wodobrzusza. Z kolei przyczyną umiarkowanej hipoksемii bywa zwiększona pojemność wyrzutowa serca, której konsekwencją jest wzrost perfuzji płucnej i skrócenie czasu kontaktu erytrocytów z cząsteczkami tlenu.

Zespół wątrobowo-płucny

Przyczyną nasilonej hipoksемii (<70 mmHg), nie wynikającej z choroby organicznej serca lub płuc, jest wazodilatacja na poziomie prekapilarów i kapilarów pęcherzykowych (hepato-pulmonary syndrome; HPS). Wzrost średnicy tych naczyń sprawia, że utlenowanie hemoglobiny odbywa się wyłącznie w ich strefie przyściennej, bowiem cząsteczki tlenu nie docierają do erytrocytów środkowego strumienia krwi. Tę anomalię czynnościową można skorygować podaniem 100% tlenu pod zwiększonym ciśnieniem [30].

Chorzy z HPS źle tolerują wysiłek fizyczny, który powoduje u nich duszność i sinicę. W spoczynku kompensują oni hipoksję zwiększoną pojemnością wyrzutową serca i zwiększoną wentylacją płuc. Mechanizmy te jednak nie mogą sprostać zapotrzebowaniu na tlen podczas wysiłku fizycznego, tym bardziej, że chorzy z marskością pozbawieni są fizjologicznej reakcji wazokonstrykcyjnej naczyń płucnych na obwodową hipoksję. U chorych z HPS duszność i hipoksemia ulegają nasileniu w pozycji spionizowanej (zjawiska platypnea i ortodeksji), w której największy przepływ krwi odbywa się w dolnych partiach płuc, gdzie patologia naczyniowa jest najwyraźniejsza. Sylwetka serca w badaniu radiologicznym u chorych z HPS zwykle nie odbiega od normy, natomiast stałym objawem jest kolbowate zniekształcenie dystalnych paliczek rąk.

Kryteria diagnostyczne HPS obejmują a) nadciśnienie wrotne w przebiegu marskości lub ostrej niewydolności wątroby, b) $\text{PaO}_2 < 70$ mmHg lub wzrost pęcherzykowo-tętniczego gradientu tlenowego >20 mmHg oraz c) istnienie płucnego przecieku tętniczko-żylnego, który ma najczęściej charakter czynnościowy (wazodilatacja), a znacznie rzadziej anatomiczny (anastomozy tętniczko-żylne) [31,32]. Obecność przecieku tętniczko-żylnego dokumentuje się za pomocą kontrastowej echokardiografii (np. 0.9% NaCl z pęcherzykami powietrza) lub metodą perfuzyjnej scyntygrafii płuc z użyciem znakowanych makroagregatów albuminowych [33]. W zależności od zastosowanych kryteriów diagnostycznych oraz metod rejestracji płucnego przecieku tętniczko-żylnego występowanie

HPS wśród chorych ze schyłkową marskością wątroby ocenia się w szerokich granicach od 4% do 40%.

Nadciśnienie wrotno-płucne

Układ naczyniowy płuc u chorych z marskością wątroby jest obiektem działania wielu związków wazoaktywnych. U części chorych z marskością wątroby przewagę zyskują czynniki wazokonstrykcyjne. Przypuszcza się, że wazokonstrykcja naczyń płucnych wynika z niewydolności wątroby w eliminacji związków obkurczających mięśniówkę naczyniową np. serotoninę. Przewlekła wazokonstrykcja w obecności czynników wzrostowych prowadzi do zmian anatomicznych tętniczek płucnych, polegających na przeroście błony środkowej i wewnętrznej z ewentualną obecnością skrzeplin [32]. Zmiany te leżą u podłoża nadciśnienia wrotno-płucnego (portopulmonary hypertension; PPH), które obrazem klinicznym przypomina samoistne nadciśnienie płucne. Częstość występowania PPH u chorych z zaawansowaną marskością wynosi 1–4% [34]. Mimo, że echokardiografia dostarcza wielu ważnych informacji o rozmiarach i funkcji prawej komory serca oraz wielkości fali zwrotnej przez zastawkę trójdzielną, to do definitywnego rozpoznania HPP potrzebne są bezpośrednie pomiary rzutu prawej komory serca oraz ciśnienia zaklinowanego w tętnicy płucnej (>15 mmHg). Biopsja płuc ma ograniczone znaczenie diagnostyczne z powodu ogniskowego charakteru zmian naczyniowych.

Objawem PPH jest niewydolność prawokomorowa serca z wysiłkową dusznością, zawrotami głowy oraz bólem w klatce piersiowej. W chorobie tej nie stwierdza się sinicy, a PaO_2 rzadko spada poniżej 70 mmHg. W badaniu radiologicznym sylwetka serca jest powiększona z naczyniowo poszerzonymi wnękami. Elektrokardiografia ujawnia *P pulmonale* oraz wysokie załamki R w odprowadzeniach prawokomorowych. Wysokie ciśnienie w prawym przedsionku może doprowadzić do przecieku krwi przez udrożniony *foramen ovale* do lewego przedsionka serca, co w konsekwencji znacznie obniża PaO_2 .

Możliwości terapeutyczne

Nasilenie objawów zespołu dysfunkcji hemodynamicznej wykazuje ścisłą korelację z czasem przeżycia chorych. Istnieje więc przekonanie, że przeciwdziałanie powikłanion narządowym może mieć korzystny wpływ na czas przeżycia chorych, zwiększając ich szanse na otrzymanie greftu wątrobowego. Obecnie nie ma metod swojego leczenia zespołu dysfunkcji hemodynamicznej. Leczenie opiera się próbach eliminowania i zapobiegania nieprawidłowościom hemodynamicznym obecnym w krążeniu układowym. Zmierza ono do adekwatnego wypełnienia łóżyska naczyniowego, obkurczenia tętniczego łóżyska trzewnego, obniżenia ciśnienia wrotnego, a także wspomaganie lokalnych mechanizmów wazoprotekcyjnych.

W modelu eksperymentalnym nadciśnienia wrotnego farmakologiczne blokowanie NOS, odpowiedzialnej za wazodilatację trzewną, powoduje wzrost trzewnego oporu naczyniowego. U ludzi na razie nie stosuje się inhibitorów NOS, bowiem ich efekty działania nie są swoiste ani dla izoformy enzymu, ani jej lokalizacji narządowej. Spośród trzewnych wazokonstryktorów, niezwiązanych z hamowaniem NO, najbardziej rozpowszechnione są nieselektywne beta-blokery (propranolol, tymolol), analogi wazopresyny (terlipressin,