



Αρ. 110: 430 2004

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ-ΤΟΜΕΑΣ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ
ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ
(ΗΠΑΤΟ-ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΟΛΟΓΙΚΗ ΜΟΝΑΔΑ)
ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ - ΕΠΑΜΕΙΝΩΝΔΑΣ Β. ΤΣΙΑΝΟΣ

**Η ΦΥΣΙΚΗ ΙΣΤΟΡΙΑ ΤΗΣ ΧΡΟΝΙΑΣ ΕΝΕΡΓΟΥ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ Β
(HBV), C(HCV) ΚΑΙ D(HDV) ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΜΕ
ΙΝΤΕΡΦΕΡΟΝΗ Α(IFN α) ΣΤΗ Β.Δ.ΕΛΛΑΔΑ**

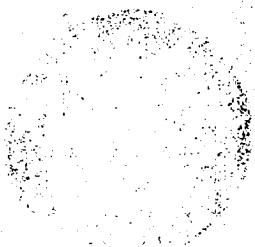
ΓΕΡΑΣΙΜΟΣ Ε. ΜΠΑΛΤΑΓΙΑΝΝΗΣ

**ΙΑΤΡΟΣ
ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΟΛΟΓΟΣ**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2002





Faint, illegible text centered on the page, possibly a title or header.

Faint text on the left side of the page, possibly a date or reference number.

15/2002.



Η έγκριση της Διδακτορικής Διατριβής από την Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα (Νόμος 5343/32, άρθρο 202, § 2)



ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

**ΕΠΑΜΕΙΝΩΝΔΑΣ Β. ΤΣΙΑΝΟΣ, ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ, ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ
ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ ΜΠΟΥΡΑΝΤΑΣ, ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ/ ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΑΣ, ΜΕΛΟΣ
ΙΩΑΝΝΗΣ ΔΗΜΟΛΙΑΤΗΣ, ΕΠΙΚΟΥΡΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑΣ, ΜΕΛΟΣ**



ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

ΤΣΙΑΝΟΣ Β.ΕΠΑΜΕΙΝΩΝΔΑΣ, ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ, ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ
ΣΙΑΜΟΠΟΥΛΟΣ ΚΩΝ/ΝΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ-ΝΕΦΡΟΛΟΓΙΑΣ, ΜΕΛΟΣ
ΕΛΙΣΑΦ ΜΩΥΣΗΣ, ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ, ΜΕΛΟΣ
ΜΠΟΥΡΑΝΤΑΣ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ, ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ-ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΑΣ, ΜΕΛΟΣ
ΤΣΑΤΣΟΥΛΗΣ ΑΓΑΘΟΚΛΗΣ, ΑΝΑΠΛΗΡΩΤΗΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ-
ΕΝΔΟΚΡΙΝΟΛΟΓΙΑΣ, ΜΕΛΟΣ
ΔΗΜΟΛΙΑΤΗΣ ΙΩΑΝΝΗΣ, ΕΠΙΚΟΥΡΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑΣ, ΜΕΛΟΣ
ΧΡΗΣΤΟΥ ΛΕΩΝΙΔΑΣ, ΕΠΙΚΟΥΡΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ, ΜΕΛΟΣ



ΣΤΟΝ ΓΙΩΡΓΟ...

ΣΤΗΝ ΑΛΕΚΑ, ΤΗΝ ΕΛΙΡΑ ΚΑΙ ΤΟΝ ΒΑΓΓΕΛΗ



ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η εκπόνηση της παρούσης διατριβής οφείλεται κυρίως στην ουσιαστική συμπαράσταση και διαρκή παρότρυνση του κυρίου Επαμεινώνδα Τσιάνου, Καθηγητού Παθολογίας, το δάσκαλό μου και επιβλέποντα αυτής της μελέτης που με υπομονή μου δίδαξε την αγάπη για τον ασθενή και την κοινωνική προσφορά, το κέφι για δουλειά την ερευνητική μεθοδολογία και τη συνεχή μάθηση.

Ευχαριστώ θερμά τον Κύριο Επαμεινώνδα Τσιάνο, τον Καθηγητή μου, που σε όλη την πορεία της μέχρι σήμερα εκπαίδευσής μου με δίδαξε εκτός από την ανθρωπιστική προσέγγιση και το πραγματικό ενδιαφέρον για τους ασθενείς/ανθρώπους και «τη συλλογή δεδομένων και εννοιολογική σύνθεση αυτών με σχετικές γνώσεις, κατά λογικά κατευθυνόμενο και πρακτικά αποτελεσματικό τρόπο, καθώς και ευθυκρισία, με συνέπεια την αντικειμενική εκτίμηση της πραγματικής σημασίας των καταλλήλων πληροφοριών, δηλαδή με μια φράση με δίδαξε την ιατρική κλινική επάρκεια».

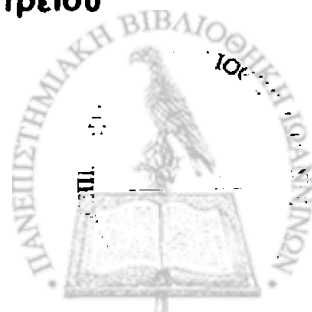
Οι περισσότεροι συνδέουν τη λέξη «έρευνα» με δραστηριότητες που είναι ουσιαστικά απόμακρες από την καθημερινή ζωή και γίνονται από ιδιαίτερα προικισμένους ανθρώπους με έναν ασυνήθιστο βαθμό αφοσίωσης στο έργο τους αυτό. Υπάρχει βέβαια αρκετή αλήθεια σ' αυτήν την άποψη, αλλά μολαταύτα πιστεύουμε ότι η ερευνητική δραστηριότητα δεν περιορίζεται κατ'ανάγκη σ' αυτόν τον τύπο ανθρώπου και ότι μπορεί να αποδειχθεί μια πραγματικά ελκυστική και ικανοποιητική εμπειρία και για πολλούς άλλους, που απλώς διαθέτουν εξασκημένο και ανήσυχο νου.

Η καθημερινή σχεδόν ενασχόλησή μου με ασθενείς που πάσχουν από χρόνιες ιογενείς ηπατοπάθειες με έφερε ως κλινικό γιατρό και ερευνητή κοντά σε μια ιδιαίτερη κατηγορία ασθενών με αυξημένο κίνδυνο νοσηρότητας και θνησιμότητας. Τελικά το άμεσο και ουσιαστικό κέρδος που αποκόμισα ήταν η «Γνώση».

Επίσης ευχαριστώ θερμά τον κύριο Κων/νο Μπουραντά Καθηγητή Παθολογίας/Αιματολογίας που εκτός των άλλων με παρότρυνε και στα πρώτα βήματά μου ως γιατρού κατά την διαιτητική άσκηση μου στην Παθολογία.

Τον κύριο Ιωάννη Δημολιάτη Επίκουρο Καθηγητή Υγιεινής-Επιδημιολογίας ευχαριστώ για τις πολύτιμες συμβουλές και τις εύστοχες παρατηρήσεις του.

Τέλος ευχαριστώ τους συναδέλφους ιατρούς του Πανεπιστημιακού Ηπατο-Γαστρεντερολογικού τμήματος για την άφογη συνεργασία και την αμέριστη βοήθειά τους. Επίσης θερμά ευχαριστώ για την πολύτιμη βοήθειά της την νοσηλεύτρια του Ηπατολογικού Ιατρείου κυρία Γκούμα Λαμπρινή.



ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

	Σελίδα
ΠΡΟΛΟΓΟΣ.....	11..
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	
A. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	17
B. Φυσική ιστορία της λοίμωξης από τον ιό της ηπατίτιδας B.	19
1. Οξεία λοίμωξη	19
1.1 Ορολογική διάγνωση	19
1.2 Κλινικές μορφές	20
1.3 Εξέλιξη της οξείας λοίμωξης	21
2.Χρόνια λοίμωξη	22
2.1 Φάση ανοσοαντοχής η πολλαπλασιασμού	23
2.2 Φάση κάθαρσης η ορομετατροπής	24
2.3 Φάση ενσωμάτωσης	25
2.4 Φάση ενεργοποίησης προπυρηνικά μεταλλαγμένου HBV	27
Γ. Φυσική ιστορία της λοίμωξης από τον ιό της ηπατίτιδας Δέλτα(HDV)	28
1. Ο παράγοντας Δέλτα	28
1.1 Επιδημιολογία	29
1.2 Διάγνωση και κλινική πορεία	29
1.3 Οξεία σύγχρονη λοίμωξη : οξεία B+Δ	30
1.4 Επιλοίμωξη : χρόνια ηπατίτιδα B+Δ	31
Δ. Φυσική ιστορία της λοίμωξης από τον ιό της ηπατίτιδας C	32
1. Γενικά για τον HCV	32
1.1 Οξεία ηπατίτιδα C	34
1.2 Κεραυνοβόλος ηπατίτιδα C	37
1.3 Χρόνια λοίμωξη	37
1.4 Φυσική πορεία της χρόνιας HCV λοίμωξης	39
1.5 Ιικό φορτίο	41
1.6 Τρόπος μετάδοσης	41
1.7 Γενετική ετερογένεια	41
1.8 Σχεδόν είδη	42
1.9 Διάρκεια νόσου , ιστολογική εικόνα , φύλο	42
1.10 Ηλικία	43
1.11 HLA απλότυπος	43
1.12 Ανοσιακή ανεπάρκεια	43
1.13 HBV και GV/GBV-C συλλοίμωξη	44
1.14 Κάπνισμα και περιβάλλον	45
1.15 Αιθυλική αλκοόλη και HCV	45
1.16 Εξωηπατικές εκδηλώσεις του HCV	45
E. Ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα	46
1. Συσχέτιση με τη χρόνια ηπατίτιδα B	46
1.2 Συσχέτιση με τη χρόνια ηπατίτιδα C	48
1.3 Μηχανισμοί ηπατοκαρκινογένεσης στη χρόνια ηπατίτιδα C	49
1.4 Επίδραση της κίρρωσης	49
1.5 Πρόγνωση	50



ΣΤ. Θεραπεία χρόνιας ηπατίτιδας	51
1. Θεραπεία χρόνιας ηπατίτιδας Β	51
1.1 Θεραπεία χρόνιας λοίμωξης με τον αρχέτυπο ιό Β (HBeAg+)	51
1.2 Θεραπεία χρόνιας λοίμωξης με προπυρηνικά μεταλλαγμένο ιό Β (HBeAg-)	52
1.3 Θεραπεία χρόνιας Δέλτα ηπατίτιδας	53
1.4 Θεραπεία χρόνιας ηπατίτιδας C	53
1.5 Μηχανισμοί δράσης των διαθέσιμων αντιικών φαρμάκων	54
1.5 α Ιντερφερόνη	54
1.5 β Νουκλεοσιδικά ανάλογα	56
1.6 Ιική αντοχή	57
Ζ. Μηχανισμός καταστροφής του ηπατοκυττάρου στη χρόνια ιογενή λοίμωξη	58
Η. Νέα ταξινόμηση της χρόνιας ηπατίτιδας	60

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

A. Σκοπός της μελέτης	65
B. Υλικό	67
Γ. Μέθοδοι	70
Δ. Αποτελέσματα	75
E. Συζήτηση	93
ΣΤ. Συμπεράσματα	112
Ζ. Περίληψη	115
Η. SUMMARY	120
Θ. Βιβλιογραφία	122



ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ



Α.ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι ιογενείς ηπατίτιδες αποτελούν πολύ σοβαρό πρόβλημα δημόσιας υγείας σε όλες τις χώρες του κόσμου (λιγότερο για τις ΗΠΑ και βόρεια Ευρώπη και πολύ περισσότερο για την νότια και Ανατολική Ευρώπη, την Ασιατική Ήπειρο καθώς και την Αφρική). Οι παρεντερικά μεταδιδόμενοι ιοί ηπατίτιδας Β (HBV), δέλτα (HDV) και C (HCV) προκαλούν οξεία και χρόνια νόσο και αυξάνουν τον κίνδυνο κίρρωσης και ηπατοκυτταρικού καρκινώματος [1]. Η λοίμωξη με τον ιό της ηπατίτιδας Β (HBV) εξακολουθεί να αποτελεί σημαντικό πρόβλημα υγείας σε ολόκληρο τον κόσμο. Περισσότερο από το ήμισυ του παγκόσμιου πληθυσμού έχει μολυνθεί από τον (HBV) σε κάποιο στάδιο της ζωής τους ενώ ποσοστό υψηλότερο από 5% πάσχει από χρόνια HBV λοίμωξη [2].

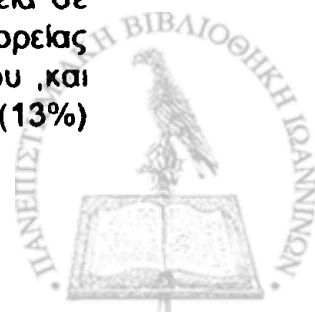
Ειδικότερα στην Ελλάδα ο HBV ευθύνεται για τα 2/3 των οξείων ηπατίτιδων, με αποτέλεσμα σημαντική συμβολή στην νοσηρότητα του πληθυσμού αλλά και στη θνητότητα εφόσον το 1-2% των περιπτώσεων καταλήγουν από κεραυνοβόλο ηπατίτιδα [3]. Οι χρόνιοι φορείς του ιού ηπατίτιδας Β ανέρχονται σε 350.000.000 σε ολόκληρο τον κόσμο [4]. Από αυτούς το 25-30% θα αναπτύξουν χρόνια ηπατίτιδα, ενώ 1.000.000 περίπου άνθρωποι πεθαίνουν ετησίως από τα επακόλουθα της λοίμωξης [5].

Το 1989 κλωνοποιήθηκε το γονιδίωμα του HCV, ένας παρεντερικά μεταδιδόμενος RNA ιός [6]. Πρόσφατοι υπολογισμοί ανεβάζουν σε 500.000.000 τον αριθμό των ατόμων που έχουν μολυνθεί με τον HCV. Στη χώρα μας υπολογίζεται ότι υπάρχουν 100.000-200.000 φορείς του HCV, η πλειοψηφία των οποίων έχει χρόνια ηπατίτιδα. Αν και η οξεία ηπατίτιδα C είναι πάρα πολύ συχνά ασυμπτωματική (60-90%) και η κεραυνοβόλος HCV λοίμωξη είναι εξαιρετικά σπάνια, ο HCV προκαλεί χρόνια ηπατίτιδα σε ποσοστό πάνω από το 75% των ατόμων που μολύνθηκαν από τον ιό. Το 20% των ασθενών με χρόνια ηπατίτιδα C θα αναπτύξει κίρρωση μετά από περίπου 15 χρόνια, ενώ ετησίως το 3-5% των κίρρωτικών από HCV θα αναπτύξει ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα [7,8,9,10].

Λοίμωξη με τον ιό δέλτα (HDV) προϋποθέτει παρουσία HBsAg και εμφανίζεται είτε ως ταυτόχρονη λοίμωξη με τον ιό HBV (συν-λοίμωξη) είτε ως επιλοίμωξη σε φορείς του HBsAg. Προκαλεί βαριές οξείες ηπατίτιδες (συνήθως μόνο σαν επιλοίμωξη) που μπορεί να καταλήξουν σε κεραυνοβόλο ηπατική ανεπάρκεια, αν και στη χώρα μας παρατηρείται σπάνια [11] αλλά και συχνή μετάπτωση σε χρόνια ηπατίτιδα με συνήθως κακή πρόγνωση (HDV-επιλοίμωξη αποτελεί τη μοναδική ίσως αιτία ανάπτυξης χρόνιας D ηπατίτιδας) [12,13].

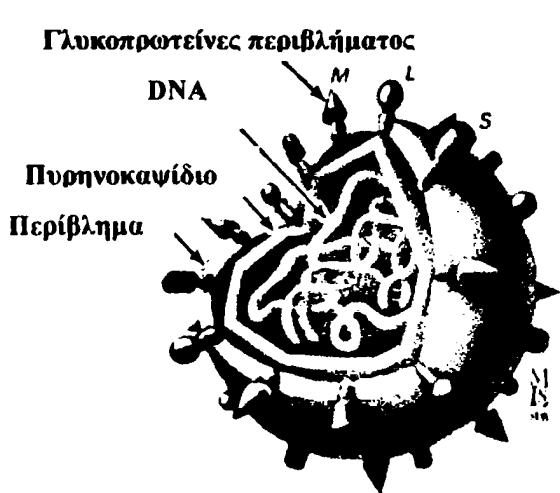
Οι μη παρεντερικά μεταδιδόμενοι ιοί ηπατίτιδας Α (HAV) και Ε (HEV) προκαλούν μόνο οξεία νόσο και σχετίζονται αρκετά συχνά με την εμφάνιση επιδημιών. Ο HEV προκαλεί οξεία ηπατίτιδα Ε, που είναι μια ήπια αυτοπεριοριζόμενη λοίμωξη με εξαίρεση τις εγκύους, ειδικά του τρίτου τριμήνου της κύησης όπου καταλήγει σε κεραυνοβόλο ηπατική ανεπάρκεια στο 20% περίπου των περιπτώσεων [14].

Στην Ήπειρο η συχνότητα ανεύρεσης φορέων του αντιγόνου επιφανείας του ιού της ηπατίτιδας Β υπολογίζεται περίπου στο 5% (1.5% φορεία σε υγιείς αιμοδότες του πληθυσμού) [15]. Εξάλλου επειδή το ποσοστό φορείας του HBsAg στους φυγάδες από τη Νότια Αλβανία είναι 22,5% περίπου, και επειδή υπάρχει αυξημένος επιπολασμός αντι-HDV αντισωμάτων (13%)



μεταξύ αυτών δημιουργείται επιπρόσθετο πρόβλημα που πιθανότατα θα γίνει φανερό στις επόμενες δεκαετίες στην περιοχή μας [16].

Οι ιντερφερόνες (INFs) αποτελούν κυτταροκίνες των οποίων η ανακάλυψη οφείλεται στη διαπίστωση ότι επιφέρουν προστασία των κυττάρων στόχων μετά από μόλυνση με ιούς (interference). Οι ιντερφερόνες συνδέονται με ειδικούς υποδοχείς της κυτταρικής επιφάνειας. Έχουν ταξινομηθεί σε τρεις κύριες κλάσεις : άλφα , βήτα και γάμμα ενώ πρόσφατα ανακαλύφθηκαν και άλλοι τρεις τύποι, ω-, τ-, και δ- ιντερφερόνη[17,18]. Οι α-ιντερφερόνες είναι εκείνες που χρησιμοποιούνται τώρα στη θεραπευτική αντιμετώπιση της χρόνιας ηπατίτιδας Β, D και C. Στα μολυσμένα από τον ιό κύτταρα η ενδογενής παραγωγή ή η εξωγενής χορήγηση ιντερφερόνης έχει ως αποτέλεσμα την επαγωγή του σχηματισμού αντι-ϊικών πρωτεϊνών και την αναστολή της σύνθεσης του ιικού DNA και RNA. Η α-ιντερφερόνη επάγει επίσης την έκφραση των HLA αντιγόνων κλάσης I , γεγονός που επάγει την αναγνώριση των μολυσμένων κυττάρων από τα κυτταροτοξικά Τ-λεμφοκύτταρα. Στις ανοσοτροποποιητικές/ανοσοδιεγερτικές επιδράσεις των ιντερφερονών περιλαμβάνεται η διέγερση της λειτουργικής δραστηριότητας των φυσικά φονικών NK-κυττάρων(Natural Killer cells) καθώς και των κυτταροτοξικών Τ-λεμφοκυττάρων (ανεξάρτητα από την επαγωγή της έκφρασης των HLA αντιγόνων κλάσης I)[18].Μεγάλη εμπειρία στη χρήση κυρίως γενετικά ανασυνδυασμένης ιντερφερόνης με τη μέθοδο του ανασυνδυασμένου DNA(άλφα-2 α-ROFERON, άλφα-2β-INTRON A) έχει αποκτηθεί την τελευταία δεκαετία μετά την έναρξη διαφόρων θεραπευτικών πρωτοκόλλων χορηγήσεως της σε ασθενείς χρόνιας ιογενείς ηπατίτιδες με αρκετά καλά αποτελέσματα[19,20,21,22,23,24,25,26,27,28,29,30,31,32,33,34].



Μορφολογία του ιού ηπατίτιδας Β. Μ, L,S επιφανειακές γλυκοπρωτείνες



Μορφολογία του ιού ηπατίτιδας C. E1, E2 επιφανειακές γλυκοπρωτείνες

B. Φυσική ιστορία της λοίμωξης από τον ιό της ηπατίτιδας B

1.Οξεία λοίμωξη

Ο HBV είναι ένας παρεντερικά μεταδιδόμενος ιός και ευθύνεται για τα 2/3 περίπου των περιπτώσεων οξείας κλινικής ηπατίτιδας στη χώρα μας [3,35]. Οι σημαντικότεροι τρόποι διασποράς του ιού στον Ελληνικό ενήλικο πληθυσμό είναι η γενετήσια(ετερο- ή ομοφυλοφιλική) επαφή και η παρεντερική χρήση ναρκωτικών, ενώ στον παιδικό πληθυσμό η ενδοοικογενειακή μετάδοση. Εξάλλου παρά την προσεκτική επιδημιολογική διερεύνηση, σε ένα σημαντικό ποσοστό (περίπου 1/3 των οξείων ηπατιτίδων B) δεν αποκαλύπτεται πιθανή πηγή λοίμωξης [35].

1.1 Ορολογική διάγνωση

Κατά την οξεία ηπατίτιδα B το αντιγόνο επιφανείας HBsAg είναι ο πρώτος ορολογικός δείκτης, που ανιχνεύεται 6-30 ημέρες μετά την αρχική μόλυνση, 2-8 βδομάδες πριν την έναρξη των κλινικών συμπτωμάτων και 1-5 βδομάδες προ της αύξησης των τρανσαμινασών [36]. Στις αυτοπεριοριζόμενες λοιμώξεις το HBsAg παραμένει στον ορό 1-27 βδομάδες με αποτέλεσμα σε ποσοστό 5-13% των ασθενών με οξεία ηπατίτιδα B να μην είναι δυνατή η ανίχνευση κατά την έναρξη των συμπτωμάτων (φαινόμενο της πρώιμης κάθαρσης του HBsAg) [37].

Το IgM αντι-HBc ανιχνεύεται παράλληλα με την έναρξη των συμπτωμάτων και στις αυτοπεριοριζόμενες λοιμώξεις διατηρείται 3-12 μήνες. Το IgM αντι-HBc αποτελεί το μοναδικό ειδικό δείκτη για τη διάγνωση της οξείας HBV-λοίμωξης [36]. Ο υψηλός τίτλος βέβαια και όχι η απλή ανίχνευσή του θέτει την οριστική διάγνωση της πραγματικής οξείας ηπατίτιδας B, εφόσον IgM αντι-HBc σε χαμηλούς τίτλους ανιχνεύεται συχνά και στον ορό ασθενών με χρόνια HBV-λοίμωξη [36,38]. Πρέπει να σημειωθεί ότι οι εμπορικά διαθέσιμες μέθοδοι ελέγχου του IgM αντι-HBc έχουν σχεδιαστεί έτσι ώστε να ανιχνεύουν μόνο υψηλούς τίτλους ενδεικτικούς οξείας ηπατίτιδας B [36].

Το HBeAg εμφανίζεται σχεδόν ταυτόχρονα με το HBsAg αλλά συνήθως εξαφανίζεται ταχύτερα [36]. Η πρώιμη αρνητικοποίηση του HBeAg στον ορό και η εμφάνιση αντι-HBe αντισώματος αποτελούν ασφαλή δείκτη αυτοπεριοριζόμενης HBV-λοίμωξης, ενώ η διατήρηση του HBeAg περισσότερο του τριμήνου από την χρονική περίοδο έναρξης της κλινικής νόσου αποτελεί δείκτη μετάπτωσης σε χρονιότητα [39].

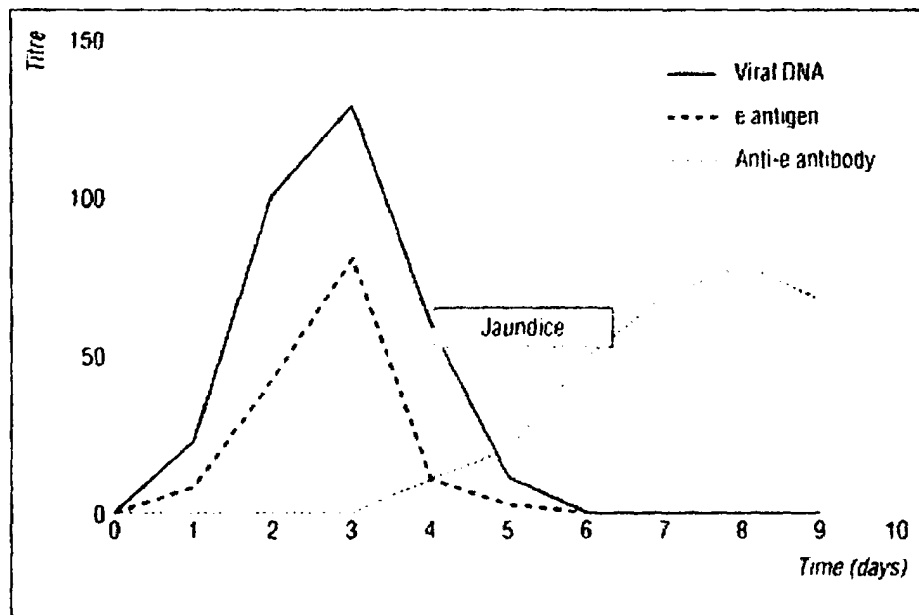
Το ολικό αντι-HBc ανιχνεύεται επίσης πρώιμα στον ορό και ο τίτλος του αυξάνεται ταχύτατα. Αρχικά είναι κυρίως IgM αλλά στη συνέχεια παρατηρείται μια σταδιακή πτώση του IgM με αντίστοιχη αύξηση του IgG. Το αντι-HBc κλάσης IgG παραμένει στον ορό εφόρου ζωής και αποτελεί τον πλέον αξιόπιστο δείκτη αποκάλυψης παρούσας ή παρελθούσας HBV-λοίμωξης [36].

Αντι-HBs αντισώματα εμφανίζονται συνήθως στον ορό περίπου δύο μήνες (0-26 εβδομάδες) μετά την εξαφάνιση του HBsAg (η γνωστή περίοδος του παραθύρου) και υποδηλώνουν ανάρρωση και ανοσία σε HBV-επαναμόλυνση [36,40]. Αντι-HBs δεν παράγονται ή παράγονται σε χαμηλούς μη ανιχνεύσιμους τίτλους σε ποσοστό 10-15% των ασθενών μετά την οξεία HBV-



λοίμωξη αλλά φαίνεται ότι και τα άτομα αυτά συνήθως διατηρούν ανοσία έναντι του ιού [40].

Οι τυπικές ορολογικές μεταβολές στην οξεία αυτοπεριοριζόμενη ηπατίτιδα Β αναλύονται περιγραφικά στην εικόνα 1.



Εικόνα 1. Τυπικές ορολογικές μεταβολές σε οξεία αυτοπεριοριζόμενη ηπατίτιδα Β

1.2 Κλινικές μορφές

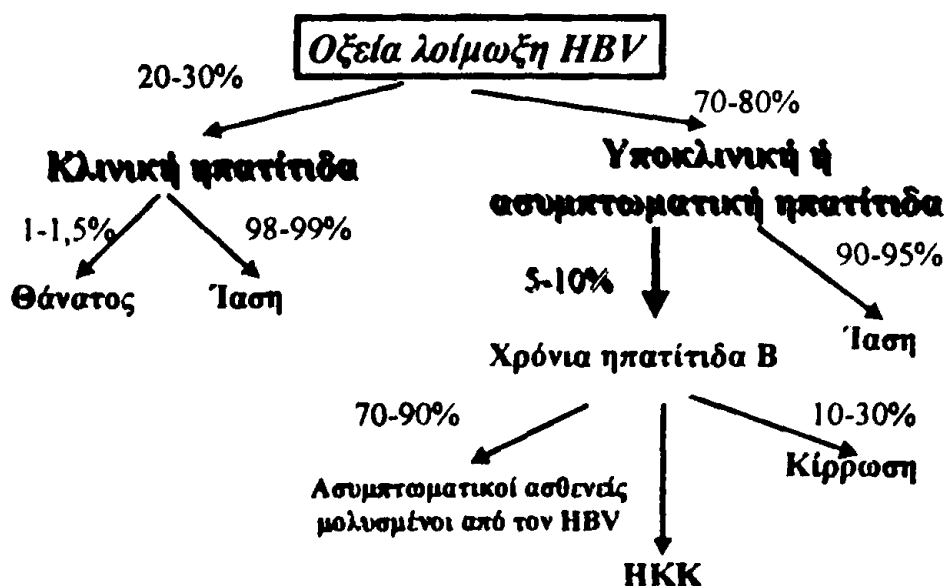
Η συνηθέστερη μορφή οξείας ηπατίτιδας Β είναι η ασυμπτωματική ή υποκλινική, που δεν συνοδεύεται από συμπτώματα και αποκαλύπτεται συνήθως σε τυχαίο ορολογικό έλεγχο, οπότε ανιχνεύονται δείκτες παρελθούσας HBV-λοίμωξης (HBsAg αρνητικό και αντι-HBc και αντι-HBs θετικά). Πιστεύεται ότι το 70-80% των οξείων ηπατιτίδων Β διαδράμει ασυμπτωματικά [41]. Στις υποκλινικές λοιμώξεις, το HBsAg εμφανίζεται στον ορό σε πολύ χαμηλή συγκέντρωση και για πολύ μικρό χρονικό διάστημα και συνήθως δεν ανιχνεύεται παρα τις επανειλημμένες εξετάσεις. Αντίθετα το αντι-HBs ανιχνεύεται ταχύτητα μετά την εμφάνιση των αντι-HBc και αντι-HBe. Η διάγνωση κατά την οξεία φάση τίθεται με την ανίχνευση του IgM αντι-HBc. Μέτρια παροδική αύξηση των τρανσαμινασών είναι δυνατόν να παρατηρηθεί. Κλινική ή συμπτωματική ηπατίτιδα, που συνήθως συνοδεύεται από ίκτερο, παρατηρείται σε ποσοστό 20-30% των περιπτώσεων οξείας HBV-λοίμωξης και χαρακτηρίζεται από παροδική νόσηση άλλοτε άλλης βαρύτητας [41]. Ένα πολύ μικρό ποσοστό από αυτές (1-1,5%) καταλήγει σε κεραυνοβόλο ηπατίτιδα [42], που σύμφωνα με τον κλασικό ορισμό των Trey και Davidson, σημαίνει εμφάνιση ηπατικής εγκεφαλοπάθειας σε ασθενή με οξεία ηπατίτιδα και χωρίς προϋπάρχουσα ηπατοπάθεια εντός 8 εβδομάδων από την έναρξη της οξείας νόσου [43]. Επιπρόσθετα, μια ακόμη μορφή βαριάς οξείας ηπατίτιδας Β έχει περιγραφεί με τον όρο βραδείας έναρξης ηπατική ανεπάρκεια ή υποξεία ηπατίτιδα, που σημαίνει εμφάνιση σημείων ηπατικής ανεπάρκειας ή ηπατικής εγκεφαλοπάθειας μετά τις πρώτες 8 εβδομάδες και εντός 6 μηνών από την έναρξη της οξείας νόσου [44]. Η χαμηλή επιβίωση (περίπου 20%) των ασθενών με κεραυνοβόλο ηπατίτιδα Β, που νοσηλεύονται σε μη εξειδικευμένα κέντρα [44], επιβάλλει την άμεση μεταφορά τους σε

εξειδικευμένες μονάδες εντατικής θεραπείας , όπου θα υπάρχει και η δυνατότητα μεταμόσχευσης ήπατος.

Οι ασθενείς με κεραυνοβόλο ηπατίτιδα Β εμφανίζουν μικρής διάρκειας HBs και HBe-αντιγοναιμία και πρώιμη εμφάνιση , σε υψηλούς τίτλους , αντισωμάτων στον ορό [42,45]. Πρόσφατα η κεραυνοβόλος ηπατίτιδα Β συσχετίστηκε με προπυρηνικά μεταλλαγμένα στελέχη του HBV και αποδόθηκε στην έλλειψη HBeAg που θεωρείται υπεύθυνο για την επίτευξη ανοσιακής ανοχής και που η απουσία του συνεπάγεται έντονη ανοσολογική αντίδραση κατά του ιού , με αποτέλεσμα βαριά ηπατοκυτταρική βλάβη[46,47]. Εντούτοις , οι παρατηρήσεις ότι λοίμωξη με προπυρηνικά μεταλλαγμένους HBV εμφανίζεται συχνότατα και σε ήπιες περιπτώσεις οξείας ηπατίτιδας Β, σε συνδυασμό με την ύπαρξη περιπτώσεων κεραυνοβόλου ηπατίτιδας Β από φυσικά στελέχη του HBV [48], θέτουν υπό αμφισβήτηση την αιτιολογική συσχέτιση των προπυρηνικών μεταλλαγμών του HBV με την κεραυνοβόλο ηπατίτιδα.

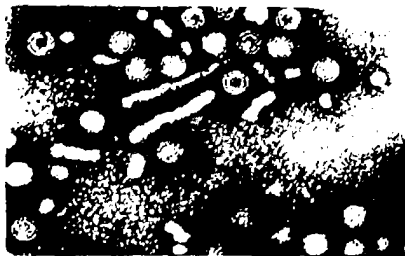
1.3 Εξέλιξη της οξείας λοίμωξης

Η οξεία ηπατίτιδα Β είναι συνήθως αυτοπεριοριζόμενη λοίμωξη και χαρακτηρίζεται από κάθαρση του ιού και ανάπτυξη προστατευτικών αντι-HBs αντισωμάτων που προσδίδουν ανοσία εφόρου ζωής. Αντίθετα εγκατάσταση χρόνιας HBV-λοίμωξης παρατηρείται μόνο σε ένα μικρό ποσοστό των μολυνθέντων ατόμων. Η εξέλιξη της οξείας HBV-λοίμωξης στους ενήλικες [41], παρουσιάζεται συνοπτικά στην εικόνα 2.



Εικόνα 2. Εξέλιξη της οξείας λοίμωξης από τον HBV στους ενήλικες





Ποικίλοι παράγοντες έχουν βρεθεί ότι επηρεάζουν τον κίνδυνο μετάπτωσης σε χρόνια φορεία του HBV. Η ηλικία κατά τη λοίμωξη θεωρείται ο σημαντικότερος καθώς 90% των νεογνών, 30% των παιδιών και μόνο 6-10% των εφήβων και ενηλίκων που μολύνονται, μεταπίπτουν σε χρονιότητα [37,49]. Πιστεύεται ότι ατέλειες του ανοσιακού συστήματος του ανθρώπου, που είναι μεγαλύτερες στα μικρότερης ηλικίας άτομα σχετίζονται με τα παραπάνω γεγονότα. Η παρουσία του HBeAg στις μητέρες φορείς του HBV επηρεάζει τόσο τη μετάδοση της λοίμωξης στα νεογνά, όσο και τη συχνότητα μετάπτωσης σε χρονιότητα. Ειδικότερα έχει παρατηρηθεί ότι το 70-90% των νεογνών HBeAg-θετικών μητέρων μολύνονται από τον ιό και ότι χρόνια λοίμωξη εγκαθίσταται στο 90% των μολυνθέντων νεογνών, ενώ στις HBeAg-αρνητικές μητέρες, τα νεογνά μολύνονται σε ποσοστό 10-40% και από αυτά μόνο 40-70% μεταπίπτουν σε χρονιότητα. [49,50].

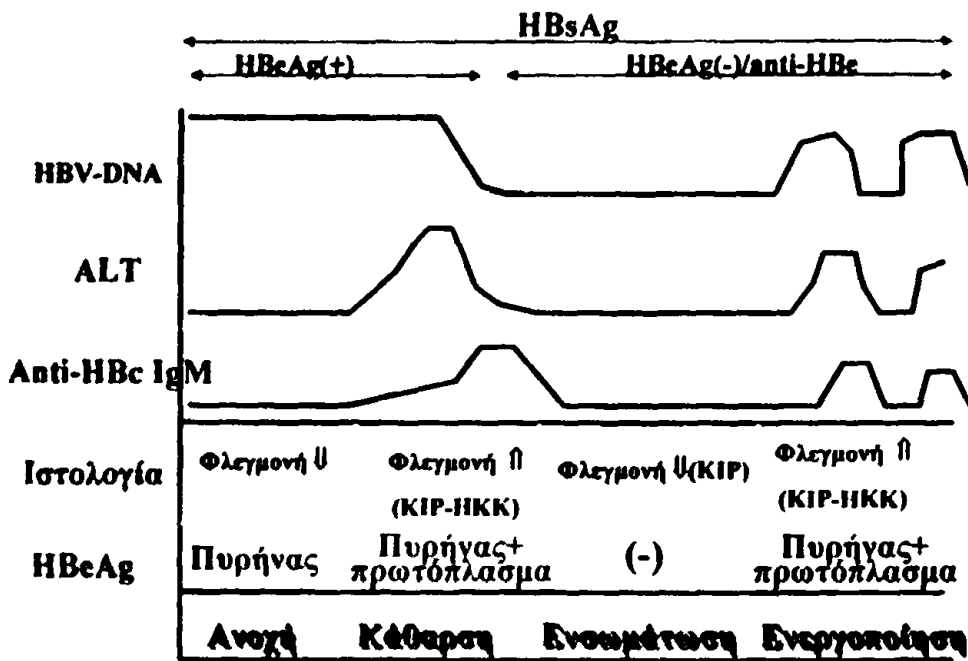
Η κλινική έκφραση της οξείας HBV-λοίμωξης και η ανοσιακή κατάσταση του ασθενούς επίσης επηρεάζουν την έκβαση της νόσου. Η οξεία κλινική ηπατίτιδα Β στους ενήλικες σπανιότατα (μικρότερο από 1%) καταλήγει σε χρονιότητα [37,51], με εξαίρεση τους χρήστες ενδοφλέβιων ναρκωτικών, τους ομοφυλόφιλους και τους ηλικιωμένους, ομάδες δηλαδή με διαταραγμένο ανοσοποιητικό σύστημα [39,52]. Αντίθετα η υποκλινική οξεία ηπατίτιδα Β στους ενήλικες, η οποία εμφανίζεται πολύ συχνότερα σε ανοσοκατασταλμένα άτομα (π.χ. νεφροπαθείς) καταλήγει σε χρονιότητα στο 5-10% των περιπτώσεων [41,53]. Η εγκατάσταση χρόνιας HBs-αντιγοναιμίας έχει βρεθεί συχνότερη στους άνδρες από ότι στις γυναίκες και στους μαύρους και στους ασιατές απ' ότι στους λευκούς [54]. Η πρόωμη αρνητικοποίηση του HBeAg θεωρείται ένδειξη αυτοπεριοριζόμενης λοίμωξης, ενώ η διατήρησή του πέραν των 10 εβδομάδων μετά από την έναρξη της οξείας ηπατίτιδας αποτελεί ισχυρή ένδειξη μετάπτωσης σε χρονιότητα. [39].

2. Χρόνια λοίμωξη

Η παραμονή του HBsAg στον ορό για περισσότερο από 6 μήνες θεωρείται το κλασικό κριτήριο διάγνωσης της χρόνιας HBV-λοίμωξης. Εξάλλου, η παρουσία HBsAg με ταυτόχρονη απουσία IgM αντι-HBc στην πράξη υποδηλώνουν χρόνια HBV-λοίμωξη καθιστώντας συνήθως περιττή την αναμονή των 6 μηνών για την τεκμηρίωση της διάγνωσης [36,40]. Στη χρόνια ηπατίτιδα Β δύο είναι οι βλαπτικοί παράγοντες για τα ηπατοκύτταρα: ο πολλαπλασιασμός του ιού και κυρίως η ανοσιακή αντίδραση του ασθενούς. Επομένως η φυσική ιστορία της χρόνιας HBV-λοίμωξης εξαρτάται από παράγοντες του ξενιστή (ηλικία, φύλο, ανοσιακή κατάσταση), αλλά και του ιού (πολλαπλασιασμός, μεταλλαγές). Στις περιπτώσεις λοίμωξης με φυσικό HBV διακρίνουμε τρεις κύριες φάσεις: (α) ανοσοανοχής ή πολλαπλασιασμού, (β) κάθαρσης ή ορομετατροπής και (γ) ενσωμάτωσης. Η εμφάνιση των προπυρηνικών μεταλλαγών στο HBV-DNA προσδίδει τη δυνατότητα στον ιό



να επανενεργοποιηθεί κατά τη φάση ενσωμάτωσης και δημιουργεί μια τέταρτη φάση της χρόνιας HBV-λοίμωξης, τη φάση της ενεργοποίησης προπυρηνικά μεταλλαγμένου HBV (εικ.3)



Εικόνα 3. Φάσεις χρόνιας λοίμωξης με τον HBV. ΚΙΡ= Κίρρωση, ΗΚΚ= Ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα.

2.1 Φάση ανοσοαντοχής ή πολλαπλασιασμού

Η αρχική φάση της χρόνιας HBV-λοίμωξης χαρακτηρίζεται από την ανοσιακή αδράνεια του ασθενούς έναντι του HBV, που πιθανότατα ευθύνεται και για τη μετάπτωση της προηγούμενης οξείας HBV-λοίμωξης σε χρόνια. Οι δομικές πρωτεΐνες του HBV θεωρούνται ισχυρά ανοσοδιεγερτικές, με το HBcAg να είναι το κυρίαρχο αντιγόνο καθώς εμφανίζει 100 φορές μεγαλύτερη ανοσοδιεγερτικότητα απ' ό,τι το HBsAg τόσο για τα Τ όσο και για τα Β-λεμφοκύτταρα, αλλά και διασταυρούμενη αντίδραση με το HBeAg. Ο HBV θεωρείται όμως, ότι επιτυγχάνει την απαραίτητη για την επιβίωση του ανοσοαντοχή με την υπερπαραγωγή HBeAg που με την κυκλοφορία φθάνει στο θύμο και επιφέρει λειτουργική καταστολή των ειδικών για τα HBeAg /HBcAg βοηθητικών Τ-λεμφοκυττάρων [55].

Κατά τη φάση της ανοσοαντοχής, ο ιός πολλαπλασιάζεται με υψηλούς ρυθμούς, ενώ η απουσία ανοσιακής αντίδρασης έχει ως αποτέλεσμα



φυσιολογικά επίπεδα τρανσαμινασών. Ο ορολογικός έλεγχος αποκαλύπτει θετικό ΗΒεΑg , υψηλά επίπεδα ΗΒV-DNA και με ειδικές ποσοτικές μεθόδους , χαμηλά επίπεδα Igm αντί-ΗΒc στον ορό. Ιστολογικώς διαπιστώνονται ήπιες αλλοιώσεις του τύπου της μη ειδικής αντιδραστικής (NSRH) ή της χρόνιας επιμένουσας ηπατίτιδας (CPH), ενώ το ΗΒcΑg ανιχνεύεται ανοσοιστοχημικά μόνο στον πυρήνα των ηπατοκυττάρων. Η χρονική διάρκεια αυτής της φάσης ποικίλλει ευρέως και κυμαίνεται από μερικούς μήνες μέχρι πολλά χρόνια[3]. Ο συνδυασμός εντόνου πολλαπλασιασμού του ιού , απουσίας ανοσιακής αντίδρασης και απουσίας σοβαρής ηπατοκυτταρικής βλάβης , αποτελεί την ισχυρότερη ένδειξη υπέρ της μη κυτταροτοξικότητας του ΗΒV και της ευθύνης της ανοσιακής επίθεσης στην καταστροφή του ηπατικού παρεγχύματος.

2.2 Φάση κάθαρσης ή ορομετατροπής

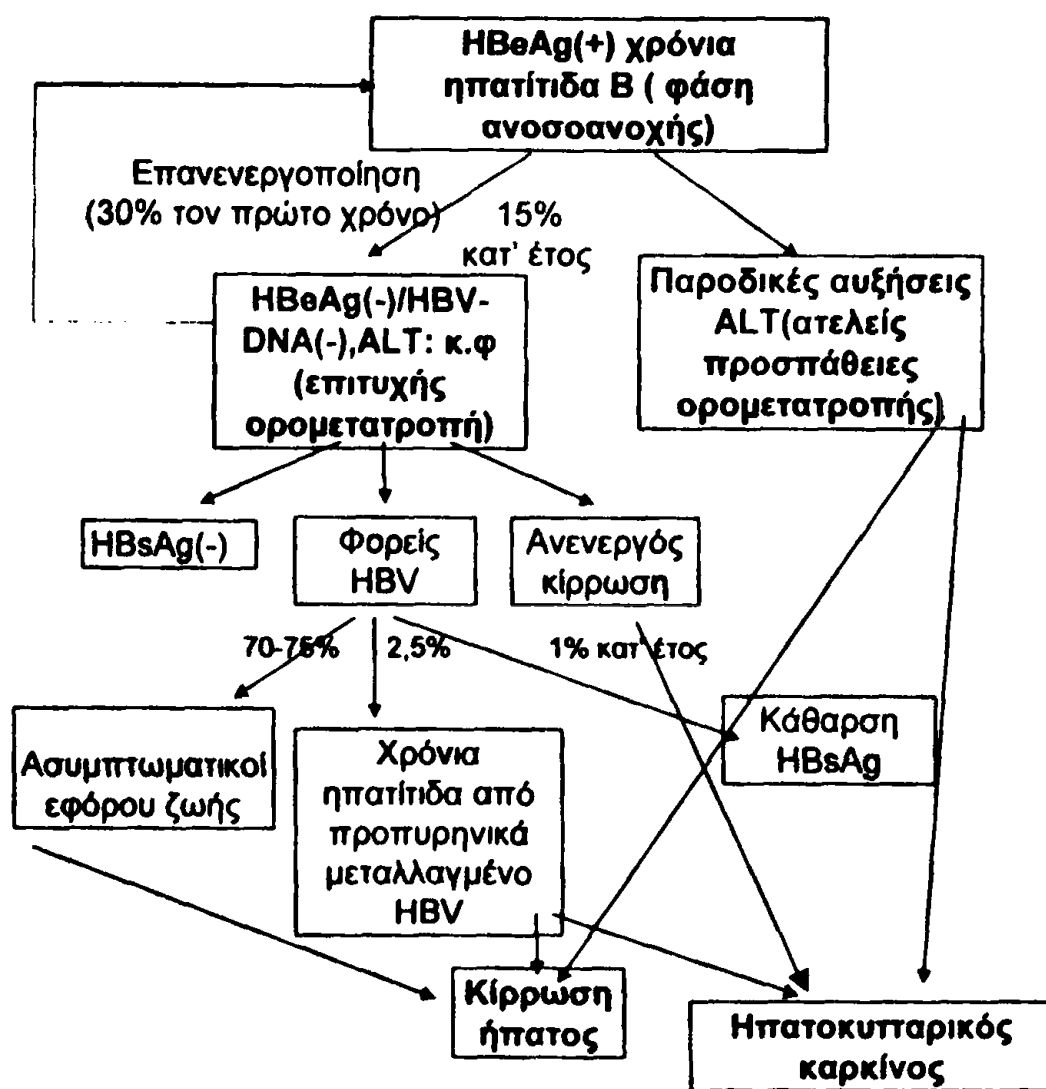
Η φάση αυτή σηματοδοτείται από τη διέγερση του ανοσιακού συστήματος , που επιδιώκει τη διακοπή του πολλαπλασιασμού και την εκρίζωση του ΗΒV. Το γεγονός που επιφέρει τη διακοπή της ανοσοανοχής δεν είναι γνωστό, αν και πιστεύεται ότι σχετίζεται με την ωρίμανση του ανοσιακού συστήματος, καθώς ορομετατροπή παρατηρείται συνήθως με την είσοδο στην ενήλικη ζωή και σπανίως κατά την παιδική ηλικία[55]. Πρόσφατα η διακοπή της ανοσοανοχής συσχετίστηκε και με την παρουσία προπυρηνικά μεταλλαγμένων στελεχών του ΗΒV , η εμφάνιση των οποίων βρέθηκε να συνοδεύεται από είσοδο σε φάση κάθαρσης[56].

Κατά τη φάση της κάθαρσης , ο ιός συνεχίζει να πολλαπλασιάζεται , αλλά το ανοσιακό σύστημα στρέφεται εναντίον των μολυσμένων ηπατοκυττάρων σε μια προσπάθεια εκρίζωσης της λοίμωξης. Η ανοσιακή αυτή επίθεση και η επακόλουθη κυτταρόλυση έχουν ως αποτέλεσμα αύξηση των επιπέδων των τρανσαμινασών που μπορεί να φθάσουν και σε τιμές οξείας ηπατίτιδας[57]. Ειδικότερα αναφέρεται ότι σημαντική αύξηση των τρανσαμινασών (>300IU/L) παρατηρείται στα 2/3 των ασθενών κατά τη φάση αυτή[58]. Το Igm αντί-ΗΒc ανιχνεύεται σε υψηλούς τίτλους στον ορό , φθάνοντας και σε επίπεδα διαγνωστικά ηπατίτιδας[59], ενώ το ΗΒcΑg ανιχνεύεται τόσο στον πυρήνα όσο και στο πρωτόπλασμα των ηπατοκυττάρων. Ιστολογικώς διαπιστώνονται αλλοιώσεις του τύπου της οξείας ηπατίτιδας ή χρόνιας λοβιδιακής (CLH) ή χρόνιας ενεργού ηπατίτιδας(CAH), αλλά και ενεργού κίρρωσης (ACi) [57,60]. Σταδιακά , ο πολλαπλασιασμός του ιού εξασθενεί και τα επίπεδα του ΗΒV-DNA στον ορό ελαττώνονται. Εφόσον η ανοσιακή αντίδραση του ασθενούς είναι ικανοποιητική , το ΗΒV-DNA εξαφανίζεται από τον ορό , το ΗΒeΑg αρνητικοποιείται και είτε άμεσα είτε μετά από κάποιο χρονικό διάστημα (παράθυρο του e) , που κυμαίνεται από 3 μήνες μέχρι 3 χρόνια[61], εμφανίζεται αντι- ΗΒe στον ορό (επιτυχής ορομετατροπή). Παράλληλα , οι τρανσαμινάσες σύντομα υποχωρούν σε φυσιολογικά επίπεδα και ακολουθεί η φάση ενσωμάτωσης του ΗΒV. Στις περιπτώσεις με πολύ έντονη ανοσιακή αντίδραση , όπου η ορομετατροπή εκδηλώνεται κλινικά με χαρακτηριστικά οξείας ηπατίτιδας , η έκβαση της λοίμωξης είναι συχνά ευνοϊκή , αφού επέρχεται κάθαρση του ΗΒsΑg τουλάχιστον στο 50% των περιπτώσεων[61].

Ορομετατροπή θεωρείται ότι συμβαίνει ετησίως σε 15-20% των ασθενών που βρίσκονται σε φάση ανοσοανοχής[57]. Η διάρκεια της ορομετατροπής συνήθως κυμαίνεται από εβδομάδες μέχρι μήνες και είναι η περίοδος κατά την



οποία προκαλούνται οι σοβαρότερες ιστολογικές βλάβες. Η αντίδραση του ανοσιακού συστήματος μερικές φορές μπορεί να διαρκέσει και χρόνια, εφόσον δεν επαρκεί για να επιτύχει διακοπή του πολλαπλασιασμού του HBV, με αποτέλεσμα διατήρηση του HBV-DNA και του HBeAg στον ορό (ατελής ορομετατροπή) και κυμαινόμενα επίπεδα τρανσαμινασών[63]. Η συνεχιζόμενη επί μακρόν ανεπαρκής ανοσιακή αντίδραση ή τα επαναλαμβανόμενα επεισόδια ατελούς ορομετατροπής επιφέρουν ολοένα και μεγαλύτερη ηπατοκυτταρική καταστροφή και συνδέονται στενά με την εγκατάσταση κίρρωσης και την ανάπτυξη ηπατοκυτταρικού καρκίνου (εικ.4) [63,64]



Εικόνα 4. Εξέλιξη της χρόνιας λοίμωξης από τον HBV

2.3 Φάση ενσωμάτωσης

Η φάση ενσωμάτωσης αποτελεί μια ήρεμη, συνήθως μακροχρόνια φάση κατά την οποία ο ιός παραμένει αδρανής και το HBV-DNA δεν ανιχνεύεται με



τις συνήθεις μεθόδους (κηλίδας ή υβριδισμού) στον ορό, αλλά διατηρείται ενσωματωμένο στο DNA των ηπατοκυττάρων. Εντούτοις, χαμηλά επίπεδα ιαμίας φαίνεται ότι μπορεί να υπάρχουν, καθώς HBV-DNA ανιχνεύεται συχνά στον ορό και σχεδόν πάντα στο ήπαρ με την αλυσωτή αντίδραση πολυμεράσης(PCR)[65]. Οι τρανσαμινάσες είναι φυσιολογικές, το HBeAg αρνητικό και το αντι-HBe συνήθως θετικό στον ορό και το HBcAg μη ανιχνεύσιμο στα ηπατοκύτταρα[66]. Το IgM αντι-HBc δεν ανιχνεύεται ή ανιχνεύεται σε πολύ χαμηλούς τίτλους στον ορό. Ιστολογικά, επέρχεται ύφεση των βλαβών που είχαν δημιουργηθεί κατά την προηγούμενη φάση και διαπιστώνονται ήπιες αλλοιώσεις που κυμαίνονται από σχεδόν φυσιολογικό ήπαρ ή NSRH μέχρι CPH, αλλά σπανίως και ανενεργός κίρρωση (ICi), στις περιπτώσεις όπου είχε εγκατασταθεί κίρρωση κατά τη φάση της ορομετατροπής[66]. Οι ασθενείς με ελάχιστες ιστολογικές αλλοιώσεις σε αυτή τη φάση αποτελούν τους γνωστούς «φορείς» του HBsAg ή του HBV, στους οποίους η παρουσία του HBsAg στον ορό αποτελεί τη μόνη ένδειξη HBV-λοίμωξης. Στη συνέχεια ο όρος «φορέας του HBsAg ή του HBV» θα χρησιμοποιείται μόνο γι'αυτή τη συγκεκριμένη ομάδα, δηλαδή τα άτομα - ασθενείς που βρίσκονται στη φάση ενσωμάτωσης και έχουν σταθερά φυσιολογικές τρανσαμινάσες και καθόλου ή ελάχιστες ιστολογικές αλλοιώσεις.

Η εξέλιξη των φορέων του HBV ποικίλει και τα άτομα αυτά μπορεί: (α) να παρουσιάσουν επανενεργοποίηση της χρόνιας ηπατίτιδας από το φυσικό HBV, (β) να παραμείνουν ασυμπτωματικοί φορείς εφόρου ζωής, (γ) να εμφανίσουν χρόνια ηπατίτιδα από προπυρηνικά μεταλλαγμένο HBV και (δ) να αρνητικοποιήσουν το HBsAg (εικ.4)

Επανενεργοποίηση της χρόνιας ηπατίτιδας B με επανεμφάνιση HBeAg και HBV-DNA στον ορό παρατηρείται στο 1/3 των ασθενών που αρνητικοποιούν το HBeAg, συνήθως κατά τη διάρκεια του πρώτου χρόνου μετά την επίτευξη ορομετατροπής και είναι συχνότερη στους ηλικιωμένους, στους ασθενείς με μακροχρόνια λοίμωξη και στους κίρρωτικούς[67]. Επανενεργοποίηση του φυσικού στελέχους του HBV μετά τον πρώτο χρόνο από την ορομετατροπή είναι σπάνια και συνήθως εμφανίζεται σε άτομα με πρόσφατη ανοσοκαταστολή (φαρμακευτική, λοίμωξη με τον ιό της ανοσοανεπάρκειας του ανθρώπου HIV)[68].

Τα 3/4 περίπου των φορέων του HBV, που δεν θα παρουσιάσουν επανενεργοποίηση τον πρώτο χρόνο μετά την ορομετατροπή, παραμένουν σε βιοχημική και ιστολογική ύφεση επί μακρόν και η πρόγνωση, τουλάχιστον μεσοπρόθεσμα, θεωρείται άριστη[69]. Εντούτοις, η πιθανότητα επανεμφάνισης χρόνιας ηπατίτιδας στο 1/4 περίπου από αυτούς καθιστά απαραίτητη την τακτική παρακολούθησή τους με ανά εξάμηνο έλεγχο των τρανσαμινασών. Τελευταία προτείνεται και ο έλεγχος του IgM αντι-HBc με ποσοτικές μεθόδους, καθώς και η έστω μικρή αύξησή του θεωρείται ότι αποτελεί αντισωματική απάντηση του ανοσιακού συστήματος σε πολλαπλασιασμό του ιού και κατά συνέπεια ένδειξη παροδικά ενεργού νόσου που μπορεί να μη διαπιστωθεί με τον εξαμηνιαίο έλεγχο των τρανσαμινασών. Ειδικότερα, θεωρείται ότι τιμές του IgM αντι-HBc (με μικροσωματιδιακή ανοσοενζυμική μεθοδολογία σε Imx αναλυτή) μεγαλύτερες από 0,400 υποδεικνύουν ενεργοποίηση του ιού κατά το τελευταίο εξάμηνο [70,71] και κατά συνέπεια ένα HBsAg-θετικό/HBeAg-θετικό άτομο για να θεωρείται απλός



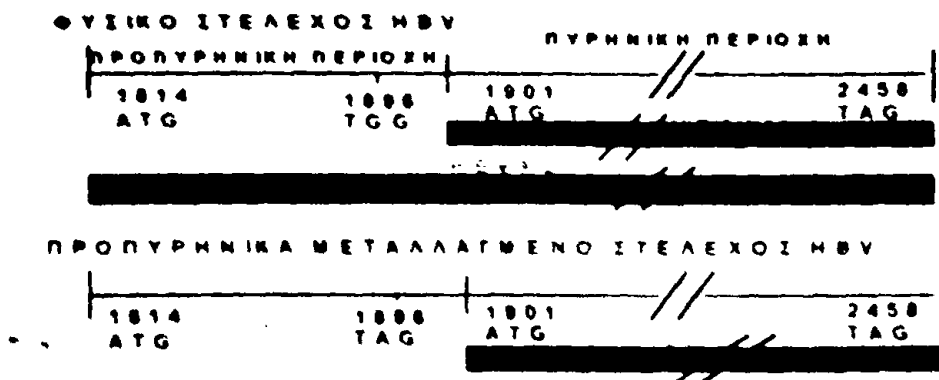
φορέας του HBV, πρέπει να διατηρεί και το IgM αντι-HBc σε τίτλο χαμηλότερο από 0,400.

Αρνητικοποίηση του HBsAg αναφέρεται ότι συμβαίνει ετησίως σε 1-2% των φορέων σε χώρες χαμηλής ενδημικότητας για τον HBV[72], όπου η λοίμωξη επέρχεται κατά την ενήλικη ζωή, και σε μικρότερο του 1% των φορέων σε χώρες υψηλής ενδημικότητας[73], όπου η λοίμωξη επέρχεται κατά τη νεογνική, νηπιακή ή πρώτη παιδική ηλικία. Κάθαρση του HBsAg θεωρείται ότι συμβαίνει συχνότερα σε άτομα που μολύνονται σε μεγάλη ηλικία και που εμφανίζουν υψηλότερα επίπεδα τρανσαμινασών και βαρύτερη ιστολογικά νόσο (ισχυρότερη αντίδραση του ανοσιακού συστήματος) και σπανιότερα στα τέκνα μητέρων φορέων του ιού[73]. Η κάθαρση του HBsAg συνήθως συνοδεύεται από πλήρη βιοχημική και ιστολογική ηρεμία , αλλά HBV-DNA συχνά ανιχνεύεται με PCR στον ορό και σχεδόν πάντα στο ήπαρ [71,74], ενώ έχει αναφερθεί και εμφάνιση ηπατοκυτταρικού καρκίνου σε τέτοιους ασθενείς [74].

2.4 Φάση ενεργοποίησης προπυρηνικά μεταλλαγμένου HBV

Η χρόνια ηπατίτιδα από προπυρηνικά μεταλλαγμένο HBV αποτελεί την κυρίαρχη μορφή χρόνιας ηπατίτιδας Β στις χώρες της Μεσογείου και Απω Ανατολής και χαρακτηρίζεται από αρνητικό HBeAg/θετικό αντι-HBe, θετικό HBV-DNA στον ορό και κυμαινόμενες τιμές τρανσαμινασών[56,75]. Η συχνότερη σημειακή μεταλλαγή στην προπυρηνική περιοχή του γονιδίου core του ιού είναι η αντικατάσταση της γουανιδίνης από αδενίνη στη θέση 1896 με αποτέλεσμα τη δημιουργία ενός κωδικόνιου τερματισμού (TAG) και διακοπή της παραγωγής HBeAg , αλλά διατήρηση της δυνατότητας παραγωγής HBcAg , πρωτεΐνης απαραίτητης για το βιολογικό κύκλο του ιού (εικ.5) [75]. Συχνά ανιχνεύονται μεταλλαγές και σε άλλες θέσεις της προπυρηνικής περιοχής , αλλά η μεταλλαγή στη θέση 1896 είναι η συχνότερη και η καλύτερα μελετημένη και η αναφορά σε προπυρηνικά μεταλλαγμένα στελέχη του HBV αφορά στελέχη με αυτή τη μεταλλαγή.

Εικόνα 5 σχηματική αναπαράσταση της πυρηνικής και προπυρηνικής περιοχής του HBV-DNA και των προϊόντων τους σε φυσικό και προπυρηνικά μεταλλαγμένο στη θέση 1896 στέλεχος του ιού της ηπατίτιδας Β. ATG: Κωδικόνιο έναρξης TAG: Κωδικόνιο τερματισμού.



Ο μεταλλαγμένος HBV, αν και έχει τη δυνατότητα μετάδοσης , εμφανίζεται κυρίως κατά την πορεία της χρόνιας λοίμωξης και ειδικότερα κατά τη φάση της



ορομετατροπής [56]. Η συχνή παρουσία τέτοιων στελεχών στους ενήλικες με χρόνια ηπατίτιδα Β στις χώρες της μεσογείου και Νοτιοανατολικής Ασίας και η απουσία τους στις χώρες της Βόρειας και Κεντρικής Ευρώπης και Βόρειας Αμερικής, μάλλον οφείλεται στη διαφορετική διάρκεια της λοίμωξης, καθώς στην πρώτη περίπτωση η λοίμωξη επέρχεται κατά τον τοκετό και τη νεογνική ή πρώτη παιδική ηλικία, ενώ στη δεύτερη περίπτωση η λοίμωξη συμβαίνει κατά την ενήλικη ζωή. Επομένως φαίνεται ότι ο προπυρηνικά μεταλλαγμένος HBV εμφανίζεται κατά την πορεία της χρόνιας HBV-λοίμωξης και συνήθως κατά τη φάση της ορομετατροπής, φάση έντονης ανοσιακής διέγερσης του ξενιστή και αποτελεί πραγματικό στέλεχος διαφυγής. Τα πυρηνοκαψιδικά αντιγόνα του HBV, HBcAg και HBeAg, αποτελούν τους κύριους στόχους των ενεργοποιημένων T-λεμφοκυττάρων [76], και η διακοπή της παραγωγής HBeAg ίσως προσδίδει στον ιό τη δυνατότητα διαφυγής από την ανοσιακή επίθεση του ξενιστή που κυρίως εκδηλώνεται κατά τη φάση της ορομετατροπής. Προπυρηνικά μεταλλαγμένα στελέχη του HBV ανιχνεύονται μαζί με φυσικά στελέχη και στον ορό HBeAg-θετικών ασθενών, οδηγώντας σταδιακά σε πλήρη και μη αναστρέψιμη αντικατάσταση των φυσικών στελεχών του ιού.[77]

Η εμφάνιση προπυρηνικά μεταλλαγμένων HBV έχει συνδεθεί με ενεργό ηπατική νόσο και βαριές ιστολογικές αλλοιώσεις του ηπατικού παρεγχύματος του τύπου της CAH και /ή Ci. [56,75,78] Εξάλλου, προπυρηνικά μεταλλαγμένα στελέχη του HBV ανιχνεύονται και σε αντι-HBe-θετικούς ασθενείς με φυσιολογικά επίπεδα τρανσαμινασών και ανενεργό, ιστολογικά νόσο. [79] Επομένως η εμφάνιση προπυρηνικά μεταλλαγμένων στελεχών του HBV κατά ή μετά την ορομετατροπή συνδέεται είτε με ενεργό νόσο είτε με ασυμπτωματική φορία του HBV και της βαριάς χρόνιας ηπατοπάθειας, που συχνά παρατηρείται στους αντι-HBe-θετικούς ασθενείς. Η έρευνα στρέφεται τελευταία στην ανάλυση της αλληλουχίας των νουκλεοτιδίων και άλλων τμημάτων του HBV-DNA, με σκοπό την αποκάλυψη άλλων πιθανών μεταλλαγών ικανών να ερμηνεύσουν την αναμφισβήτητα σοβαρή και συχνά ταχέως εξελισσόμενη ηπατική νόσο των αντι-HBe-θετικών ασθενών. Πρόσφατα δεδομένα υποδεικνύουν τη σημασία της πυρηνικής περιοχής του HBV-DNA, καθώς συρρέουσες μεταλλαγές σε τμήμα αυτής (κωδικόνια 84-101) βρέθηκαν σε ασθενείς με προχωρημένη ηπατική νόσο, ενώ αντίστοιχες μεταλλαγές δεν παρατηρήθηκαν σε ασυμπτωματικούς φορείς του HBV.[80,81] Επιπρόσθετα έχει παρατηρηθεί ότι μετά από κάθε νέο επεισόδιο ενεργοποίησης του ιού, συσσωρεύονται και νέες μεταλλαγές στην πυρηνική περιοχή. [81]

Γ. Φυσική ιστορία της λοίμωξης από τον ιό της ηπατίτιδας Δέλτα (HDV)

1. Ο παράγοντας Δέλτα

Ο HDV είναι ένας ελλειμματικός RNA ιός διαμέτρου 36 nm, ο οποίος απαιτεί την παρουσία του HBV για να πολλαπλασιασθεί και χρησιμοποιεί τις πρωτεΐνες επιφανείας του HBV για τη δημιουργία ενός περιβλήματος για το δέλτα ιικό σωματίδιο (virion)[82,83]. Το γονιδίωμα του ιού δέλτα είναι μια μικρή απλή έλικα RNA, που κωδικογραφεί για το δέλτα αντιγόνο (HDAg) [82]. Περιγράφηκε αρχικά από τους Rizzeto et al στο Τουρίνο το 1977 [84]. Τελευταίες παρατηρήσεις Ιαπώνων [85,86] έχουν δείξει ότι υπάρχουν δύο ενδοκυτταρικές μορφές HDAg: το μικρό HDAg(195 αμινοξέα), απαραίτητο για



τη σύνθεση του HDV-RNA και το μεγάλο HDAg(214 αμινοξέα) , το οποίο αναστέλλει τη σύνθεση RNA και είναι απαραίτητο για την οργάνωση του σωματιδίου του ιού. Για τον πολλαπλασιασμό του ο ιός δέλτα έχει ανάγκη από το περίβλημα του HBV , διότι ο ίδιος δεν διαθέτει δικό του. Χρησιμοποιεί λοιπόν για περίβλημά τα πεπτιδία επιφανείας του HBV , δηλαδή το HBsAg [87]. Ο μειονεκτικός αυτός ιός είναι παθογόνος και μπορεί να προκαλέσει στον άνθρωπο οξεία , ενίοτε και κεραυνοβόλο ηπατίτιδα , αλλά και χρόνια εξελισσόμενη ηπατική νόσο. Σε αντίθεση με τους Pico-RNA ιούς , που έχουν πρωτοπλασματική εντόπιση , ο ιός Δέλτα εντοπίζεται στον πυρήνα του ηπατοκυττάρου. Η καθιερωμένη θεωρία της απαραίτητης παρουσίας του HBV για την επιβίωση του ιού Δέλτα έχει κάπως κλονισθεί με νεότερες παρατηρήσεις

σε χιμπατζήδες και σε άτομα που υποβλήθηκαν σε ηπατική μεταμόσχευση λόγω κίρρωσης τύπου B+D. Ο ιός Δέλτα επαναμολύνει το μόσχευμα , προφανώς από εξωηπατικά «reservoirs», χωρίς να προκαλεί κλινική ηπατίτιδα , η οποία όμως εκδηλώνεται όταν υποτροπιάσει η λοίμωξη από τον HBV[88].

1.1 Επιδημιολογία

Η διασπορά του ιού Δέλτα είναι σχεδόν παγκόσμια και ακολουθεί εκείνη του HBV. Η συχνότητα ανεύρεσης του αντι-HD αντισώματος , το οποίο αποτελεί δείκτη μόλυνσης και ο επιπολασμός της νόσου κυμαίνεται από 0-60% μεταξύ των χρόνιων φορέων του HBV. Σε περιοχές όπου ο HBV έχει χαμηλή ενδημικότητα , η λοίμωξη από τον ιό δέλτα περιορίζεται σε ορισμένες ομάδες πληθυσμού (τοξικομανείς , αιμορροφιλικούς, αιμοκαθαιρόμενους , πολυμεταγγιζόμενους)[89]. Σε χώρες με υψηλό ή ενδιάμεσο επιπολασμό της HBV όπως π.χ. οι χώρες της ΝΑ Ασίας , Ν.Αμερικής , Ανατ.Ευρώπης και της Μεσογείου και ιδιαίτερα στην Ιταλία και στην Ελλάδα , ο ιός Δέλτα ενδημεί , αλλά η ενδημικότητά του δεν είναι παράλληλη με εκείνη του HBV . Δηλαδή , δπλή HBV και HDV λοίμωξη είναι σπάνια στις χώρες της Άπω Ανατολής και η γεωγραφική κατανομή σε διάφορα σημεία κάθε χώρας διαφέρει , π.χ. η Νότια Ιταλία έχει πολύ μεγαλύτερο επιπολασμό ηπατίτιδας Δέλτα από τη Βόρεια. Από επιδημιολογικές μελέτες στον Ελληνικό χώρο έχει αποδειχθεί ότι υπάρχουν ενδημικές περιοχές [90].

Η μετάδοση γίνεται κυρίως δια της παρεντερικής οδού με παρόμοιους της HBV μηχανισμούς και εξαρτάται από τις ομάδες μεγάλου κινδύνου για HBV , που υπάρχουν σε κάθε χώρα. Ο επιπολασμός της ηπατίτιδας Δέλτα είναι πολύ υψηλός μεταξύ των χρηστών ενδοφλέβιων ουσιών (50-70%) και των αιμορροφιλικών (33%)[91] ενώ μεταξύ των αιμοκαθαιρόμενων και των μεταγγιζόμενων ασθενών είναι χαμηλότερος. Η σεξουαλική οδός δεν φαίνεται να ευθύνεται συχνά. Η ενδοοικογενειακή διασπορά είναι συνήθως οριζόντια (συνήθως μεταξύ αδελφών) και σπανίως κάθετη. Εξάλλου η ηπατίτιδα Δέλτα μετά από μετάγγιση είναι σπάνια(1/3000) [92] λόγω του λεπτομερούς ελέγχου όλων των αιμοδοτών ως προς το HBsAg.

1.2 Διάγνωση και κλινική πορεία.

Η ανίχνευση του HDV-RNA ή του HDAg στον ορό ή στον ηπατικό ιστό επιβεβαιώνει την παρουσία ενεργού HDV λοίμωξης, αν και οι δείκτες αυτοί μπορούν να απουσιάζουν από τον ορό σε περπτώσεις κεραυνοβόλου ηπατίτιδας D. Ο έλεγχος για τον HDV στηρίζεται κυρίως στην ανίχνευση των αντι-HD αντισωμάτων στον ορό. Τα IgM αντι-HD αντισώματα αποτελούν δείκτη ενεργού ηπατίτιδας Δέλτα. [91] Σε ασυμπτωματικούς φορείς του HBV ,



η HDV επιλοίμωξη μπορεί να εκληφθεί λανθασμένα ως οξεία ηπατίτιδα Β ή παρόξυνση (exacerbation) χρόνιας ηπατίτιδας Β. Το άτυπο ορολογικό προφίλ όμως -η απουσία IgM αντι-HBc και η παρουσία του αντι-HBe παρά του HBeAg -ενοχοποιεί τον δέλτα παράγοντα ως το πιθανό αίτιο της ηπατίτιδας, που στη συνέχεια επιβεβαιώνεται από τα θετικά ορολογικά ευρήματα για HDV λοίμωξη. Ο ενεργά πολλαπλασιαζόμενος HDV συνήθως καταστέλλει των πολλαπλασιασμό του HBV, σε σημείο που το HBsAg να μην είναι πλέον ανιχνεύσιμο, ενώ ενδέχεται να παρουσιασθεί πρόσκαιρα στον ορό το αντι-HBs μέχρι να τερματισθεί η ενεργός φάση της HDV λοίμωξης.

1.3 Οξεία σύγχρονη λοίμωξη : οξεία B+D

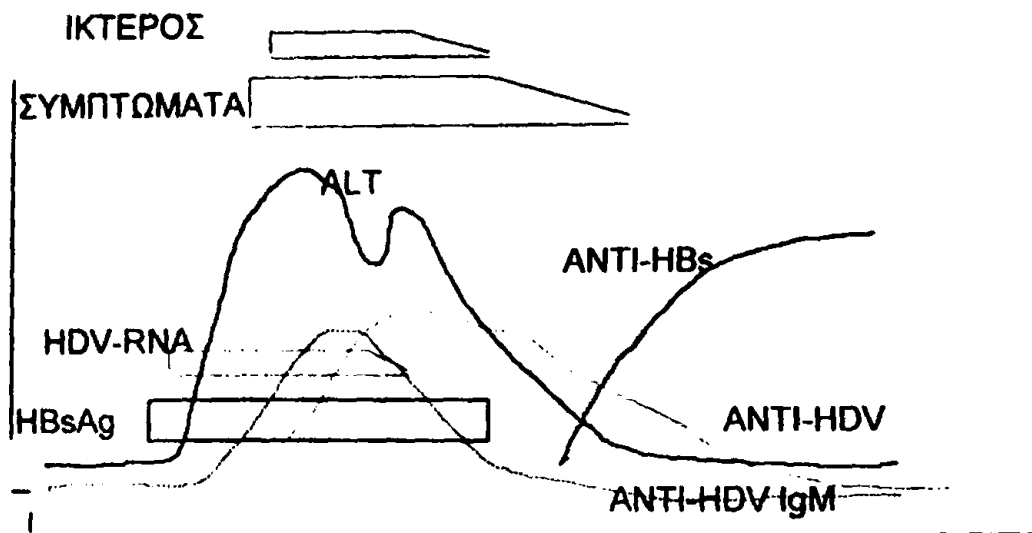
Η μόλυνση από τον HDV συνήθως προκαλεί κλινική νόσο και η πορεία της εξαρτάται από την ανοσολογική (ανοσιακή) κατάσταση και την ύπαρξη προηγούμενης έκθεσης του ασθενούς στον HBV. Σε περίπτωση συν-λοίμωξης, η σύγχρονη ηπατική προσβολή από τους ιούς HBV και HDV προκαλεί βαριά οξεία ηπατοκυτταρική βλάβη, επιδεινώνει συνήθως την πορεία της οξείας ηπατίτιδας, η οποία είναι συχνά διφασική και επιβαρύνει την πρόγνωση. Είναι γνωστή η μεγαλύτερη συχνότητα κεραυνοβόλου ηπατίτιδας σε περίπτωση συν-λοίμωξης B+Δέλτα(2-75%). Σε Ελληνικές μελέτες αναφέρεται συνύπαρξη Δέλτα λοίμωξης στο 53% των κρουσμάτων κεραυνοβόλου ηπατίτιδας Β [93,94] Η εξέλιξη προς χρονιότητα είναι σπάνια και συνήθως οι ασθενείς παρουσιάζουν αυτόματη βελτίωση και τελικώς ίαση χωρίς χρόνιες διαταραχές. Επειδή η κλινική εικόνα της οξείας ηπατίτιδας Β δεν διαφέρει σημαντικά από τη δπλή B+Δέλτα οξεία νόσο, η διάγνωση στηρίζεται σε εργαστηριακά δεδομένα και ειδικότερα σε ορολογικούς δείκτες, οι οποίοι αναφέρονται αναλυτικά στον πίνακα 1. και στις εικόνες 6 και 7.

Ο ίκτερος και τα άλλα συμπτώματα, όταν υπάρχουν συμβαδίζουν με την αύξηση των αμινοτρανσφερασών και την ανεύρεση HBsAg, HDV-RNA αντι-HD και αντι-HDIgM, αλλά και αντι-HBcIgM, που επιβεβαιώνει το πρόσφατο και των δύο μολύνσεων. Επειδή όμως η εμφάνιση αντι-HD καθυστερεί, είναι σκόπιμος ο έλεγχος στην αρχική φάση και στη φάση αποδρομής των συμπτωμάτων. Νεώτερα αλλά όχι πάντα διαθέσιμα tests για την έγκαιρη και έγκυρη διάγνωση της δέλτα λοίμωξης είναι η ανίχνευση HDAg και HDV-RNA στον ορό, που θετικοποιούνται στα πρώιμα στάδια της B+Δέλτα λοίμωξης. [95]

Πίνακας 1: Διάγνωση της οξείας και χρόνιας ηπατίτιδας Δ

Οξεία συν-λοίμωξη B+Δ	αντι-HBc IgM(+) αντι-HD IgM(+) HBsAg(+)
Οξεία επιλοίμωξη Δ	αντι- HBc IgM(-) αντι-HD IgM(+) HBsAg(+) αντι-HBcIgG(+)
Χρόνια λοίμωξη Δ	αντι-HD(+) αντι-HD IgM(+) HBsAg(+) αντι-HBc IgG(+)





Εικόνα 6. Κλινική πορεία και ορολογική διάγνωση της οξείας συν-λοίμωξης Β και Δ.

1.4 Επιλοίμωξη : Χρόνια ηπατίτιδα Β+Δ

Η επι-λοίμωξη από τον ιό Δέλτα μετατρέπει τον ασυμπτωματικό φορέα του HBV σε συμπτωματικό. Αυτό συμβαίνει πολύ συχνά σε τοξικομανείς χρόνιους φορείς HBV. Η ορολογική διάγνωση τίθεται με την παρουσία αντι-HDIgM χωρίς σύγχρονη ανίχνευση του αντι-HBcIgM, ενώ συνήθως συνυπάρχει αντι-HBe. Η είσοδος του ιού Δέλτα τροποποιεί το ρυθμό πολλαπλασιασμού του HBV, αρνητικοποιεί συνήθως το HBV-DNA και το HBeAg και πολύ σπάνια καταλήγει σε κάθαρση και του HBsAg, η οποία συνεπάγεται βέβαια και ίαση από τον ιό Δέλτα [96]. Στις περιπτώσεις επιλοίμωξης, η μετάπτωση σε χρονιότητα είναι συχνή και συνεπάγεται εξελικτική ηπατοπάθεια, που καταλήγει πολύ συχνά σε κίρρωση. Η παρακολούθηση των χρόνιων φορέων των ιών Β+Δέλτα έχει δείξει ότι το 50-70% εξελίσσονται βραδέως προς κίρρωση, το 20-25% έχουν ταχεία δυσμενή εξέλιξη, ενώ το 20% έχουν καλοήγη πορεία. [97]

Η κλινική και ιστολογική εικόνα της χρόνιας Β+δέλτα ηπατίτιδας δεν διαφέρουν σημαντικά από τις άλλες ιογενείς χρόνιες ηπατίτιδες, αξίζει όμως να σημειωθεί η σημαντική σπληνομεγαλία που έχει παρατηρηθεί κυρίως σε ασθενείς από την Ιταλία και την Ελλάδα. [98]

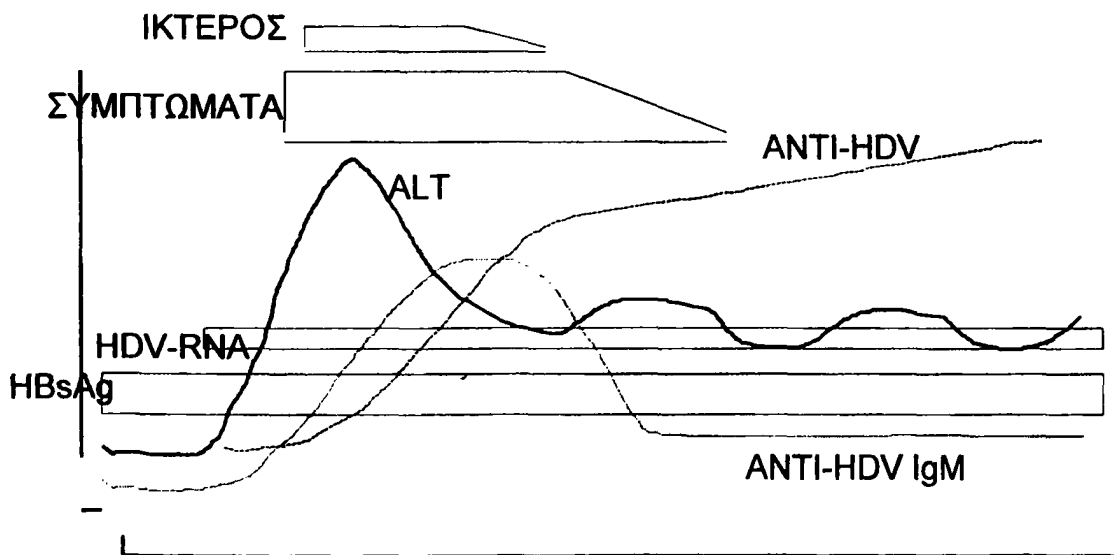
Η ορολογική εικόνα της χρόνιας Β+Δέλτα λοίμωξης περιλαμβάνει τους αναφερθέντες δείκτες πλήν του αντι-HBcIgM και την ανεύρεση αντι-HD επί 6 μήνες τουλάχιστον, ενώ συνυπάρχουν και τα κλινικά και ιστολογικά ευρήματα της χρόνιας ηπατίτιδας. Η επιβεβαίωση της διάγνωσης περιλαμβάνει την ανίχνευση δεικτών ενεργού πολλαπλασιασμού του HDV όπως το HDV-RNA, HDAg και αντι-HDIgM, καθώς και την ιστοχημική ή μοριακή ανίχνευση HDAg ή/και HDV-RNA στον ηπατικό ιστό. [95]

Η αρχική άποψη της υποχρεωτικής παρουσίας του HBV προκειμένου να πολλαπλασιασθεί και να επικήσει ο HDV, δεν έχει καθολική ισχύ, τουλάχιστον στο πειραματικό πρότυπο του χιμπατζή, αλλά και μετά από μεταμόσχευση ατόμου με Β+Δέλτα λοίμωξη. Πιθανώς, ο παθογενετικός



μηχανισμός του βοηθητικού (helper) HBV προς το μειονεκτικό HDV, ο οποίος πολλαπλασιάζεται εις βάρος του HBV, να ισχύει και αντιστρόφως: Η λανθάνουσα λ.χ. HDV λοίμωξη στον ανοσοκατασταλμένο δέκτη αναζωπυρώνεται όταν συμβεί επιλοίμωξη από τον HBV, με συνέπεια διπλή μόλυνση του ηπατικού μοσχεύματος. [99,100]

Σημαντικός λοιπόν ο ρόλος του ιού Δέλτα στις χρόνιες ηπατοπάθειες και η σημασία της έγκαιρης διάγνωσης της διπλής μόλυνσης. Προτείνεται η καθιέρωση ελέγχου ως προς αντι- HDV κάθε χρόνιου φορέα HBV, ο οποίος πρέπει να επαναλαμβάνεται σε περίπτωση βιοχημικής παρόξυνσης της νόσου ή κατά τακτά χρονικά διαστήματα σε ομάδες μεγάλου κινδύνου, όπως είναι οι χρήστες ενδοφλέβιων ουσιών.



Εικόνα 7: Κλινική πορεία και ορολογική διάγνωση της οξείας επιλοίμωξης Δ

Δ. Φυσική ιστορία της λοίμωξης από τον ιό της ηπατίτιδας C

1. Γενικά για τον HCV

Ο HCV είναι ένας μικρού μεγέθους ιός (αναγνωρίστηκε το 1989) [101], ο οποίος φέρει μονόκλωνο RNA και περίβλημα που περιέχει λιπιδείδη. Έχει ταξινομηθεί στους Flaviviridae, ένα γένος της οικογένειας Togaviridae. Μεταξύ των 5' και 3' μη κωδικογραφουσών τελικών περιοχών του ιικού γονιδιώματος (5' και 3' UTR) έχει διαπιστωθεί η ύπαρξη αρκετών δομικών και μη δομικών γονιδίων, όπως φαίνεται στην εικόνα 8. [102]

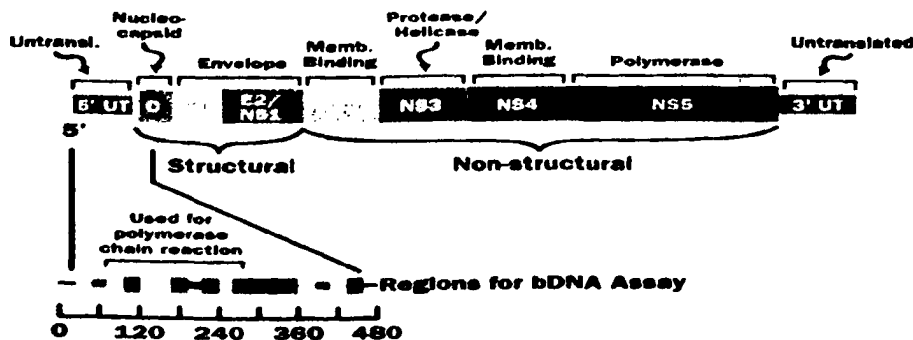


Figure 3. Genomic organization of hepatitis C virus

Εικόνα 8. Οργάνωση του γονιδιώματος του HCV 9400 νουκλεοτίδια (9379-9481)



Τα δομικά γονίδια (C,E1, και E2) κωδικογραφούν για αντιγόνα του πυρήνα (Core,C) και γλυκοπρωτείνες του περιβλήματος (Envelope , E) ενώ τα μη δομικά γονίδια (NS2,NS3, NS4 και NS5) κωδικογραφούν για ένζυμα που είναι απαραίτητα για τον πολλαπλασιασμό του ιού. Εντός του γονιδιώματος του HCV υπάρχει ένας εριθμός μεταβλητών και υπερμεταβλητών περιοχών [103,104], ενώ ήδη είναι γνωστό ότι υπάρχουν τουλάχιστον 6 (πιθανώς 12 ή και περισσότεροι διαφορετικοί γονότυποι του HCV , ανάλογα με την συγκεκριμένη αναλυόμενη γονιδιακή αλληλουχία [102,105,106]

Στην παγκόσμια κοινότητα , τουλάχιστον στον αιμοδοτικό πληθυσμό που έχει μελετηθεί περισσότερο από άλλες ομάδες , ο επιπολασμός κυμαίνεται από 0,06 όπως έχει αναφερθεί από το Ηνωμένο Βασίλειο [107] , ως 26% όπως έχει αναφερθεί από αιμοδοσίες της Αιγύπτου [108] πίνακας 2.

Πίνακας 2.Επιπολασμός του HCV σε πληθυσμούς αιμοδοτών διαφόρων χωρών

Χώρα	Ποσοστό θετικότητας(%)	Μελέτη
USA	0,9	C.E. Stevens et al. JAMA 1990; 263:49
USA	0,36	E.L Murphy et al. JAMA 1996; 275:995
Spain	0,25	J.I. Esteban et al. Ann Int Med 1991; 115:443
Hong Kong	0,2-1.0	C.K Lin et al. Vox Sang 1992;62:98
Taiwan	0,8	S.D. Lee et al. Hepatol. 1991;13:830
United Kingdom	0,06	J.A. Garson et al. Vox Sang 1992;62:218
Italy	0,9-1,3	M.E. Lai et al. J Med Virol 1993;41:282 M.Chiamonte et al. Ital J Gastroen 1991;23:555
Australia	0,45	G.T.Archer et al. Med J Aust 1992;157 :225
Japan	0,6	M.Khan et al .Gastroent 1993 ;28:28
Africa equatorial	6,5	E.Delaporte et al. Trans R Soc Trop Med 1993;87:636
Egypt	26,0	S.Bassily et al. Amer J Trop Med 1995;52:503

ELISA 2.0 , RIBA 2.0

Στα Ιωάννινα μελετήσαμε 6.696 αιμοδότες από όλη την Ήπειρο [109]. Ο επιπολασμός του HCV βρέθηκε μεταξύ 0,12-0,6%. Εξάλλου στην περιοχή μας το ποσοστό των αιμοκαθαίρων που εμφανίζει στον ορό του αίματός τους αντισώματα έναντι του HCV είναι της τάξεως του 15% [110]. Επίσης βρέθηκε ποσοστό επιπολασμού των δεικτών για HCV λοίμωξη σε παιδιά Αλβανών προσφύγων (ηλικία 0-9 ετών) στην υψηλή τιμή του 7,5% [111]. Γενικά δεχόμεθα ότι ο επιπολασμός της ηπατίτιδας C στον γενικό πληθυσμό είναι αυτός που προκύπτει από τη μελέτη της M.J.Alter [112] και είναι της τάξης του 1,4%.

Ο ρόλος της ηπατίτιδας C (HCV) προκαλεί οξεία και χρόνια ηπατίτιδα , κίρρωση του ήπατος και ηπατοκυτταρικό καρκίνο (ΗΚΚ). Επιπλέον με βάση επιδημιολογικές και κλινικές παρατηρήσεις που έχουν επιβεβαιωθεί και εργαστηριακώς , ο HCV έχει ενοχοποιηθεί για την πρόκληση ποικίλων εξωηπατικών εκδηλώσεων και συνδρόμων , που αποδίδονται είτε σε αυτοανοσία , είτε σε εναπόθεση ανοσοσυμπλεγμάτων , είτε σε τοπικό πολλαπλασιασμό του ιού [113,114,115,116,117,118].



Η πρόγνωση της χρόνιας ηπατίτιδας NANB παρέμενε για πολλά χρόνια αμφιλεγόμενη λόγω του μικρού αριθμού ασθενών που περιλαμβάνονταν στις μελέτες , της βραχυχρόνιας παρακολούθησης και της αμφιβολίας για τη διάγνωση, αφού δεν είχαν ακόμη ανακαλυφθεί ευαίσθητοι και ειδικοί ορολογικοί ή ιολογικοί δείκτες [119,120,121]. Οι αρχικές αυτές μελέτες συνηγορούσαν για καλή σχετικά βραχυπρόθεσμη πρόγνωση. Το 90% των περιπτώσεων NANB ηπατίτιδας παρεντερικής ή κρυψιγενούς μεταδόσεως οφείλονται στον HCV .

Δεν υπάρχει συγκεκριμένη φυσική ιστορία και κλινική πορεία της HCV λοιμώξεως , αλλά ένα ευρύ φάσμα εξελίξεως και κλινικών εκφράσεων.

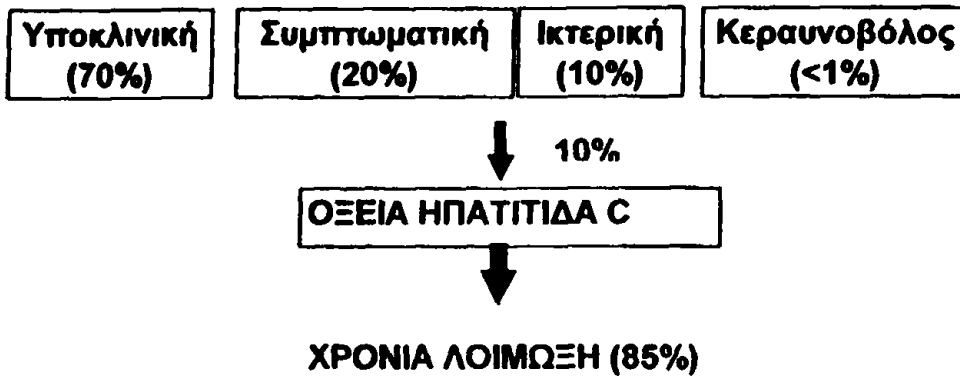
1.1 Οξεία ηπατίτιδα C

Η οξεία ηπατίτιδα C αφορά ασθενείς και των δύο φύλων , κάθε ηλικίας , παρουσιάζει δε παρόμοια κλινικά σημεία , συμπτώματα και βιοχημικές διαταραχές με τις άλλες ιογενείς ηπατίτιδες . Παλαιότερα , που η οξεία ηπατίτιδα C ήταν συχνά συνδεδεμένη με μεταγγίσεις αίματος και παραγώγων του, υπερτερούσαν κυρίως άτομα ηλικίας μεγαλύτερης των 44 ετών [122]. Σύμφωνα με Ελληνική μελέτη [123] , ο HCV προκαλεί το 9% των περιπτώσεων οξείας ικτερικής ηπατίτιδας σε ενήλικες , ποσοστό που συμφωνεί και με άλλους ερευνητές [124]. Η οξεία ηπατίτιδα C είναι σχετικά σπάνια στα παιδιά αφού ευθύνεται μόνο για το 6% των περιπτώσεων οξείας ιογενούς ηπατίτιδας της παιδικής ηλικίας [125].

Η κλασική πορεία της οξείας ηπατίτιδας C είναι γνωστή από την πορεία της μετά από μετάγγιση αίματος ή παραγώγων του , αφού στις περιπτώσεις αυτές είναι γνωστή με ακρίβεια η χρονική στιγμή της εκθέσεως στον λοιμογόνο παράγοντα. Η επώαση της οξείας ηπατίτιδας C , μέχρι να εκδηλωθούν τα συμπτώματα , είναι 7 εβδομάδες (όρια 3-20) [126,127]. Το HCV-RNA ανιχνεύεται στον ορό με αλυσωτή αντίδραση της πολυμεράσης μετά από ανάστροφη μεταγραφή με δύο ζεύγη εκκινητών (RT/ «διπλή» PCR) μετά 1-3 εβδομάδες από την έκθεση [128,129] , σε υψηλό τίτλο (10⁶-10⁸ γονιδιώματα/ml) [130]. Αύξηση των αμινοτρανσφερασών , που υποδηλώνει την οξεία ηπατοκυτταρική βλάβη , παρατηρείται 6-8 εβδομάδες από την έκθεση (2-26 εβδομάδες). Με τη χρήση ορολογικών μεθόδων διαγνώσεως δεύτερης και τρίτης γενιάς , ο μέσος χρόνος ορομετατροπής (δηλαδή παραγωγή αντι-HCV) είναι βραχύς , περίπου 2 εβδομάδες [131,132]. Στο 50-70% των περιπτώσεων οξείας ηπατίτιδας C τα αντισώματα ανιχνεύονται κατά την κλινική εκδήλωσή της , ενώ στο 90% των περιπτώσεων μέσα στους πρώτους 3 μήνες [134] .

Η κλινική εικόνα της οξείας ηπατίτιδας C ποικίλλει σε σοβαρότητα , αφού μπορεί να εκφρασθεί ως ασυμπτωματική (70%) , ανικτερική (20% , εκδηλώνεται σαν ίωση με ανορεξία , καταβολή και αίσθημα βάρους στο δεξιό υποχονδριο, χωρίς ίκτερο) , ικτερική (20%) ή ως κεραυνοβόλος (<1%) (Εικόνα 9). Τα συμπτώματα όταν υπάρχουν , διαρκούν 2-12 εβδομάδες.

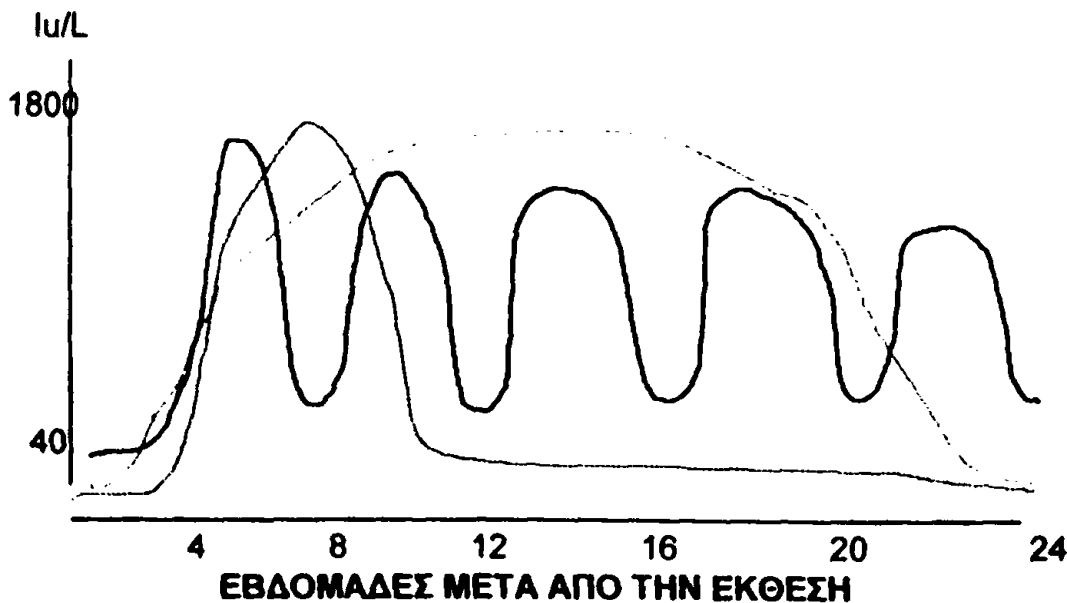




Εικόνα 9. Κλινική εξέλιξη της οξείας ηπατίτιδας C

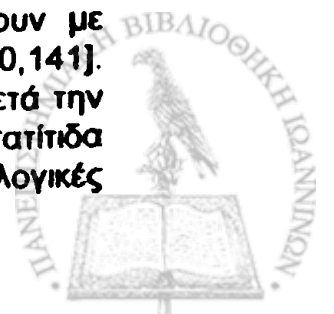
Οι τιμές των αμινοτρανσφερασών κατά την οξεία HCV ηπατίτιδα είναι μεγαλύτερες από το 15πλάσιο της ανώτερης φυσιολογικής τιμής στους περισσότερους από το 80% των ασθενών [134]. Οι αμινοτρανσφεράσες μπορεί να ακολουθούν μονοφασική πορεία (άνοδος που ακολουθείται από κάθοδο), να παραμένουν μόνιμα αυξημένες ή να παρουσιάζουν ταχείς μέσα σε μία εβδομάδα αυξομειώσεις κατά αρκετές εκατοντάδες U/L (που είναι η συχνότερη μορφή) (Εικόνα 10).

Η οξεία ηπατίτιδα C αυτοπεριορίζεται μόνο στο 15% των περιπτώσεων, με εξαφάνιση της αιμίας και υποχώρηση των τιμών των αμινοτρανσφερασών στο φυσιολογικό. Τα αντισώματα παραμένουν για άλλοτε άλλο χρονικό διάστημα (συνήθως μερικά χρόνια) [135,136,137,138]. Επειδή παρουσιάζονται αυξομειώσεις των αμινοτρανσφερασών, είναι δύσκολο να καθορισθεί με ακρίβεια πότε επέρχεται η ίαση της οξείας ηπατίτιδας C. Η επιμονή της αιμίας αποτελεί σημείο μεταπτώσεως σε χρονιότητα, που μπορεί να συνοδεύεται και από αύξηση των αμινοτρανσφερασών [139].



Εικόνα 10. Διακύμανση των αμινοτρανσφερασών στην οξεία ηπατίτιδα C

Οι φυσιολογικές τιμές των αμινοτρανσφερασών δεν υποδηλώνουν με βεβαιότητα την ίαση της οξείας ηπατίτιδας και την εξόντωση του ιού [140,141]. Η μετάπτωση σε χρονιότητα τοποθετείται σχηματικά στους 6 μήνες μετά την έναρξη της ηπατίτιδας. Υπολογίζεται ότι 85% των ασθενών με οξεία ηπατίτιδα C, έχουν HCV-RNA, αυξημένες αμινοτρανσφεράσες και ιστολογικές



αλλοιώσεις χρόνιας ηπατίτιδας 6 μήνες μετά από την αρχική αύξηση των αμινοτρανσφερασών [142,143,144,145].

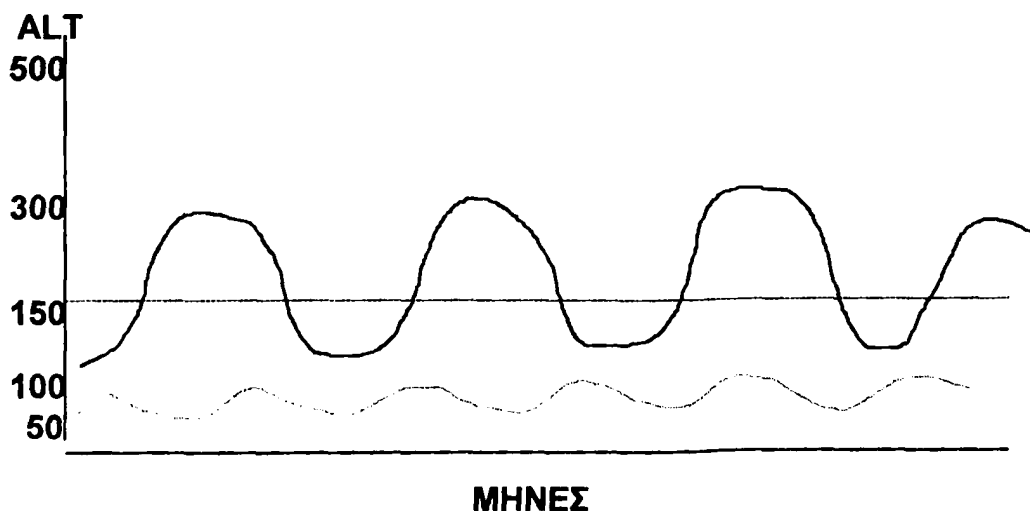
Πως επιτυγχάνεται η ίαση της οξείας ηπατίτιδας C στο 15% των περιπτώσεων δεν είναι ακριβώς γνωστό. Η CD4+ κυτταρική ανοσιακή απάντηση στην ιική πρωτεΐνη NS3 έχει συνδεθεί με κλινική και ιολογική ίαση της οξείας HCV ηπατίτιδας [146]. Το 75% των ασθενών με οξεία ηπατίτιδα C μεταπίπτουν σε χρονιότητα. Η ατελής χυμική και κυτταρική ανοσιακή απάντηση που δεν εκριζώνει τον HCV οφείλεται στη συνεχή αλλαγή του ιικού γονιδιώματος, που έχει ως συνέπεια τη συνεχή τροποποίηση των αντιγονικών επιτόπων που του επιτρέπουν να διαφεύγει από την ανοσιακή κυτταρική ή χυμική αντίδραση του οργανισμού (antigenic drift, ανθεκτικές μορφές διαφυγής) [147,148,149].

Η μετάπτωση της οξείας ηπατίτιδας C σε χρονιότητα είναι συχνότερη στους άνδρες, σε μεγάλη ηλικία (>40 ετών) προσβολής, σε μετάδοση μεγάλου σχετικά φορτίου μολυσματικού υλικού (π.χ με παράγοντες πήξεως), σε υψηλά επίπεδα ιαιμίας και σε καταστάσεις ανοσοανεπάρκειας (ασθενείς μετά από μεταμόσχευση νεφρού, σε πάσχοντες από HIV κλπ) [150,151,152,153,154] (Πίνακας 3).

Πίνακας 3. Παράγοντες που ευνοούν την εξέλιξη της οξείας ηπατίτιδας C σε χρονιότητα

1. Μεγάλη ηλικία προσβολής	6. Άνδρες;
2. Πολυφασική ή βιοχημική διαδρομή	7. Μεγάλο μολυσματικό φορτίο;
3. Ανοσοανεπάρκεια	8. Ανικτερική;
4. Ιαιμία μεγάλου τίτλου	9. Χαμηλή ALT
5. «Σχεδόν είδη»	

Εξάλλου υπάρχει συσχέτιση μεταξύ της μορφής διακυμάνσεως των τιμών των αμινοτρανσφερασών κατά την οξεία ηπατίτιδα και της μεταπτώσεως σε χρονιότητα. Η μονοφασική μορφή οξείας ηπατίτιδας (άνοδος των αμινοτρανσφερασών, η οποία ακολουθείται από πτώση τους που παραμένει) παρουσιάζει τη μικρότερη σχετικά συχνότητα εξελίξεως σε χρονιότητα [155], ενώ εκείνη με τη σταθερή αύξηση των αμινοτρανσφερασών τη μεγαλύτερη συχνότητα. (Εικόνα 10.).



Εικόνα 11. Διακύμανση των αμινοτρανσφερασών στη χρόνια ηπατίτιδα C



Η δημιουργία «σχεδόν ειδών» (quasi-species) κατά την οξεία φάση δε συσχετίζεται με τη βαρύτητα της ηπατίτιδας ή με την εξέλιξη σε χρονιότητα [156,157]. Όμως στους ασθενείς που η οξεία ηπατίτιδα C αυτοπεριορίζεται, υπάρχει τάση μείωσης των «σχεδόν ειδών» κατά τους πρώτους 3 μήνες σε σχέση με τη σταθερότητα ή με την αύξηση τους στους ασθενείς που μεταπίπτουν σε χρονιότητα [157]. Το μολυσματικό ιικό φορτίο και ο γονότυπος δε συσχετίζονται με το ποσοστό μεταπτώσεως σε χρονιότητα ενώ ίσως ο αυτοπεριορισμός να συμβαίνει συχνότερα στις γυναίκες, στις ικτερικές περιπτώσεις και σε εκείνες με τις υψηλότερες τιμές αμινοτρανσφερασών [158]. Η πρόγνωση και των δύο επιδημιολογικών μορφών της οξείας ηπατίτιδας C είναι η ίδια [159,160,161,162], παρ'ότι παλαιότερα είχε θεωρηθεί ότι η συχνότητα μεταπτώσεως σε χρονιότητα είναι μικρότερη στη σποραδική απ' ό,τι στη μεταμεταγγισιακή οξεία ηπατίτιδα C [163].

1.2 Κεραυνοβόλος ηπατίτιδα

Κεραυνοβόλος μορφή ηπατίτιδας C εκδηλώνεται σε ελάχιστες περιπτώσεις οξείας ικτερικής HCV ηπατίτιδας και αποτελεί σπάνιο αίτιο κεραυνοβόλου ιογενούς ηπατίτιδας [164]. Μόνο το 12% των Αμερικανών με κεραυνοβόλο ηπατίτιδα που μεταμοσχεύονται πάσχουν από HCV λοίμωξη [165]. Η κεραυνοβόλος ηπατίτιδα C χαρακτηρίζεται από πολύ υψηλά επίπεδα ιαιμίας και πολλαπλούς γονότυπους [166]. Κεραυνοβόλος ηπατική ανεπάρκεια παρατηρείται συχνότερα σε συλλοιμώξεις με άλλους ιούς HBV [167,168] ή HAV και σε άτομα με ανοσοανεπάρκειες που παρουσιάζουν υψηλή ιαιμία [169,170] (Πίνακας 4). Εκδήλωση κεραυνοβόλου ηπατικής ανεπάρκειας παρατηρείται σε άτομα με χρόνια ηπατίτιδα C μετά από την απότομη διακοπή της χημειοθεραπείας ή της ανοσοκατασταλτικής αγωγής [171,172], γεγονός που έχει παρατηρηθεί και στην ηπατίτιδα Β [173,174,175].

Πίνακας 4. Παράγοντες που ευνοούν την εκδήλωση κεραυνοβόλου ηπατίτιδας C

1. Συλλοιμώξεις (HBV, HAV)
2. Ανοσοανεπάρκεια
3. Υψηλή ιαιμία
4. «Σχεδόν είδη»;
5. Σε χρόνια ηπατίτιδα C μετά από χημειοθεραπεία

1.3 Χρόνια λοίμωξη

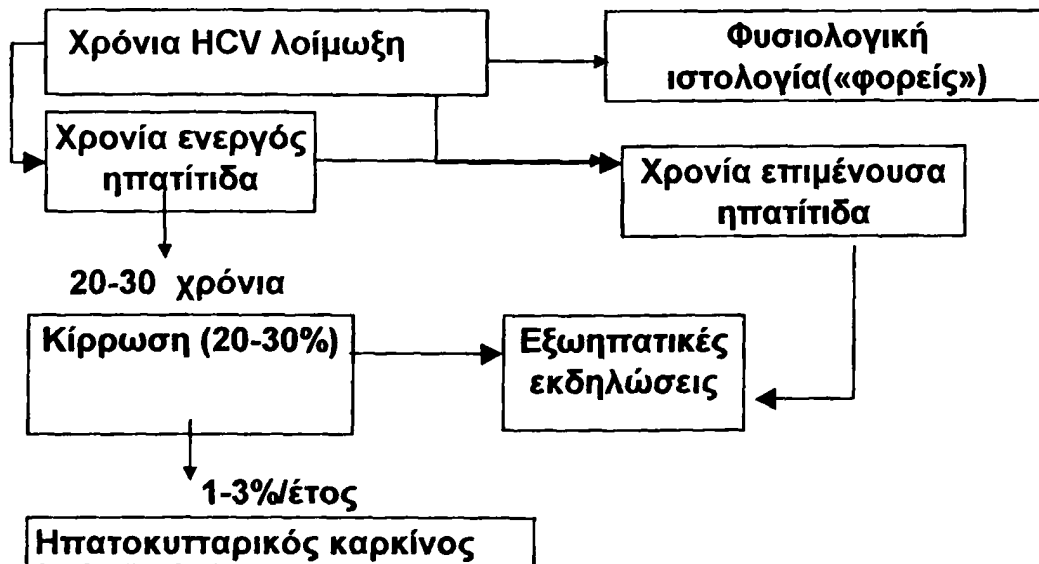
Η χρόνια HCV λοίμωξη χαρακτηρίζεται από ιαιμία (συνήθως συνεχής και πολύ σπανιότερα διαλείπουσα) με ή χωρίς αντι-HCV. Άτομα με αντι-HCV, αλλά χωρίς HCV-RNA ιαιμία, έχουν φυσιολογική ηπατική ιστολογία και προφανώς παριστούν παλιές λοιμώξεις που έχουν καθεί [176,177]. Η ιαιμία είναι πολύ συχνά ευαίσθητος δείκτης παρουσίας ηπατικής νόσου [178]. Οι αμινοτρανσφεράσες μπορεί να είναι μόνιμα αυξημένες, να κυμαίνονται ή να είναι φυσιολογικές (Εικόνα 11). Στο 1/3 των περιπτώσεων, οι αμινοτρανσφεράσες είναι φυσιολογικές επί μακρόν [179]. Δεν υπάρχει



συσχέτιση μεταξύ της ιστολογίας του ήπατος και του επιπέδου των αμινοτρανσφερασών. Σπάνια άτομα κλινικώς υγιή και με φυσιολογικές αμινοτρανσφεράσες μπορεί να έχουν ιστολογικές αλλοιώσεις χρόνιας ενεργού ηπατίτιδας ή και κίρρωσας[180].

Οι περισσότεροι ασθενείς είναι ασυμπτωματικοί . Η διάγνωση γίνεται συνήθως τυχαία σε αιμοδοσία και σε προληπτικό εργαστηριακό έλεγχο .Λιγότεροι από το 20% των ασθενών παρουσιάζουν μη ειδικά συμπτώματα (καταβολή, αδυναμία και σπανιότερα κνησμό , αρθραλγίες ή και μυαλγίες). Συνηθέστερα τα πρώτα συμπτώματα που εκδηλώνονται εκφράζουν προχωρημένη πυλαία υπέρταση και ηπατική ανεπάρκεια (ίκτερος κίρσορραγία , ασκίτης , ηπατική εγκεφαλοπάθεια κλπ) και εμφανίζονται πολύ καθυστερημένα[181,182].

Οι πάσχοντες από χρόνια λοίμωξη C μπορεί να παρουσιάζουν ιστολογικές αλλοιώσεις χρόνιας επιμένουσας ή χρόνιας ενεργού ηπατίτιδας και να συνυπάρχει ή όχι κίρρωση του ήπατος. Οι ασθενείς αυτοί μπορεί να μεταπίπτουν από τη μια μορφή ιστολογικής εικόνας στην άλλη αυτόματα ή με την ανάλογη θεραπεία και να παρουσιάζουν εξωηπατικές εκδηλώσεις (Εικόνα 12)



Εικόνα 12. Η εξέλιξη της χρόνιας ηπατικής νόσου από τον HCV.

Μικρό ποσοστό από τα άτομα με χρόνια HCV λοίμωξη δεν παρουσιάζει ιστολογικές αλλοιώσεις χρόνιας ηπατίτιδας (ασυμπτωματικοί «φορείς» του ιού) [183]. Επομένως η παρουσία και ο πολλαπλασιασμός του ιού δε σημαίνουν υποχρεωτικά και την ύπαρξη ηπατικής νόσου και θα πρέπει να γίνεται διάκριση μεταξύ της λοίμωξης από τον HCV , που συνήθως απαιτεί παρακολούθηση , και της ηπατικής νόσου που συχνά απαιτεί θεραπευτική αντιμετώπιση [184]. Είναι άγνωστο αν οι «φορείς» αυτοί παραμένουν στην ίδια κατάσταση με την πάροδο του χρόνου [185].



1.4 Φυσική ιστορία της χρόνιας HCV λοίμωξης

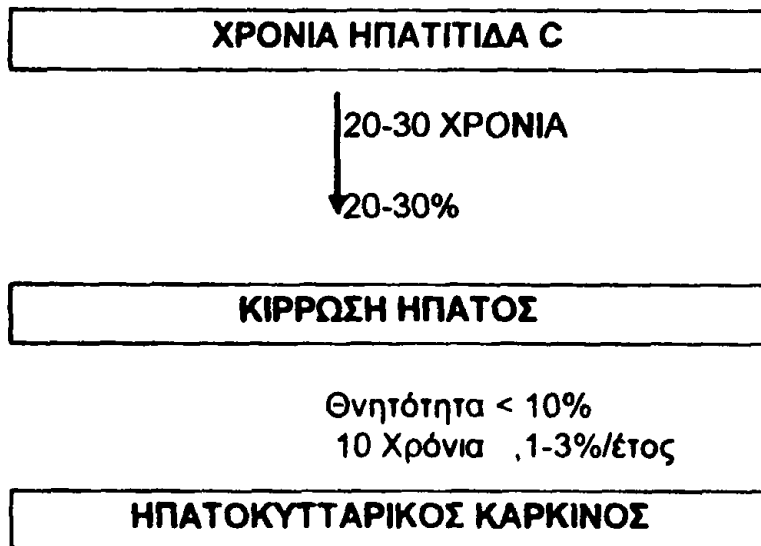
Προοπτικές και αναδρομικές μελέτες έχουν δείξει τη δυνητική μετάπτωση της χρόνιας HCV ηπατίτιδας σε κίρρωση και ηπατοκυτταρικό καρκίνο (ΗΚΚ) (Πίνακας 5).

Πίνακας 5. Αναδρομικές μελέτες εξελίξεως της χρόνιας ηπατίτιδας C

ΕΡΕΥΝΗΤΗΣ	ΧΩΡΑ	ΧΡΟΝΙΑ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ	ΚΙΡΡΩΣΗ	ΗΚΚ
Kiyosawa	Ιαπωνία	10	21,2	29
Tong	ΗΠΑ	13,7	20,6	28,3+/-1
Kiyosawa	Ιαπωνία	13,6	17,8	23,4
Alter	ΗΠΑ		27	53

(Οι αριθμοί αντιστοιχούν σε χρόνια)

Ο HCV προκαλεί το 25% όλων των ηπατοπαθειών και των μεταμοσχευόμενων λόγω τελικού σταδίου ηπατικής ανεπάρκειας στην Ευρώπη και στις ΗΠΑ [186,187]. Η κλινική αυτή πορεία προς το τελικό στάδιο ηπατικής ανεπάρκειας διαρκεί περισσότερο από 20-30 χρόνια [138,188,189] (Εικόνα 13)



Εικόνα 13. Η φυσική πορεία της χρόνιας HCV λοίμωξης.

Οι κλινικές εκδηλώσεις λοιπόν καθυστερούν και δε συμβαδίζουν με τις ιστολογικές βλάβες που μπορεί να είναι σοβαρές πολύ νωρίτερα. Φαίνεται λοιπόν ότι πολλά από τα άτομα με HCV-RNA καιμία παραμένουν με ελαφρές ιστολογικές αλλοιώσεις για μερικές δεκαετίες. Όλοι οι ασθενείς με χρόνια HCV λοίμωξη δεν θα αναπτύξουν τελικού σταδίου ηπατική νόσο. Ο μέσος χρόνος αναπτύξεως κίρρωσεως είναι 20-30 χρόνια , που κυμαίνεται από 13 χρόνια σε άνδρες ηλικίας μεγαλύτερης των 40 ετών μέχρι 42 χρόνια σε γυναίκες ηλικίας μικρότερης των 40 ετών. Το 33% των ασθενών αναπτύσσουν κίρρωση σε λιγότερο από 20 χρόνια , ενώ το 31% δε θα αναπτύξουν ποτέ κίρρωση [190].



Ακόμη και όταν η HCV λοίμωξη συνοδεύεται από κίρρωση , η νόσος μπορεί να παραμείνει στάσιμη για πολλά χρόνια[191] (Πίνακας 6 και 7).

Πίνακας 6.Επιβίωση της HCV κίρρωσεως σε 350 άτομα με καλώς αντιρροπούμενη HCV κίρρωση

	ΕΠΙΒΙΩΣΗ(ΕΤΗ)	ΠΙΘΑΝΟΤΗΤΑ(%)
Αντιρροπούμενη	3	96
	5	91
	10	79
Ρήξη	5	50

Πίνακας 7.Φυσική ιστορία της κίρρωσεως.

		Ετήσια επίπτωση
ΗΚΚ	8%	1,4%
Ρήξη	18%	3,9%
Ολική θνητότητα(5ετής)	13%	-
Ηπατικός θάνατος	9%	1,9%

Σε παρακολούθηση 350 ασθενών με αντιρροπούμενη HCV κίρρωση , μετά από 10 χρόνια , η θνητότητα ήταν 21%. Όταν όμως εκδηλωθεί ρήξη της αντιρροπήσεως , η 5ετής επιβίωση είναι 50%. (Πίνακες 6 και 7).

Αυτόματη ύφεση της χρόνιας ηπατίτιδας C με εξαφάνιση του HCV-RNA από τον ορό και το ήπαρ , είναι πολύ σπάνιο (< 1-5%, < 0,4/χρόνο) σε αντίθεση με 40% περίπου στη χρόνια ηπατίτιδα B με θετικό ΗΒεΑg [192]. Σε πολυκεντρική Ιταλική μελέτη παρακολουθήσεως 110 ατόμων με χρόνια HCV ηπατίτιδα για 1-5 χρόνια , 78 ασθενείς συνέχιζαν να έχουν ηπατική νόσο και υψηλά επίπεδα ιαμίας , 13 ασθενείς είχαν φυσιολογικές αμινοτρανσφεράσες και ελάχιστη φλεγμονή στο ήπαρ και μόνο 8 δεν είχαν πλέον ιαμία (χωρίς όμως αυτό να υποδηλώνει και ίαση αφού θα πρέπει να παραμείνει μη ανιχνεύσιμη επί μακρόν) [193]. Είναι άγνωστο αν υπάρχει φάση ανοσιακής ανοχής στον HCV αντίστοιχη με την πρώτη φάση της χρόνιας λοιμώξεως B [194]. Μελέτες σε παιδιά έδειξαν περιορισμένη ενδοηπατική έκφραση μορίων συμμετεχόντων στην αναγνώριση αντιγόνων και λεμφοκυτταρική ενεργοποίηση , γεγονός που συνηγορεί για φάση ανοσοανοχής όταν η λοίμωξη αποκτηθεί στην παιδική ηλικία [195].

Η χρόνια HCV ηπατίτιδα δεν είναι προοδευτικώς επιδεινούμενη νόσος σε όλους τους ασθενείς. Μερικές φορές η φυσική πορεία εξελίσσεται πολύ γρήγορα (< 10 χρόνια) σε κίρρωση [190]. Με μονοπαραγοντικές και πολυπαραγοντικές αναλύσεις αναζητήθηκαν οι παράγοντες που επηρεάζουν τη φυσική πορεία της HCV λοιμώξεως . Οι παράγοντες αυτοί φαίνονται στον Πίνακα 8.



Πίνακας 8. Παράγοντες που ευνοούν την εξέλιξη της χρόνιας HCV λοίμωξης.

Ιός	Ιικό φορτίο Γονότυπος Σχεδόν Είδη
Ξενιστής	Ηλικία Καταγωγή Ανδρες Ιστολογία HLA απλότυπος
Εξωγενείς	Κατάχρηση αιθυλικής Ιογενής συλλοίμωξη(HBV) Περιβάλλον; Κάπνισμα; Ανοσοανεπάρκεια(HIV κ.λ.π.)

1.5 Ιικό φορτίο

Η HCV-RNA καιμία είναι χαμηλότερη σε άτομα με ηπιότερες ιστολογικές βλάβες, προσδευτικώς αυξάνεται καθώς επιδεινώνεται η ιστολογική εικόνα και η λοίμωξη γίνεται πλέον μακροχρόνια και παρουσιάζει τις συγκριτικώς μεγαλύτερες τιμές σε άτομα με κίρρωση [196,197,198,199]. Η HCV-RNA καιμία παρουσιάζει συσχέτιση με τη λοβιακή φλεγμονή, με τη λεμφοκυτταρική διήθηση και τις βλάβες στα μικρά χοληφόρα [200]. Η παραπάνω συσχέτιση δεν επιβεβαιώθηκε με τη μέθοδο του διακλαδιζόμενου DNA (b-DNA) [201].

1.6 Τρόπος μετάδοσης

Στη σποραδική HCV ηπατίτιδα, το μολυσματικό φορτίο θεωρητικά είναι μικρότερο από την HCV ηπατίτιδα μετά από μετάγγιση αίματος ή παραγώγων του. Η συχνότητα μεταπτώσεως σε χρόνια και η εξέλιξη σε κίρρωση και ΗΚΚ αρχικά είχε θεωρηθεί ότι είναι μικρότερη στη σποραδική (κρυψιγενούς μεταδόσεως) απ' ότι στη μεταμεταγγισιακή χρόνια ηπατίτιδα C [192,202]. Θεωρείται πλέον όμως ότι είναι ίδια (63% στη σποραδική και 61% στη μεταμεταγγισιακή) [159].

1.7 Γενετική ετερογένεια

Οι ιοί της ηπατίτιδας C κατατάσσονται πλέον σε έξη τουλάχιστον μείζονες υποομάδες [203]. Υπάρχουν ενδείξεις για την επίδραση της ετερογένειας του HCV στην παθογένεια και στη φυσική ιστορία της νόσου που προκαλεί [204]. Πολλοί ερευνητές συσχετίζουν τη λοίμωξη με το γονότυπο 1 βαρύτερη σε σχέση με το γονότυπο 2 [194,205,206], αφού παρατηρείται ιστολογική επιδείνωση συχνότερα στην πρώτη περίπτωση [207]. Εξάλλου η καιμία είναι υψηλότερη στη λοίμωξη με το γονότυπο 1. Επί πλέον η λοίμωξη με τον 1β θεωρείται ότι έχει ταχύτερη κλινική πορεία προς την κίρρωση και τον ΗΚΚ σε σχέση με τον 1α [208,209]. Βέβαια άλλοι ερευνητές δε συμφωνούν σε αυτό ή στη συχνότερη ανάπτυξη ΗΚΚ [210,211,212,213,214,215]. (Πίνακας 9 και 10)



Πίνακας 9. Η εξέλιξη της χρόνιας HCV ηπατίτιδας με το γονότυπο [199]

ΙΣΤΟΛΟΓΙΑ	ΓΟΝΟΤΥΠΟΣ 1 (n=100)	ΓΟΝΟΤΥΠΟΣ 2 (n=36)	P(χ^2 test)
Φεγμονή	68(68%)	15(41,7)	< .01
Ίνωση	63(63%)	14(38,9%)	< .05
ΗΚΚ	29(29%)	2(5,6%)	<.001

Πίνακας 10. Επιπολασμός του γονότυπου 1b σε HCV λοίμωξη.

Ερευνητής	Αριθμός (n)	Μη-κίρρωση(%)	Κίρρωση(%)
Pozzato	54	64	100
Silini	207	38	54
Nousbaum	220	50	72
Naito	116	80	82
Preston	51	38	42
Yamada	251	65	73

Ο γονότυπος 1b αφορά παλαιότερες λοιμώξεις που ευρίσκονται σε πλέον προχωρημένα στάδια , ενώ οι νεώτερες λοιμώξεις αφορούν άλλους γονότυπους [210]. Σε άτομα με φυσιολογικές αμινοτρανσφεράσες ο γονότυπος 2 έχει μεγαλύτερη συχνότητα από τον 1, που κυριαρχεί σε άτομα με προχωρημένη ηπατοπάθεια [204].

1.8 Σχεδόν είδη

Ο HCV κυκλοφορεί σε κάθε ασθενή ως ετερογενές μείγμα γονιδιωμάτων , συγγενών μεταξύ τους , που περιλαμβάνει την κυριαρχούσα και συχνότερα εκφραζόμενη αλληλουχία και μια ποικιλία μεταλλαγμένων ακολουθιών που φέρονται με το όνομα «σχεδόν είδη»-quasispecies [217,218]. Μερικά από αυτά τα μεταλλαγμένα στελέχη μπορεί να χρησιμοποιούν τον φυσικό ιό για τον πολλαπλασιασμό τους και να προκαλούν μικρή κυτταρολυτική δράση επιβιώνοντας . Σε μερικές μελέτες διαπιστώθηκε ότι τα σχεδόν είδη αυξήθηκαν ανάλογα με τη βαρύτητα της ιστολογικής εικόνας [219]. Υπάρχουν εξάλλου άλλοι ερευνητές που δεν συμφωνούν με το συμπέρασμα αυτό [213,220].

1.9 Διάρκεια νόσου , ιστολογική εικόνα , φύλο.

Οι παλαιότερες λοιμώξεις παρουσιάζουν μεγαλύτερη ιστολογική βλάβη , όπως είναι αναμενόμενο[196,221,222,223,224,225].

Ο βαθμός της ιστολογικής βλάβης στην αρχική βιοψία αποτελεί προγνωστικό παράγοντα επιδεινώσεως ή στασιμότητας στα επόμενα χρόνια [226,227]. Σε περιπτώσεις με ενεργό φλεγμονή ή σημαντική ίνωση η πορεία είναι ταχύτερη προς κίρρωση και ηπατική ανεπάρκεια.

Οι άνδρες φαίνεται να παρουσιάζουν μεγαλύτερο κίνδυνο ταχύτερης εξελίξεως της νόσου σε σχέση με τις γυναίκες [190,228].



1.10 Ηλικία

Οι μεγαλύτεροι σε ηλικία παρουσιάζουν βαρύτερες βλάβες για την ίδια διάρκεια νόσου. Η ταχύτητα επιδεινώσεως είναι γρηγορότερη στα γηραιά άτομα (> 40-55 ετών) και βραδύτερη στους νέους (< 55 ετών) με νόσο της ίδιας διάρκειας ηλικίας εκθέσεως στον ιό [190,191,226,229]. Σε άτομα ηλικίας μεγαλύτερης από 50 χρόνια απαιτούνται 6-10 χρόνια για την ανάπτυξη της κίρρωσεως ενώ για ηλικία μικρότερη από 50 χρόνια χρειάζονται 16-21 χρόνια. Ίσως να οφείλεται σε σχετική ανοσοανεπάρκεια της τρίτης ηλικίας. Στις περισσότερες περιπτώσεις χρονίας HCV λοιμώξεως σε παιδιά δεν παρατηρούνται σημαντικές ιστολογικές βλάβες [125,230]. Παραμένει όμως άγνωστο εάν θα παρουσιάσουν κάποιο κλινικό πρόβλημα μετά από 2-4 δεκαετίες.

1.11 HLA απλότυπος

Ορισμένοι απλότυποι του μείζονος συστήματος ιστοσυμβατότητας κλάσεως II έχουν συσχετισθεί θετικώς ή αρνητικώς με την πορεία της χρονίας HCV ηπατίτιδας προς κίρρωση του ήπατος ή και ΗΚΚ. Έχει διαπιστωθεί ότι η ανοσιακή απάντηση των CD4+ βοηθητικών T-λεμφοκυττάρων στην έκφραση των ιικών πρωτεϊνών του πυρηνοκαψιδίου, της NS3, της NS4 και της NS5 δεν συσχετίζεται με την κάθαρση του HCV, αλλά με καλοήγη πορεία της λοιμώξεως [231]. Έτσι οι ασθενείς που παρουσιάζουν κλινικώς και ιστολογικώς ήπια νόσηση έχουν περισσότερη έντονη κυτταρική ανοσιακή αντίδραση από ότι οι έχοντες ενεργό χρονία ηπατοπάθεια [232]. Είναι γνωστό ότι η κυτταρική ανοσία εξαρτάται ιδιαιτέρως από το γενετικό υπόστρωμα όπως αυτό εκφράζεται από το μείζων σύστημα ιστοσυμβατότητας κλάσεως I και II. Έτσι ο ξενιστής μπορεί να καθορίσει γενετικώς την ένταση της ηπατοκυτταρικής βλάβης [233]. Συγκεκριμένοι HLA A, B και DR απλότυποι συσχετίζονται με ενεργό HCV ηπατοπάθεια (DRB1*0405, DQB1*0401, DQA1*0201, DQB1*0201) και άλλοι με ήπια κλινική πορεία χωρίς σημαντικές ιστολογικές βλάβες [234,235] (A1, B8, B35, DR5, DR13, DR6, DRB1*0901, DQB1*0303, DRB1*1104, DQA1*0501, DQB1*0301) [236,237,238,239,240,241]. Οι παραπάνω απλότυποι μπορεί να τροποποιούν στερεοτακτικώς τους αντιγονικούς επιτόπους έτσι ώστε να τροποποιείται η αντίδραση του ανοσιακού συστήματος.

1.12 Ανοσιακή ανεπάρκεια

Ο HCV φαίνεται να είναι κυτταροτοξικός σε ασθενείς που έχουν υψηλά επίπεδα αιμίας, όπως συμβαίνει σε ανοσοκατεσταλμένους μετά από μεταμόσχευση οργάνου ή με χορήγηση φαρμακευτικής ανοσοκαταστολής (π.χ. κορτικοειδή) ή σε ασθενείς που πάσχουν από σύνδρομο ανοσιακής ανεπάρκειας των ενηλίκων.

Η υποτροπή της HCV ηπατίτιδας μετά από μεταμόσχευση ήπατος είναι γενική ενώ συνοδεύεται από άλλοτε άλλη βλάβη του μοσχεύματος με ανάπτυξη κίρρωσεως σε λίγα χρόνια (< 5) σε μερικούς ασθενείς σε αντίθεση με την ήπια και μακροχρόνια πορεία σε άλλους ασθενείς [242]. Το γεγονός αυτό της τροποποιημένης ηπατοτοξικότητας σε καταστάσεις ανοσοκαταστολής έχει παρατηρηθεί και σε ασθενείς με χρονία HBV λοίμωξη [243].



Η φυσική ιστορία της χρόνιας λοιμώξεως C σε ασθενείς με μεταμόσχευση νεφρού είναι άγνωστη αλλά φαίνεται ότι σε αρχική φάση είναι κλινικά σιωπηλή [244]. Η χορήγηση ανοσοκατασταλτικών φαρμάκων (κορτικοειδή , αζαθειοπρίνη , κυκλοσπορίνη) μπορεί να ενεργοποιήσει τον ιικό πολλαπλασιασμό. Οι αντι- HCV οροθετικοί ασθενείς σε χρόνια αιμοκάθαρση που μεταμοσχεύονται παρουσιάζουν αρχικά κλινική πορεία όπως οι αντι- HCV οροαρνητικοί [245], και η επιβίωσή τους δεν διαφέρει βραχυπρόθεσμα. Ο ιός είναι σημαντικό αίτιο νοσηρότητας και θνητότητας σε μεταμοσχευμένους νεφρού [246]. Η μακροχρόνια επιβίωσή τους εξαρτάται άμεσα από τη βαρύτητα της ιστολογικής βλάβης του ήπατος προεγχειρητικά αλλά και μετεγχειρητικά. Γενικά μπορούμε να πούμε ότι η μακροχρόνια επιβίωση ασθενών με χρόνια HBV ή HCV λοίμωξη μετά από μεταμόσχευση νεφρού είναι σημαντικά μικρότερη σε σχέση με τους μεταμοσχευμένους χωρίς χρόνια ηπατοπάθεια [247].

Η εξέλιξη της χρόνιας HCV λοιμώξεως στους αντι-HIV οροθετικούς σε κίρρωση του ήπατος και σε ηπατική ανεπάρκεια είναι ταχεία [248]. Η συλλοίμωξη HCV και HIV αυξάνει τον τίτλο της HCV-RNA ιαιμίας και τη μεταδοτικότητα του HCV [249]. Ηπατική ανεπάρκεια αναπτύχθηκε μετά από 10-20 χρόνια στο 9% 223 αιμορροφλικών με χρόνια ηπατίτιδα C , αντι- HIV θετικών [242].

Ασθενείς που πάσχουν από πρωτοπαθή υπογαμμασφαιριναιμία παρουσιάζουν υψηλό επιπολασμό χρόνιας HCV ηπατοπάθειας λόγω της χορηγήσεως κατά το παρελθόν μεγάλων ποσοτήτων μολυσμένης με τον ιό γ-σφαιρίνης [250]. Η οξεία HCV ηπατίτιδα στους ασθενείς αυτούς συχνά είναι ικτερική , λαμβάνει μερικές φορές τους χαρακτήρες κεραυνοβόλου ηπατίτιδας και παρουσιάζει ταχεία εξέλιξη σε χρόνια ενεργό ηπατίτιδα και κίρρωση παρά την απουσία χυμικής ανοσίας [251,252]. Σε παιδιά που υποβάλλονται σε χημειοθεραπεία [253] ή έχουν υποβληθεί σε μεταμόσχευση μυελού [254] , η χρόνια ηπατίτιδα C εξελίσσεται γρήγορα.

1.13 HBV GV/GBV-C συλλοίμωξη

Οι HBV και HCV παρουσιάζουν κοινούς μηχανισμούς παρεντερικής μεταδόσεως με διαφορετική βέβαια αποτελεσματικότητα. Οι συλλοιμώσεις αυτές είναι σχετικά συχνές αφού ο επιπολασμός των αντι- HCV είναι υψηλότερος στα άτομα με θετικό HBsAg από ότι στον γενικό πληθυσμό [255]. Ο HCV καταστέλλει τον πολλαπλασιασμό του HBV στις περισσότερες περιπτώσεις [256], φαίνεται να αποτελεί το αίτιο που επικρατεί στην ενεργό ηπατοπάθεια στους περισσότερους ασθενείς με συλλοιμώσεις HBV και HCV [257,258,259,260,261,262]. Σε ενδημικές περιοχές χρόνιας HBV λοιμώξεως η ταυτόχρονη HCV λοίμωξη αποτελεί παράγοντα επιδεινώσεως της φυσικής πορείας της χρόνιας ηπατοπάθειας [263]. Ο ακριβής σχετικός κίνδυνος των φορέων του HCV δεν είναι γνωστός. Σε πρόσφατη εργασία στην Ελλάδα ο σχετικός κίνδυνος αναπτύξεως ΗΚΚ των φορέων HCV ήταν 4 φορές μεγαλύτερος όταν αυτοί ήταν και φορείς του HBV [264,265,266].

Η επιλοίμωξη με ιό ηπατίτιδας A ασθενούς με χρόνια HCV λοίμωξη προδιαθέτει για εκδήλωση κεραυνοβόλου ηπατίτιδας [267]. Για το λόγο αυτό συνιστάται ο προφυλακτικός εμβολιασμός τους.

Οι συλλοιμώσεις HCV-GV/GBV-C δεν επιδεινώνουν τη φυσική πορεία της HCV λοιμώξεως ή την ανταπόκριση στη θεραπεία με IFN-α



[268,269,270,271,272]. Η εκκαθάριση του HCV παρά την επιμονή του GV/GBC-C RNA ακολουθείται από βιοχημική ύφεση , ενώ η εξαφάνιση του GV/GBC-C με ταυτόχρονη επιμονή του HCV-RNA ακολουθείται από αύξηση της ALT που επιμένει[273].

1.14 Κάπνισμα και περιβάλλον

Μελέτες προτείνουν ότι το κάπνισμα προδιαθέτει σε ταχύτερη πορεία της HCV λοιμώξεως σε κίρρωση και ΗΚΚ [266,274].

Έχουν διαπιστωθεί γεωγραφικές διαφορές της πορείας της HCV μεταξύ ΗΠΑ και Ιαπωνίας . Η νόσος παρουσιάζει ταχύτερη πορεία και συχνότερες επιπλοκές στην Ιαπωνία που βέβαια θα μπορούσαν να αποδοθούν σε διαφορετικούς γονότυπους του ιού. Ίσως στο περιβάλλον να υπάρχει κάποιος παράγοντας που δεν έχει ακόμη εντοπισθεί. Όμως οι Ιάπωνες που έχουν μεταναστεύσει στις ΗΠΑ χάνουν την ταχύτερη και σοβαρότερη κλινική πορεία της χρόνιας HCV λοιμώξεως [275].

1.15 Αιθυλική αλκοόλη και HCV

Είχε παρατηρηθεί από ερευνητές ότι το 25% των ασθενών που πάσχουν από αλκοολική ηπατοπάθεια είναι αντι-C100-3 θετικοί [276,277]. Το ποσοστό φθάνει στους πάσχοντες από αλκοολική κίρρωση σε 50-70% [278,279] και κατά άλλους συγγραφείς 27-42.6%[488]. Εξάλλου στην ιστολογική εικόνα βιοψίας του ήπατος ασθενών που κάνουν κατάχρηση αιθυλικής αλκοόλης συχνά παρατηρούνται φλεγμονώδεις αλλοιώσεις στα πυλαία διαστήματα και στο ηπατικό λόβιο που θα μπορούσαν να αποδοθούν σε χρόνια ιογενή λοίμωξη. Όσοι ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα κάνουν κατάχρηση αιθυλικής αλκοόλης αναπτύσσουν πιο γρήγορα κίρρωση και ΗΚΚ. Μελέτες διαπίστωσαν ότι όσοι κατανάλωναν > 46 γρ/ημ αιθυλικής αλκοόλης ανέπτυξαν κίρρωση σε ποσοστό 26% έναντι 31% όσων καταναλώνουν < 46 γρ[280,281,282,283]. Ο κίνδυνος αναπτύξεως ΗΚΚ είναι πολύ συχνότερος σε αντι-HCV οροθετικούς σε σχέση με τους οροαρνητικούς [284]. ΗΚΚ σε αλκοολική κίρρωση εκδηλώνεται 8,3 φορές συχνότερα σε άτομα με αντι-HCV σε σχέση με τα οροαρνητικά [285]. Σε άτομα με χρόνια λοίμωξη HCV που έκαναν κατάχρηση αιθυλικής αλκοόλης διαπιστώθηκαν αυξημένα επίπεδα HCV-RNA ιαιμίας [286,287,288]. Σε χρήση αιθυλικής αλκοόλης πάνω από 10γρ/ημ διαπιστώθηκε αύξηση της φλεγμονής , αύξηση του τίτλου της ιαιμίας , ενώ παρατηρήθηκε μείωσή της με την ελάττωση της ποσότητας της αιθυλικής αλκοόλης [289]. Βέβαια οι αλκοολικοί εκτίθενται στον ίδιο ευκολότερα από άλλες πληθυσμιακές ομάδες (τραύματα, μεταγγίσεις κλπ)[290,291,292,293,294]. Προτείνεται αποχή ή κατανάλωση ποσότητας λιγότερη από 10γρ/ημ (αντιστοιχεί περίπου σε ένα ποτό).

1.16 Εξωηπατικές εκδηλώσεις του HCV

Ο ιός της ηπατίτιδας C(HCV) είναι ηπατοτρόπος και λεμφοτρόπος και συσχετίζεται με την εμφάνιση ποικίλων εξωηπατικών νοσημάτων που τα περισσότερα θεωρούνται ότι είναι αυτοάνοσης αιτιολογίας. Άλλες εξωηπατικές εκδηλώσεις μπορεί να οφείλονται σε τοπικό πολλαπλασιασμό του ιού ή σε εναπόθεση ανοσοσυμπλεγμάτων [113,114,115,116,117,118]. Με επιδημιολογικές και κλινικές παρατηρήσεις οι οποίες έχουν επιβεβαιωθεί



εργαστηριακά ο HCV έχει συσχετισθεί με την παραγωγή αυτοαντισωμάτων και την εκδήλωση των παθήσεων που αναφέρονται στο πίνακα 11.

Πίνακας 11. Νοσήματα που πιθανόν να συσχετίζονται αιτιοπαθογενετικά με την HCV λοίμωξη.

Μικτή κρουσφαιριναιμία τύπου II και III
 Μη-Hodgkin λέμφωμα
 Μεμβρανουπερπλαστική και μεμβρανώδης σπειραματονεφρίτιδα
 Σποραδική όψιμη δερματική πορφύρα
 Εστιακή χρόνια λεμφοκυτταρική σιαλαδενίτιδα
 θρομβοπενική πορφύρα
 Οζώδης πολυαρτηρίτιδα
 Ρευματοειδής αρθρίτιδα
 Οζώδες ερύθημα
 Σακχαρώδης διαβήτης
 Έλκος κερατοειδούς του Mooren
 Κνίδωση
 Θυρεοειδίτιδα Hashimoto
 Νόσος του Graves
 Υποξεία θυρεοειδίτιδα του De quervain [295]
 Σύνδρομο αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων
 Σύνδρομο κυψελίτιδας με πνευμονική ίνωση και διατακτική μυοκαρδιοπάθεια

Πρέπει να σημειώσουμε ότι το αντι-HCV μπορεί να είναι ψευδοθετικό λόγω υπεργασμασφαιριναιμίας ή παρουσίας ρευματοειδούς παράγοντα. Ο HCV αποτελεί το κυριότερο αίτιο της «ιδιοπαθούς» μικτής κρουσφαιριναιμίας τύπου II και III(95%)[296]. Οι πρωτείνες του HCV , τα αντι-HCV και το HCV-RNA έχουν ανιχνευθεί συμπυκνωμένα στο κρουίζημα. Επίσης κρουσφαρίνες έχουν διαπιστωθεί στο 40% περίπου των ασθενών με χρόνια HCV λοίμωξη οι οποίοι είναι συνήθως ασυμπτωματικοί με μέση τιμή κρουοκρίτη 2% [297,298,299].

E. Ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα (ΗΚΚ) -συσχέτιση με τη χρόνια ιογενή ηπατίτιδα

1. Συσχέτιση με τη χρόνια ηπατίτιδα Β

Η HBV λοίμωξη θεωρείται ο σημαντικότερος παράγων κινδύνου εμφάνισης του ΗΚΚ παγκοσμίως (Πίνακας 12)

Πίνακας 12. HBsAg οροθετικότητα σε ασθενείς με και χωρίς ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα σε διάφορες χώρες. [300,301].

Χώρες	HBsAg οροθετικότητα (%)	
	Ασθενείς με ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα	Controls
Φινλανδία	4,3	0,2
ΗΠΑ	17,9	0
Ιαπωνία	31,4	1,8
Ελλάδα	45,9	7,3
Σενεγάλη	61,2	11,3
Ν.Αφρική	61,1	11,3
Χογκ-Κονγκ	82,0	18,0
Κίνα	86,0	22,0
Ταϊβάν	91,2	15-22



Σε χώρες με υψηλή επίπτωση ΗΚΚ και υψηλό επιπολασμό ΗΒV , όπως Ταιβάν, Κίνα και χώρες της Ν.Αφρικής , το ποσοστό ασθενών με ΗΒV-θετικού ΗΚΚ προσεγγίζει το 80% [302,303,304] . Αξιοσημείωτο είναι ότι στις παραπάνω περιοχές ,ακόμη και οι ασθενείς με ΗΚΚ και ΗBsAg(-) εμφανίζουν σε υψηλό ποσοστό ορολογικούς δείκτες ΗΒV λοίμωξης με αποτέλεσμα το συνολικό ποσοστό των ασθενών με θετικό αντι-ΗΒc να υπερβαίνει το 95% [305]. Η ΗΒV λοίμωξη στην Ελλάδα (χώρα μέσης επίπτωσης ΗΚΚ και υψηλού επιπολασμού της προαναφερόμενης λοίμωξης σε σχέση με τις Β.Δ.Ευρωπαϊκές χώρες) αποτελεί τον κυριότερο παράγοντα κινδύνου του ΗΚΚ και το ποσοστό των ασθενών με ΗΒV-θετικό ΗΚΚ υπερβαίνει το 50% [306]. Αντίθετα σε χώρες με χαμηλό επιπολασμό ΗΒV λοίμωξης όπως Μ.Βρετανία ,Β.Ευρώπη , Αυστραλία ,ΗΠΑ και Ιαπωνία , το ποσοστό ασθενών με ΗΒV-θετικό ΗΚΚ είναι χαμηλό και κυμαίνεται από 15-20% [307,308,309].

Τα άτομα με χρόνια ΗΒV λοίμωξη που επιμολύνονται από τον ιό της ηπατίτιδας Δ εμφανίζουν χαμηλή συχνότητα ΗΚΚ πιθανά λόγω της βαρύτερης πορείας της νόσου και του επερχόμενου θανάτου προ της αναπτύξεως του νεοπλάσματος [305].

Ο μηχανισμός με τον οποίο ο ιός της ηπατίτιδας Β οδηγεί στην ανάπτυξη του ΗΚΚ δεν έχει γίνει σαφώς γνωστός. Πιθανή εξήγηση είναι ότι ο ΗΒV έχει άμεση και έμμεση καρκινογόνο δράση [310]. Σε ποσοστό 90% περίπου των ασθενών με ΗΒV-θετικό ΗΚΚ παρατηρείται ενσωμάτωση του γονιδιώματος του ΗΒV στο DNA των ηπατοκυττάρων [311], γεγονός που πιθανά προκαλεί ανακατατάξεις στο γενετικό υλικό και ίσως ενεργοποίηση ογκογονιδίων ή εξουδετέρωση ογκοανασταλτικών γονιδίων[310], υποδηλώνοντας και τον άμεσο ρόλο του ιού στην ηπατοκαρκινογένεση.

Πιθανός μηχανισμός φαίνεται να εμπλέκει το γονίδιο χ του ιού στη δέσμευση του ογκοανασταλτικού γονιδίου p53 του χρωμοσώματος 17 των ηπατοκυττάρων , συνήθως στο κωδικόνιο 249 με αποτέλεσμα την αδρανοποίηση και την απώλεια της φυσιολογικής τους λειτουργίας [308,312]. Ο μηχανισμός αυτός πιθανώς είναι υπεύθυνος για την εμφάνιση του ΗΚΚ κυρίως σε γεωγραφικές περιοχές υψηλής επίπτωσης αυτού και υψηλού επιπολασμού του ΗΒV[313]. Με παρόμοιο μηχανισμό πιθανά δρα και το PreS2/S γονίδιο του ιού[308].

Από την άλλη μεριά η ανάμειξη του γονιδίου p53 στην παθογένεια του νεοπλάσματος στις χώρες της Δ.Ευρώπης και ιδιαίτερα στη Μ.Βρετανία είναι σπάνια (10-30%) και συνήθως δεν αφορά το κωδικόνιο 249 [313]. Μερικοί ερευνητές υποστηρίζουν ότι η πρωτεΐνη χ μπορεί να ενεργοποιήσει τα πρωτο-ογκογονίδια c-myc και c-fos και να τα μετατρέψει σε δυνητικώς καρκινικά [313]. Μερικές επιδημιολογικές μελέτες έδειξαν ότι σε ορισμένες χώρες με χαμηλή συχνότητα ΗΒV-θετικού ΗΚΚ παρατηρείται υψηλή συχνότητα αντι-ΗBs και αντι-ΗBc στον ορό ασθενών με ΗΚΚ και ΗBsAg(-) με κύριο εκπρόσωπο τη Γαλλία με ποσοστό 40-50% [311]. Πρόσφατα ανιχνεύθηκε στους ασθενείς αυτούς ΗΒV-DNA στον καρκινικό ιστό , γεγονός που δείχνει την ενεργό παραμονή της λοίμωξης και την συμμετοχή της στην καρκινογένεση , πιθανά σε συνεργασία με άλλους παράγοντες όπως ΗCV λοίμωξη και αλκοόλ [311].



Ο ΗΒV εκτός από τον άμεσο ρόλο στην καρκινογένεση έχει πιθανά και έμμεση επίδραση λόγω των χρονίων βλαβών που προκαλεί στο ήπαρ και που χαρακτηρίζουν τη χρόνια ηπατίτιδα και την κίρρωση. Οι χρόνιες ηπατικές βλάβες καθιστούν ευάλωτο το DNA των ηπατοκυττάρων και επιρρεπές σε μεταλλάξεις [303,308].

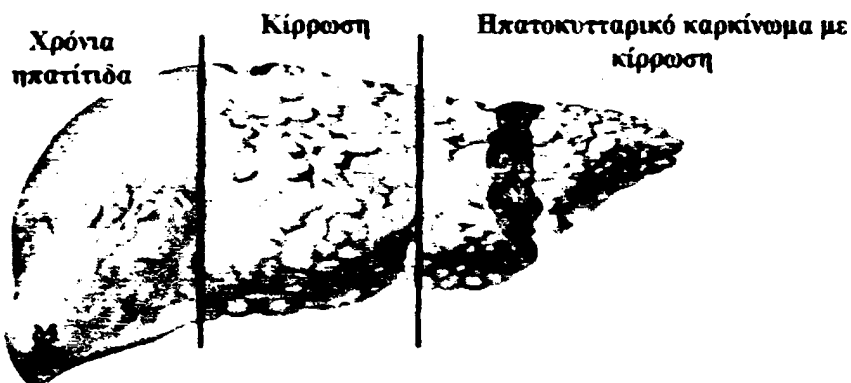
1.2 Συσχέτιση με τη χρόνια ηπατίτιδα C

Πρόσφατα επιδημιολογικά δεδομένα αναφέρουν ότι σε παγκόσμιο επίπεδο η λοίμωξη από ΗCV είναι ο δεύτερος σημαντικότερος παράγοντας κινδύνου για την ανάπτυξη ηπατοκυτταρικού καρκινώματος μετά από τη λοίμωξη από ΗΒV [314].

Μερικές μελέτες έχουν δείξει ότι ο μέσος όρος ηλικίας των ασθενών με ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα και λοίμωξη από ΗCV είναι μεγαλύτερος από εκείνο των ασθενών με καρκίνωμα και λοίμωξη από ΗΒV [315,316]. Το γεγονός αυτό αντανακλά διαφορές τόσο στην ηλικία κατά την οποία γίνεται η μετάδοση των κών όσο και στη φυσική ιστορία των δυο νόσων[317]. Σε πολλές χώρες της Άπω Ανατολής και της Αφρικής η μετάδοση του ΗΒV γίνεται συχνά κατά την περιγεννητική περίοδο και ένα σημαντικό ποσοστό ασθενών εμφανίζει ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα σε σχετικά νεαρή ηλικία και χωρίς να έχει κίρρωση. Παγκόσμια η μετάδοση του ΗCV γίνεται κατά κανόνα μετά την εφηβεία. Στην περίπτωση αυτή ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα συνήθως εμφανίζεται αφού πρώτα η χρόνια ηπατίτιδα C εξελιχθεί σε κίρρωση. Αυτό συνήθως συμβαίνει 2-4 δεκαετίες μετά την έναρξη της λοίμωξης.

Υπολογίζεται ότι ο κίνδυνος εμφάνισης ηπατοκυτταρικού καρκινώματος σε ασθενείς με εγκατεστημένη κίρρωση από ΗCV είναι στο επίπεδο του 1-7% το έτος [314]. Εξάλλου έχει εκτιμηθεί ότι 1,9-6,7% των ασθενών με χρόνια ηπατίτιδα C και 9,6-33,5% των ασθενών με κίρρωση θα παρατηρηθεί ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα σε 20 χρόνια από την έναρξη της λοίμωξης [314].

Πολλές μελέτες έχουν καταλήξει στο συμπέρασμα ότι ο γονότυπος 1b του ΗCV συνδέεται με την ανάπτυξη ηπατοκυτταρικού καρκινώματος περισσότερο απ' ό,τι οι υπόλοιποι γονότυποι [318,319,320]. Βέβαια το γεγονός αυτό δεν επιβεβαιώθηκε σε μια μεγάλη πρόσφατη προοπτική μελέτη από την Ιταλία[321]. Άλλες μελέτες διερεύνησαν το ρόλο πρόσθετων παραγόντων με βλαπτική επίδραση στο ήπαρ ασθενών με λοίμωξη από ΗCV και κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η κατανάλωση οινοπνεύματος όσο και η συλλοίμωξη από ΗΒV αυξάνουν σημαντικά τον κίνδυνο εμφάνισης ηπατοκυτταρικού καρκινώματος [322,323,324].

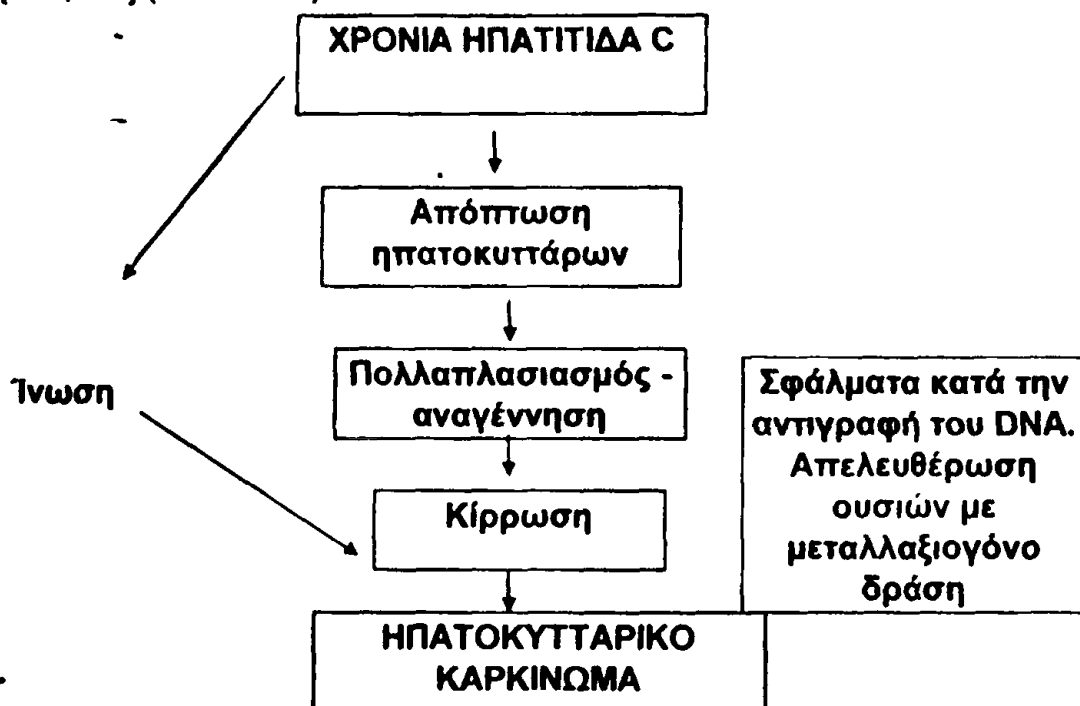


Εξέλιξη της ηπατίτιδας C σε κίρρωση και ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα



1.3 Μηχανισμοί ηπατοκαρκινογένεσης στην χρόνια ηπατίτιδα C

Η καρκινογένεση στη λοίμωξη από HCV είναι αποτέλεσμα διαδοχικών κυτταρικών διαταραχών που εμφανίζονται στα πλαίσια χρόνιας φλεγμονής [325,326] (Εικόνα 14).



Εικόνα 14. Πιθανοί μηχανισμοί ηπατοκαρκινογένεσης στη χρόνια ηπατίτιδα C

Η καταστροφή ηπατοκυττάρων προκαλεί αυξημένη μιτωτική δραστηριότητα η οποία μεγαλώνει την πιθανότητα τυχαίων σφαλμάτων κατά την αντιγραφή του DNA. Σημαντικός παράγοντας που παίζει πρωταρχικό ρόλο είναι η απελευθέρωση ουσιών με μεταλλαξιογόνο δράση, κυρίως ελευθέρων ριζών από κύτταρα που συμμετέχουν στους μηχανισμούς της χρόνιας φλεγμονής (Εικόνα 14). Νεώτερες μελέτες εστιάζουν το ενδιαφέρον στο ρόλο του υποξειδίου του αζώτου (NO) γιατί διαπιστώθηκε αυξημένη δραστηριότητα της επαγόμενης μορφής του ενζύμου NO-συνθετάση στη χρόνια ηπατίτιδα C [327,328]. Υπάρχουν μάλιστα ορισμένα πειραματικά δεδομένα, τα οποία υποδεικνύουν ότι εκτός από τη μεταλλαξιογόνο δράση του (με απευθείας επίδραση στο DNA των κυττάρων) το NO συμβάλλει στην καρκινογένεση και μέσω διαταραχών που προκαλεί στη διαμόρφωση της πρωτεΐνης p53 η οποία είναι προϊόν κατασταλατικού των όγκων γονιδίου [329].

Μερικές πρόσφατες δημοσιεύσεις εστιάζουν την προσοχή στην πιθανότητα προαγωγής της καρκινογένεσης από τη δράση της πρωτεΐνης του πυρήνα του HCV (HCV core protein). Πειραματικά δεδομένα από κυτταροκαλλιέργειες υποδεικνύουν ότι η πρωτεΐνη αυτή προάγει τη μεταγραφή πρωτοογκογονιδίων, ενώ καταστέλλει τη μεταγραφή του γονιδίου p53 καθώς και την επέλευση του «προγραμματισμένου» κυτταρικού θανάτου (φαινόμενο της απόπτωσης) [330,331,332,333].

1.4 Επίδραση της κίρρωσης



Ο ΗΚΚ αναπτύσσεται επί κίρρωτικού εδάφους σε ποσοστό που ξεπερνά το 80% των περιπτώσεων παγκόσμια [313]. Στην Ελλάδα [306] το ποσοστό συνύπαρξης ΗΚΚ και κίρρωσης κυμαίνεται από 42-80% και είναι σαφώς μικρότερο από το αντίστοιχο των λοιπών Δυτικοευρωπαϊκών χωρών [334], που ανέρχεται στο 80-93% και προφανώς οφείλεται στον μεν Ελλαδικό χώρο στον υψηλό επιπολασμό του ΗΒV , στη δε λοιπή Ευρώπη στον υψηλό επιπολασμό του ΗCΒ. Υπολογίζεται ότι το 30-50% των κίρρωτικών ασθενών θα αναπτύξει ΗΚΚ μετά παρέλευση δεκαετίας [308]. Τα ανωτέρω συγκλίνουν να θεωρείται η κίρρωση ως προκαρκινωματώδης κατάσταση [335].

Το μικρό ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα (μεγέθους λίγων εκατοστών) έχει συνήθως τη μακροσκοπική εικόνα καλά περιγεγραμμένου όζου [336,337]. Κατά τη μικροσκοπική εξέταση περιέχει νεοπλασματικά κύτταρα συνήθως καλά διαφοροποιημένα τα οποία διατάσσονται σε δοκίδες ή ψευδοαδενικούς σχηματισμούς. Καθώς αυξάνεται σε μέγεθος το καρκίνωμα αποκτά δορυφόρα οζίδια , διηθεί τους πέριξ κίρρωτικούς όζους καθώς και αιμοφόρα αγγεία και μπορεί να καταλήξει σε εκτεταμένη κατάληψη του ηπατικού παρεγχύματος.

Διάφοροι ερευνητές κατέληξαν συμπερασματικά ότι αλλοιώσεις που εμφανίζονται σε κίρρωτικό έδαφος με τη μορφή μεγάλων καλά περιγεγραμμένων όζων (1-2 εκ. μέγεθος) και ονομάζονται «δυσπλαστικοί όζοι», κατά την ιστολογική εξέταση παρουσιάζουν μορφολογία που καλύπτει το φάσμα ανάμεσα στους μεγάλους αναγεννητικούς όζους και το ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα καλής διαφοροποίησης[337, 334]. Εξάλλου έχει βρεθεί στατιστικά σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στην παρουσία δυσπλαστικών όζων και ηπατοκυτταρικού καρκινώματος σε παρασκευάσματα ήπατος με κίρρωση [335]. Επίσης δεν είναι σπάνια η διαπίστωση εστιών αρχόμενου ηπατοκυτταρικού καρκινώματος μέσα σε δυσπλαστικούς όζους[334,335].

Σε μια σειρά 337 παρασκευασμάτων ολικής ηπατεκτομής που ανακοινώθηκε πρόσφατα βρέθηκαν 30 δυσπλαστικοί όζοι σε ασθενείς με κίρρωση από ΗCΒ οι οποίοι περιείχαν εστίες ηπατοκυτταρικού καρκινώματος [338].

Σημειώνουμε εξάλλου ένα πολύ ενδιαφέρον εύρημα δύο μελετών από την Ιαπωνία [339] και την Ιταλία [340] , στις οποίες διαπιστώθηκε ελαττωμένη συχνότητα εμφάνισης ηπατοκυτταρικού καρκινώματος σε κίρρωτικούς ασθενείς στους οποίους χορηγήθηκε ιντερφερόνη -α.

1.5 Πρόγνωση του ΗΚΚ

Τα κύρια αίτια θανάτου για τη μεγάλη πλειοψηφία των ασθενών με ΗΚΚ είναι η ηπατική ανεπάρκεια και η κίρρωση [341,342]. Η επιβίωση των ασθενών με ΗΚΚ είναι αντιστρόφως ανάλογη του μεγέθους του όγκου και ανάλογη του βαθμού της υπολειπόμενης ηπατικής λειτουργίας. Σε μια προοπτική μελέτη 30 Ιαπώνων ασθενών με ΗΚΚ μεγέθους 3 εκ. που δεν έλαβαν θεραπεία η επιβίωση για ένα χρόνο ήταν 90,7%. Όμως η συντριπτική πλειοψηφία αυτών των ασθενών δεν επιβίωνε πάνω από 3 χρόνια. Η ταχύτητα διπλασιασμού του όγκου κυμαινόταν από 0,8 ως 12,2 μήνες (μέσος όρος 6 μήνες) , ανάλογα με το βαθμό της ιστολογικής διαφοροποίησης του όγκου [341,343]. Σε Ιταλική μελέτη ασθενών με κίρρωση σταδίου Child's A και ΗΚΚ με διάμετρο < 3 εκ. η τριετής επιβίωση ήταν 22% [344]. Επίσης σε άλλη Ιταλική μελέτη 119 ασθενών με ΗΚΚ που δεν έλαβαν θεραπεία 50%



επιβίωση ήταν 12 μήνες σε 21 ασθενείς με κίρρωση σταδίου Child's A, 6 μήνες σε 29 με Child's B και 3 μήνες σε 69 ασθενείς σταδίου Child's C [345].

Στο διεθνές Συμπόσιο για τον ΗΚΚ στην Ουγκάντα έγινε προσπάθεια ταξινόμησης των ασθενών σε στάδια βαρύτητας με βάση τον ασκίτη τη χολερυθρίνη την απώλεια βάρους και την πυλαία υπέρταση. Ο Primack και οι συνεργάτες του τροποποίησαν το παραπάνω σύστημα σταδιοποίησης και κατέληξαν στο ότι η παρουσία χολερυθρίνης $> 2\text{mg}$ και η απώλεια βάρους $> 25\%$ του σωματικού βάρους ήταν οι χειρότεροι προγνωστικοί δείκτες (επιβίωση $<$ από δύο μήνες) [346]. Ύστερα ο Okuda και οι συνεργάτες του χρησιμοποίησαν διαφορετικό σχήμα ταξινόμησης εξαιτίας του ότι σε αντίθεση με τη Νότιο Αφρική, η μεγάλη πλειοψηφία των Ιαπώνων ασθενών έχουν υποκείμενη κίρρωση (83%) οπότε ήδη έχουν συμπτώματα κατά τη διάγνωση του ΗΚΚ. Έτσι έγινε σταδιοποίηση με βάση το μέγεθος του όγκου, τον ασκίτη, τη χολερυθρίνη και την αλβουμίνη που εμμέσως προσδιορίζουν την ηπατική λειτουργία. Η μέση επιβίωση των ασθενών χωρίς θεραπεία ήταν για το στάδιο 1 8,3 μήνες, το στάδιο 2 δύο μήνες ενώ για το στάδιο 3 ήταν 0,7 μήνες [347].

ΣΤ. Θεραπεία χρόνιας ηπατίτιδας.

1. Θεραπεία χρόνιας ηπατίτιδας Β

Από θεραπευτική άποψη είναι αναγκαία η αντιδιαστολή μεταξύ χρόνιας λοίμωξης με τον αρχέτυπο ιό (wild type) ηπατίτιδας Β (HBV) ο οποίος εκφράζει στον ορό το αντιγόνο e (HBeAg+) και το προπυρηνικά μεταλλαγμένο στέλεχος του ιού Β που αδυνατεί να εκφράσει το HBeAg (HBeAg-) και χαρακτηρίζεται από την παρουσία του αντίστοιχου αντισώματος (αντι-HBe) στον ορό [22,348].

1.1 Θεραπεία χρόνιας λοίμωξης με τον αρχέτυπο ιό Β (HBeAg+)

Η άλφα -ιντερφερόνη (IFN) ήταν το μοναδικό φάρμακο επίσημα εγκεκριμένο για τη θεραπεία της χρόνιας HBeAg+ κατά τη χρονική διάρκεια της μελέτης μας. Χορήγηση 5-10 εκατομμυρίων μονάδων (MU) 3 φορές /εβδ. επί 4-6 μήνες προκαλεί μακροχρόνια ύφεση στο 25-40% των ασθενών [349,350,351,352,353]. Σύμφωνα με πρόσφατη μετά-ανάλυση [19] με το ανωτέρω θεραπευτικό σχήμα αναμένεται καταστολή του ιικού πολλαπλασιασμού και αρνητικοποίηση του HBeAg 20% πιο συχνά (33% και 12% σε θεραπευθέντες και μη αντίστοιχα) και αρνητικοποίηση του HBsAg 6% πιο συχνά (7,8% και 1,8% αντίστοιχα). Υποτροπές συμβαίνουν στο 5-10% των ατόμων που αρνητικοποίησαν το HBeAg και αυτό παρατηρείται συνήθως εντός έτους από συμπληρώσεως θεραπείας [23].

Μακροχρόνια παρακολούθηση των ασθενών έδειξε ότι ο ρυθμός αρνητικοποίησης του HBeAg συνεχίζεται (φθάνει το 67% εντός 7 ετών) [24], και οι HBeAg- αρνητικοί ασθενείς εμφανίζουν στην μεγίστη πλειοψηφία τους φυσιολογικές τρανσαμινάσες και απουσία HBV-DNA στον ορό ελεγμένο με PCR και οι περισσότεροι αρνητικοποιούν τελικά το HBsAg (65% μετά 4ετία) [24]. Η αρνητικοποίηση του HBeAg επηρεάζει θετικά την επιβίωση των ασθενών με χρόνια HBeAg+ ηπατίτιδα και μειώνει σημαντικά την πιθανότητα θανάτου από ηπατικά αίτια ή ηπατοκυτταρικό καρκίνο [20].



1.2 Θεραπεία χρόνιας λοίμωξης με προπυρηνικά μεταλλαγμένο ιό Β(HBeAg-).

Αφορά κυρίως τον Έλληνα ιατρό περισσότερο απ'ότι η χρόνια HBeAg+ , δεδομένου ότι περίπου 90% των Ελλήνων ασθενών με χρόνια ηπατίτιδα Β είναι HBeAg- [22,354]. Μετά χορήγηση 3-5 MU άλφα-ιντερφερόνης , 3 φορές /εβδ. για 12 μήνες η πρωταρχική βιοχημική ανταπόκριση της χρόνιας HBeAg- είναι υψηλή (60-80%) , αλλά όμως και το ποσοστό υποτροπών είναι πολύ υψηλό (50-80%) μετά την διακοπή της θεραπείας.[22,348]. Ιολογική ανταπόκριση μετά 6-μηνη λήψη 5-9 MU IFN 3 φορές /εβδ. παρατηρείται μόνο στο 13% των ασθενών. Μακροχρόνιες (διάρκειας 5 ετών) βιοχημικές ανταποκρίσεις παρατηρούνται στο 24% μετά 12-μηνη και στο 28% μετά 24-μηνη θεραπεία με 3-6 MU άλφα-IFN [27]. Το 1/3 των ασθενών που εισέρχονται σε μακροχρόνια ύφεση αρνητικοποιούν το HBsAg σε μέσο χρόνο 2,2 ετών από την έναρξη της θεραπείας.

Αναδρομικές πολυπαραγοντικές αναλύσεις έχουν δείξει ότι η πιθανότητα της απάντησης στη θεραπεία συσχετίζεται στατιστικά με μερικά κλινικά ,βιοχημικά και ορολογικά χαρακτηριστικά τα οποία υπάρχουν από την αρχική εκτίμηση των ασθενών. Τα χαρακτηριστικά αυτά παρουσιάζονται στον **πίνακα 13**[25,355].

Πίνακας 13. Προγνωστικοί παράγοντες καλής μακροχρόνιας ανταπόκρισης στην ιντερφερόνη στην χρόνια ηπατίτιδα Β.

Μικρή διάρκεια νόσου
Υψηλές τιμές στον ορό των AST & ALT
Χρόνια ενεργός ηπατίτιδα με ίνωση στην βιοψία
Χαμηλή τιμή HBV-DNA
Φυσική (αρχέτυπη) μορφή του ιού(HBeAg positive)
Απουσία ανοσοκαταστολής

Σε κλινικές μελέτες τα νουκλεοσιδικά ανάλογα { lamivudine (3TC ,Epirivir) , famciclovir(Famvir),ganciclovir(Cymevene),lobucavir,&adefovir} χρησιμοποιήθηκαν ευρέως κατά τις φάσεις της φυσικής ιστορίας της χρόνιας HBV λοίμωξης ,που συνοδεύονται από σημαντικού βαθμού ιαιμία με ή χωρίς την παρουσία του HBeAg. Τα δύο πρώτα ευρίσκονται σε κλινικές δοκιμές προχωρημένου σταδίου III και υπάρχουν ήδη αρκετά δεδομένα για στήριξη γνώμης για την αποτελεσματικότητά τους στην θεραπεία της χρόνιας HBV λοίμωξης[356,357,358]

Η 3TC (νουκλεοσιδικό ανάλογο δεύτερης γενιάς , ανάλογο πυριμιδίνης) παρουσιάζει έντονη αντιική δράση έναντι του HBV προκαλώντας βιοχημική και ιολογική ύφεση της νόσου [359,360]. Είναι λίαν δραστική σε χορήγηση από του στόματος. Σε δοσολογία 100 mg [23], ημερησίως αναστέλλει σχεδόν πλήρως τον HBV. Αρνητικοποιεί το HBeAg. , αλλά σε ποσοστό μικρότερο απ' ότι η IFN (16% και 33% αντίστοιχα). Βελτιώνει την ιστολογική εικόνα μετά χορήγηση 6ή 12 μηνών και είναι άριστα ανεκτή.

Όμως η lamivudine δεν είναι ιοκτόνος. Αναστέλλει μόνο τον πολλαπλασιασμό του HBV και χορηγησή της επί μακρά χρονικά διαστήματα , ακόμη και πέραν του 1 έτους, ακολουθείται σύντομα από επαναφορά της ιαιμίας στα προ θεραπείας επίπεδα όταν σταματήσει η χορήγηση του φαρμάκου [361]. Εξάλλου μεγάλο ποσοστό των ασθενών συνήθως μετά το



πρώτο εξάμηνο θεραπείας παρουσιάζει ιική αντοχή στο φάρμακο. Αντίσταση του HBV στην lamivudine παρατηρείται σε 12-25% των ανοσοικανών ασθενών και έως 40% στους ανοσοκατεσταλμένους εντός του 1^{ου} έτους [362,363,364].

Το famciclovir έχει χορηγηθεί σαν μονοθεραπεία σε μεταμοσχευμένους για χρονικά διαστήματα πέραν των 2 ετών , χωρίς παρενέργειες. Τα ποσοστά HBV αντοχής στο famciclovir είναι ανάλογα εκείνων της lamivudine [358].

Όσον αφορά το συνδυασμό IFN και νουκλεοσιδικών παραγώγων στη θεραπεία της χρόνιας ηπατίτιδας Β , η in vitro ανοσολογική απάντηση των T-λεμφοκυττάρων προς το HBcAg δεν βελτιώθηκε σε ασθενείς που θεραπεύονταν με συνδυασμό IFN και lamivudine [365]. Εξάμηνη συνδυασμένη χορήγηση lamivudine ή ganciclovir με IFN προκάλεσε καταστολή του HBV-DNA ορού στο 95% και 60% αντίστοιχα , αλλά και ιολογική υποτροπή σε όλους τους ασθενείς 1-3 μήνες μετά την διακοπή της [366].

1.3 Θεραπεία χρόνιας Δέλτα ηπατίτιδας

Η θεραπευτική της αντιμετώπιση παραμένει εξαιρετικά δύσκολη. Μερικοί ερευνητές συνιστούν τη χορήγηση μεγάλων δόσεων IFN (5 MU καθημερινά ή 9-10 MU 3 φορές /εβδ) για χρονικά διαστήματα πέραν του 12-μήνου αλλά η αναμενόμενη μακροχρόνια βιοχημική απάντηση είναι μέτρια (περίπου 30%) και η ιολογική μηδενική [28,29].

1.4 Θεραπεία χρόνιας ηπατίτιδας C

Η θεραπεία των νέων περιστατικών χρόνιας ηπατίτιδας C στηρίζεται στην χορήγηση άλφα-IFN σε δόση 3 MU 3 φορές /εβδ επί 12 μήνες με αναμενόμενη πρωτογενή ιολογική ανταπόκριση 35-40% και μακροχρόνια ιολογική κάθαρση 18-31% [30,17,32]. Νεώτερα εντατικοποιημένα σχήματα περιλαμβάνουν καθημερινή χορήγηση 3ή 5 MU άλφα-IFN επί ένα μήνα και την ίδια δόση 3 φορές /εβδ επί άλλους 11 μήνες. Με τα σχήματα αυτά αναφέρεται πρωτογενής ιολογική ανταπόκριση 71% αλλά δεν υπάρχει ακόμη εμπειρία για μακροχρόνια απάντηση[34]. Κύριοι παράγοντες κακής μακροχρόνιας ανταπόκρισης σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C που λαμβάνουν άλφα-IFN θεωρούνται η παρουσία κίρρωσης (περίπου 3% μακροχρόνια ανταπόκριση) , τα υψηλά επίπεδα HCV-RNA ορού προ θεραπείας ($>3.5 \times 10^6$ γονδ/ml: 11% περίπου μακροχρόνια ανταπόκριση) [3] και ο γονότυπος 1b (6% μακροχρόνια ανταπόκριση) (Πίνακας 14).

Πίνακας 14.Ευνοικοί προγνωστικοί παράγοντες ανταπόκρισης της χρόνιας ηπατίτιδας C στη θεραπεία με IFN

Χαμηλοί τίτλοι HCV-RNA πριν την έναρξη της θεραπείας ($<10^5$ αντίγραφα/ ml) [367,368].

Οι γονότυποι 2^ο και 4 του HCV [98,368](Ταξινόμηση κατά Simmonds) [106].

(Πτωχή ανταπόκριση παρατηρείται στους ασθενείς με το γονότυπο 1b) [102,367].

Χαμηλό σκορ ίνωσης κατά Knodell's [368].

Λοβιδιακή ηπατίτιδα στην ηπατική βιοψία που λαμβάνεται προ της έναρξης της θεραπείας [369].

Βραχεία διάρκεια της νόσου (κάτω των 24 μηνών)[369].

Απουσία κίρρωσης του ήπατος [369].

Νεαρή ηλικία του ασθενούς [102].



Η συνδυασμένη θεραπεία IFN με ribavirin (νουκλεοσιδικό ανάλογο) για χρονικό διάστημα 6 μηνών συνιστάται σε πρωτοθεραπευόμενους ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C, αλλά κυρίως σε άτομα που υποτροπίασαν μετά πρωτογενή βιοχημική και ιολογική ανταπόκριση στην IFN. Η συνδυασμένη αγωγή αποδίδει μακροχρόνια ιολογική κάθαρση στο 40-77% των ασθενών, κυρίως γιατί μειώνει το ποσοστό υποτροπών μετά τη διακοπή θεραπείας[25]. Ασθενείς που δεν ανταποκρίθηκαν βιοχημικά ή /και ιολογικά σε πρώτη χορήγηση IFN δεν ανταποκρίνονται συνήθως σε συνδυασμένη αγωγή IFN - ribavirin. Οι ασθενείς αυτοί αποτελούν το 40-60% των αρχικώς θεραπευόμενων και αποτελούν κύριο θεραπευτικό πρόβλημα σήμερα. Σημειώνουμε στο σημείο αυτό τα πρόδρομα αποτελέσματα πρόσφατης μικρής κλινικής δοκιμής στην οποία 3-πλή θεραπεία με IFN, ribavirin και amantadine επί 6 μήνες προκάλεσε ιολογική κάθαρση στο 70% των ασθενών[370].

1.5 Μηχανισμοί δράσης των διαθέσιμων αντιικών φαρμάκων.

1.5α Ιντερφερόνη.

Οι ιντερφερόνες(IFN) αποτελούν οικογένεια 20 τουλάχιστον χημικώς συγγενών γλυκοπρωτεϊνών [371] οι οποίες παράγονται φυσιολογικά από διάφορους τύπους κυττάρων και εμφανίζουν αντιική [372] αντιπολλαπλασιαστική και ανοσοτροποποιητική δράση [373]. Κλινικά στη θεραπεία της χρόνιας ενεργού ηπατίτιδας έχουν εκτιμηθεί 4 τύποι IFN : η IFN-a, η IFN-a2b, η IFN-a2a, η IFN-an1(φυσική ή λεμφοβλαστοειδής) και η IFN-aCN(συνθετική ή consensus).

Η ιντερφερόνη - a2b(Intron-A^R) είναι ανασυνδυασμένη IFN-a που παράγεται σε κολοβακτηρίδια με ενσωματωμένα πλασμίδια με το γονίδιο αλφα-2b προερχόμενο από ανθρώπινα λευκοκύτταρα. Είναι η πρώτη IFN που χρησιμοποιήθηκε στη θεραπεία της χρόνιας ηπατίτιδας και με αυτή υπάρχει η μεγαλύτερη κλινική εμπειρία και κυκλοφορεί επίσημα για θεραπεία χρόνιας ηπατίτιδας σε 65 χώρες μεταξύ των οποίων και στην Ελλάδα [374,375]. Στις ΗΠΑ η επίσημη άδεια για 3 φορές την εβδομάδα χρήση 3MU επεκτάθηκε πρόσφατα (Μάρτιος 1997) από 6-μηνη σε 12-24-μηνη θεραπεία με το ίδιο δοσολογικό σχήμα. Στην Ευρωπαϊκή Ένωση ισχύει η σύσταση για χρήση 3MU IFN-a2b 3 φορές την εβδομάδα επί 12 μήνες με δυνατότητα παρατάσεως σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C [375].

Η ιντερφερόνη αλφα-2a (Roferon^R) παράγεται όμοια όπως η προηγούμενη, αλλά τα παραγόμενα πεπτιδία διαφέρουν από την IFN-a2b κατά ένα αμινοξύ. Η IFN-a2a έχει επίσης χρησιμοποιηθεί εκτεταμένα σε κλινικές δοκιμές θεραπείας χρόνιας ενεργού ηπατίτιδας[376]. Κυκλοφορεί επίσημα σε 36 χώρες. Στην Ευρωπαϊκή Ένωση ισχύει επίσημα η δοσολογία 3-6 MU 3 φορές την εβδομάδα επί 6 μήνες, ακολουθούμενη από 3 MU επίσης για 6 μήνες. Στις ΗΠΑ η χρήση IFN-a2b για χρόνια ηπατίτιδα ενεκρίθη επίσημα το Νοέμβριο 1996 για σχήμα 3 φορές την εβδομάδα 3 MU για 12 μήνες [375].

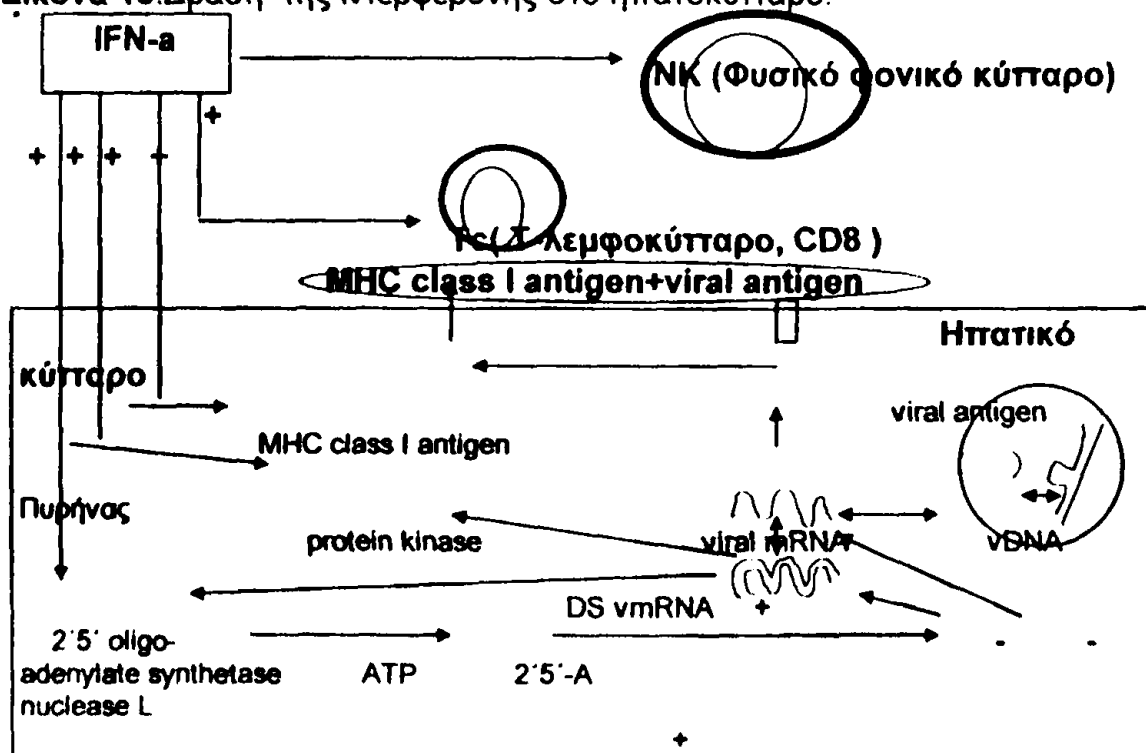
Η ιντερφερόνη άλφα-n1 (Wellferon^R) είναι μίγμα 9 υποτύπων IFN-a που παράγονται από ανθρώπινα Β λεμφοκύτταρα σε συνεχή καλλιέργεια. Κυκλοφορεί επίσημα σε 14 χώρες. Η Ευρωπαϊκή Ένωση έχει δώσει άδεια για χρήση 5 MU 3 φορές την εβδομάδα επί 12 μήνες στη θεραπεία της χρόνιας ηπατίτιδας [377].



Η consensus ιντερφερόνη (IFN- α CN) είναι προϊόν ολικής χημικής συνθέσεως στο οποίο οι αλληλουχίες των αμινοξέων έχουν επιλεγεί ανάλογα με τη συχνότητα εκπροσωπήσεως εκάστου στους διαφόρους φυσικούς υποτύπους IFN- α . Η δοσολογία της εκφράζεται σε μονάδες βάρους (μ g) , με 3MU IFN- α 2b ισοδύναμες προς 9 μ g IFN- α CN.

Όσον αφορά τον μηχανισμό δράσης η IFN- α αντιδρά με ειδικούς υποδοχείς της κυτταροπλασματικής μεμβράνης προκαλώντας την σύνθεση σειράς ενζύμων και πρωτεϊνών (ριβονουκλεάσες) από τις οι πιο γνωστές είναι η 2-5 ολιγοαδενυλική συνθετάση και η κινάση των πρωτεϊνών , που καταστρέφουν το αγγελιοφόρο RNA και αναστέλλουν την παραγωγή ιικών πρωτεϊνών. Παράλληλα η IFN- α αυξάνει την έκφραση των γονιδίων του συστήματος μέζονος ιστοσυμβατότητας κλάσεως 1 (MHC Class I) στην ηπατοκυτταρική πρωτοπλασματική μεμβράνη για να αποτελέσουν μαζί με ιικά αντιγόνα στόχο των T λεμφοκυττάρων. Εξάλλου η IFN- α διεγείρει τα μακροφάγα κύτταρα , τα φυσικά φονικά λεμφοκύτταρα (NK) και τα κυτταροτοξικά T λεμφοκύτταρα. (Εικόνα 15). Η ενίσχυση του ανοσιακού συστήματος στην προσπάθειά του να εκκριώσει τον ιό με την καταστροφή των μολυσμένων ηπατοκυττάρων αποτελεί την κυριότερη δράση της IFN- α [371,372,373,376]. Εάν το ανοσιακό σύστημα είναι αδρανές η IFN- α δεν βοηθά.

Εικόνα 15. Δράση της ιντερφερόνης στο ηπατοκύτταρο.



Οι συνηθέστερες ανεπιθύμητες ενέργειες της άλφα-ιντερφερόνης στις δόσεις που χρησιμοποιούνται στη χρόνια ηπατίτιδα , είναι συνήθως ήπιες και καλά ανεκτές [378,379]. Οι παρενέργειες είναι μεγάλες με την πρώτη δόση ιντερφερόνης και συνίστανται σε «γριππώδες σύνδρομο» δηλαδή κακουχία , πυρετός , μυαλγίες , αρθραλγίες , πονοκέφαλος , ναυτία , που εμφανίζεται 4-8 ώρες μετά την ένεση και διαρκεί 4-12 ώρες. Συνήθως μετά την πρώτη εβδομάδα θεραπείας τα μόνα συμπτώματα που παρατηρούνται είναι πυρετός και μυαλγίες που περιορίζονται σημαντικά με τη χορήγηση ενός γραμμαρίου παρακεταμόλης μία ώρα πριν ή αμέσως μετά την ένεση.

Οι συνήθεις καθυστερημένες ανεπιθύμητες ενέργειες της θεραπείας με άλφα-ιντερφερόνη είναι κυρίως η κόπωση και οι μυαλγίες που μπορεί να είναι έντονες και να οδηγήσουν σε αναγκαστική μείωση της δόσης του φαρμάκου. Εξάλλου ορισμένοι ασθενείς παραπονούνται για ναυτία, ανορεξία, απώλεια βάρους, δυσπεπτικά ενοχλήματα και αλωπεκία. Περίπου 15% των ασθενών εμφανίζει ψυχολογικά προβλήματα όπως άγχος, κατάθλιψη, ευερεθιστότητα και κακοκεφιά [380,381]. Αυτά τα ψυχολογικά συμπτώματα αποτελούν τα κύρια αίτια πρόωμης διακοπής της θεραπείας με άλφα-ιντερφερόνη. Σπανιότερα έχουν περιγραφεί περιπτώσεις οξείας ψύχωσης, παραληρήματος, παράνοιας και απόπειρας αυτοκτονίας [381]. Επί πλέον η άλφα-ιντερφερόνη προκαλεί μικρή καταστολή του μυελού που συνήθως συνοδεύεται από ελάττωση των λευκοκυττάρων και των αιμοπεταλίων κατά 25-50%. Ασθενείς με μη αντιρροπούμενη κίρρωση ήπατος έχουν αυξημένο κίνδυνο μικροβιακών λοιμώξεων. Άλλες σπάνιες αλλά συνήθως αναστρέψιμες σοβαρές ανεπιθύμητες ενέργειες της IFN-α είναι: σπασμοί [382], νεφρωσικό σύνδρομο ή οξεία διάμεση νεφρίτιδα [383], καρδιακές αρρυθμίες και συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια [384].

Η θεραπεία με IFN-α μπορεί να προκαλέσει αυτοάνοσα φαινόμενα και 50% των ασθενών που λαμβάνουν θεραπεία για 4 μήνες αναπτύσσουν χαμηλούς τίτλους αντιπυρηνικών, αντι-λειτουργικών και αντιθυρεοειδικών αντισωμάτων [385]. Αυτοάνοσα νοσήματα παρατηρούνται περίπου στο 2% των ασθενών που λαμβάνουν IFN-α για 4-6 μήνες και το συνηθέστερο είναι θυρεοειδίτιδα με είτε υπερθυρεοειδισμό είτε υποθυρεοειδισμό [386,387]. Άλλα αυτοάνοσα νοσήματα σχετιζόμενα με τη θεραπεία με IFN-α είναι: Θρομβοπενική πορφύρα, αιμολυτική αναιμία, ρευματοειδής αρθρίτιδα, σύνδρομο ερυθματώδους λύκου, αγγειίτιδα και ισσουλινοεξαρτώμενος διαβήτης [388,389,390]. Εξάλλου κατά τη διάρκεια της θεραπείας αναπτύσσονται αντισώματα έναντι της IFN-α συνήθως παροδικά σε χαμηλό τίτλο που σπανίως επηρεάζουν την ανταπόκριση στη θεραπεία [391,392].

1.5β Νουκλεοσιδικά ανάλογα.

Τα νουκλεοσιδικά ανάλογα χρησιμοποιούνται τα τελευταία χρόνια για την αντιμετώπιση ιογενών λοιμώξεων (HIV, CMV). Τα νουκλεοσιδικά ανάλογα ενσωματώνονται στο γονιδίωμα κατά τον ιικό πολλαπλασιασμό και διακόπτουν την επιμήκυνση της αλυσίδας των νουκλεοτιδίων. Τα νουκλεοσιδικά ανάλογα διακρίνονται με βάση την προέλευση τους σε ανάλογα **πουρίνης** (βινταραμπίνη-ARA-A, αδενίνο-αραβινοσίδη -ARA-AMP, ασικλοβίρη, γκανσικλοβίρη-DHPG, φαμισκλοβίρη, πενσικλοβίρη, ριμπαβιρίνη, ζιντοβουντίνη-AZT, ζασιταμπίνη-ddC, διδανοσίνη-ddI) και ανάλογα **πυριμιδίνης** (λαμβιβουντίνη-3TC, φιαλουριδίνη-FIAU) και με βάση το χρόνο χρησιμοποίησής τους στη θεραπεία των ιογενών λοιμώξεων, σε πρώτης (ARA-A, ARA-AMP, ασικλοβίρη, DHPG, ριμπαβιρίνη, AZT, ddC, ddI) και δεύτερης (3TC, FIAU, φαμισκλοβίρη) γενιάς.

Τα νουκλεοσιδικά ανάλογα δρουν αναστέλλοντας την ανάστροφη μεταγραφάση/πολυμεράση του HBV διότι σαν διδεοξυνουκλεοτιδία ενσωματώνονται στο DNA του ιού κατά τον πολλαπλασιασμό του και διακόπτουν την επιμήκυνση της ιικής αλυσίδας [393]. Τον κύριο ρόλο στην έναρξη της μεταγραφής και την διατήρηση της λοίμωξης έχει το κλειστό κυκλικό DNA (covalently closed circular-CCC DNA or supercoiled DNA) αφού



αυτό πρέπει να εισέλθει στον πυρήνα του ηπατοκυττάρου για να αρχίσει η διαδικασία της μεταγραφής. Η σύνθεση του CCC DNA μπορεί να ανασταλλεί από κάποια νουκλεοσιδικά ανάλογα με κύριο εκπρόσωπο την φαμισκλοβίρη [394].

Έχει αποδειχθεί ότι, ενώ η διάρκεια ημιζωής του HBV στο πλάσμα είναι 24 ώρες, ο μέσος όρος ημιζωής των μολυσμένων ηπατοκυττάρων από τον HBV είναι 10-100 ημέρες [395,396]. Αν κανείς θεωρήσει ως χρόνο ημιζωής των μολυσμένων ηπατοκυττάρων το μέγιστον (100 ημέρες) τότε απαιτείται θεραπεία 3 ετών για να μειωθεί ο αρχικός πληθυσμός τους κάτω από 0,1%. Το CCC DNA επίσης που αποτελεί την «δεξαμενή του ιού» για την ανανέωση της λοίμωξης, έχει μακρά διάρκεια ζωής. Απαιτείται λοιπόν παρατεταμένη θεραπεία για να ανασταλεί η σύνθεση των νέων αντιγράφων μέχρι να εκλείψουν όλα τα μολυσμένα ηπατοκύτταρα που ήδη το περιέχουν. Πρόωρη διακοπή της θεραπείας με νουκλεοσιδικά ανάλογα έχει οδηγήσει σε αναζωπύρωση της λοίμωξης η οποία μπορεί να είναι απειλητική για την ζωή ιδίως σε άτομα με μειωμένες ηπατικές εφεδρείες [397,398].

Η ριμπαβιρίνη δεν αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό του HCV [399], αλλά παρουσιάζει ανοσοτροποποιητική δράση πιθανώς αναστέλλοντας τις κυττοκίνες που παράγονται από τα μακροφάγα (παράγοντας νεκρώσεως του όγκου, ιντερλευκίνη-1κ.λ.π.) [400].

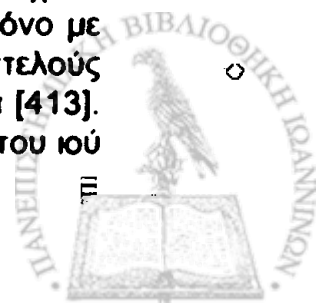
1.6 Ίικη αντοχή

Η ύπαρξη πολλαπλών μη ειδικών μεταλλαγών στην πυρηνική περιοχή (core) του ιού ηπατίτιδας Β (HBV) έχει συσχετισθεί από πολλούς ερευνητές με μειωμένη ανταπόκριση στην θεραπεία με IFN-α [394,395]. Το εύρημα εξηγήθηκε ως προσπάθεια του ιού να διαφύγει από την πίεση του ανοσιακού συστήματος με την εμφάνιση νέων στελεχών ανθεκτικότερων στην θεραπεία. Βέβαια, η συσχέτιση του αριθμού των μεταλλαγών και της αντοχής του HBV στην IFN-α δεν επιβεβαιώθηκε από μεταγενέστερες μελέτες [396].

Η εφαρμογή της λαμιβουδίνης (lamivudine) σε μακροχρόνιες θεραπείες έχει σαν συνέπεια να εμφανίζεται το «φαινόμενο διαφυγής». Σαν φαινόμενο διαφυγής (breakthrough) ορίζεται η επανεμφάνιση του HBV-DNA και η αύξηση των τρανσαμινασών (ALT) παρά την αρχική ανταπόκριση στο φάρμακο και ενώ η ασθενής βρίσκεται σε θεραπεία. Αποδόθηκε στην εμφάνιση και επικράτηση κατά την διάρκεια της θεραπείας στελεχών του ιού ανθεκτικών στο φάρμακο.

Το φαινόμενο της ΐικης αντοχής αρχίζει να εμφανίζεται τουλάχιστον 6 μήνες μετά την έναρξη της θεραπείας και η συχνότητά του αυξάνεται ανάλογα με τη διάρκεια της θεραπείας [409]. Η συχνότητα εμφάνισής του αυξάνεται ανάλογα με το επίπεδο της αιμίας και έτσι είναι συχνότερο σε HBeAg θετικούς ασθενείς [410]. Είναι επίσης πιθανώς δόσοεξαρτώμενο αφού φαίνεται ότι εμφανίζεται σπανιότερα κατά την χορήγηση μεγάλων δόσεων (300-600 mg) του φαρμάκου [411].

Ως ΐικη αντοχή του HBV λοιπόν έναντι των νουκλεοσιδικών αναλόγων ορίζεται η εμφάνιση μεταλλαγών και η ανάπτυξη ανθεκτικών στελεχών. Πρόσφατες μελέτες συσχετίζουν το φαινόμενο της ΐικης αντοχής όχι μόνο με το φαινόμενο διαφυγής αλλά και με περπτώσεις αργής και ατελούς ανταπόκρισης στη θεραπεία [412], ή με μη ανταπόκριση στη θεραπεία [413]. Η εμφάνιση μεταλλαγών είναι φανερή στην περιοχή της πολυμεράσης του ιού



που έχει χαρακτηρηές ανάστροφης μεταγραφάσης (Reverse transcriptase) και μάλιστα στους τομείς Β και C. Οι πιο συχνές μεταλλαγές είναι η 552 από μεθειονίνη σε βαλίνη ή ισολευκίνη και η 528 από λευκίνη σε μεθειονίνη.

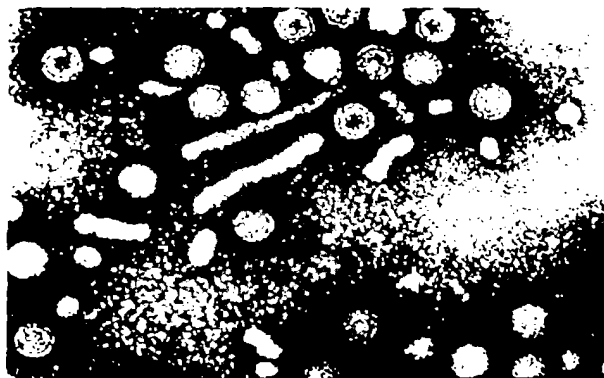
Όσον αφορά τον ιό της ηπατίτιδας C (HCV), βρέθηκε ότι η ευαισθησία στην ιντερφερόνη εξαρτάται από τις μεταλλαγές περιοχής 40 αμινοξέων (2209-2248) που βρίσκεται στο καρβοξυλικό άκρο της 5A μη δομικής περιοχής του HCV (NS5). (Interferon Sensitivity Determining Region-ISDR). Έτσι στελέχη του ιού με 1 μεταλλαγή σε σχέση με την αλληλουχία βάσεων αναφοράς του γονοτύπου 1b θεωρούνται ανθεκτικά στην IFN-α ενώ εκείνα με 1-3 μεταλλαγές θεωρούνται μέσης ευαισθησίας [414, 415,416]. Έχει αποδειχθεί ότι η παραπάνω περιοχή ρυθμίζει την πρωτεϊνική κινάση έναν μεσολαβητή της δράσης της IFN-α. Η αδρανοποίηση της πρωτεϊνικής κινάσης είναι ένας μηχανισμός με τον οποίο ο HCV αποφεύγει την αντιική δράση της IFN-α [411].

Z. Μηχανισμός καταστροφής του ηπατοκυττάρου στη χρόνια ιογενή ηπατίτιδα.

Ο μηχανισμός καταστροφής του ηπατοκυττάρου στη χρόνια ιογενή λοίμωξη είναι η απόπτωση σαν αποτέλεσμα της επαφής κυτταροτοξικών λεμφοκυττάρων που αναγνωρίζουν αντιγονικά μόρια του ιού στη μεμβράνη των κυττάρων. Υπάρχουν όμως διακριτές διαφορές στο βαθμό και την ποιότητα της ανοσολογικής και φλεγμονώδους απάντησης του HBV και του HCV που ενδεχόμενα φαίνεται να αντανακλούν διαφοροποιήσεις στην κλινική εικόνα και την παθογένεια.

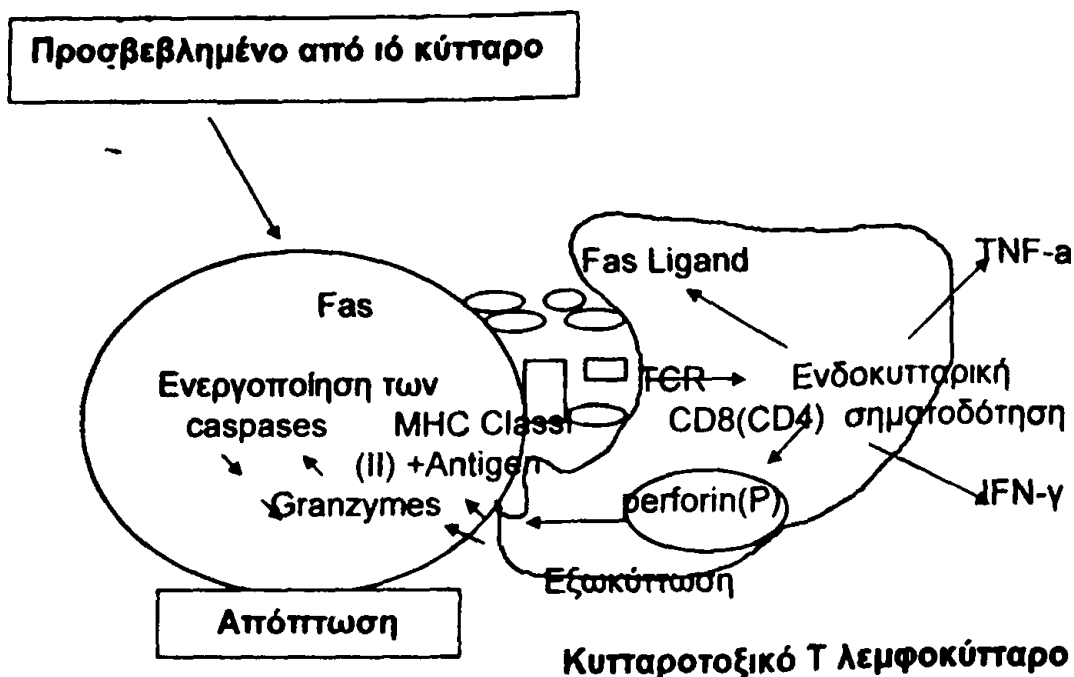
α) Η κυτταροτοξική δραστηριότητα έναντι αντιγόνων του ιού είναι μειωμένη στη χρόνια HBV λοίμωξη, ενώ στη χρόνια HCV λοίμωξη υπάρχει έντονη πολυκλωνική δραστηριότητα έναντι δομικών και μη δομικών πρωτεϊνών του ιού [401].

β) Στη χρόνια HBV λοίμωξη τα ενδοηπατικά κυτταροτοξικά λεμφοκύτταρα δεν εκκρίνουν μόνο τύπου I κυτταροκίνες (IFN-γ, TNF-α) [402], που έχουν έντονη κατασταλτική δράση στον πολλαπλασιασμό του HBV [403], αλλά και τύπου II κυτταροκίνες (IL-4) με αποτέλεσμα να αναχαιτίζεται η τύπου I αντίδραση [402] (Εικόνα 16).



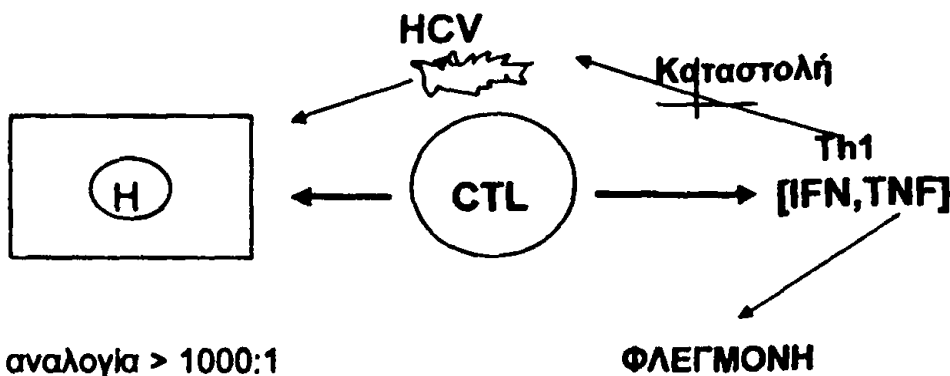
Εικόνα του HBV με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο





Εικόνα 16. Σχηματική αναπαράσταση του μηχανισμού απόπτωσης.

Αντίθετα στη χρόνια HCV λοίμωξη παρά το γεγονός ότι τα κυτταροτοξικά λεμφοκύτταρα εκκρίνουν τύπου I κυτταροκίνες όχι μόνο δε φαίνεται να αναστέλλεται ο πολλαπλασιασμός του HCV αλλά και η παρουσία τους προκαλεί μη ειδική φλεγμονώδη αντίδραση(Εικόνα 17).



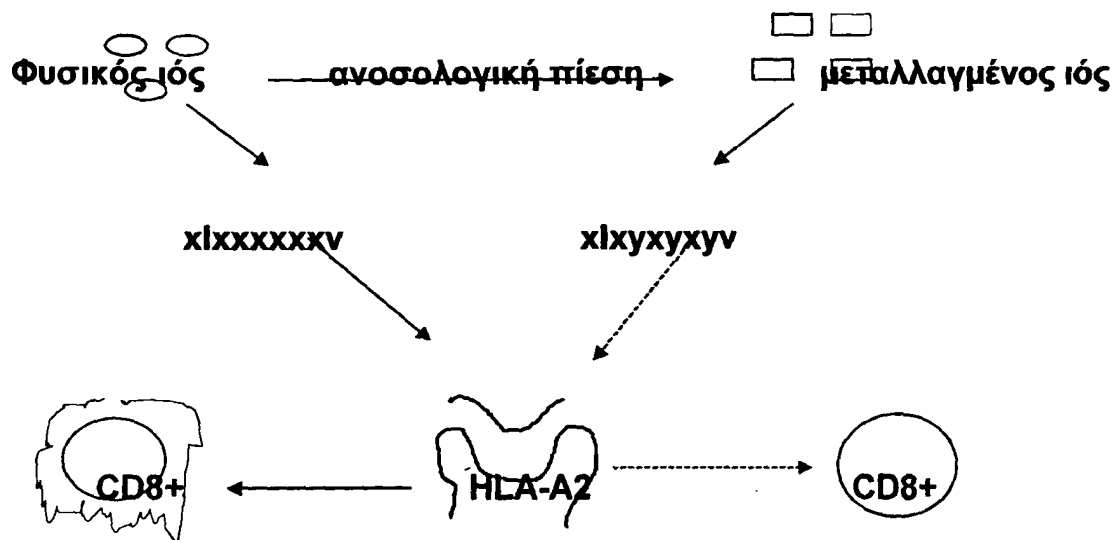
Εικόνα17. Παθογένεια HCV λοίμωξης

Σύμφωνα με τα ευρήματα αυτά η χρονιότητα του HBV στηρίζεται στη θεωρία της «μειωμένης» ανοσολογικής αντίδρασης ενώ του HCV στη θεωρία διαφυγής(Πίνακας 15). Η διαφυγή του HCV από το ανοσολογικό σύστημα μπορεί να οφείλεται στην παρουσία ανταγωνιστικών πεπτιδίων από μεταλλαγμένα στελέχη του ιού που τροποποιούν την ανοσολογική αντίδραση, όπως έχουν αναφερθεί στη λοίμωξη από τον HBV ή στις συνεχόμενες μεταλλαγές του ιού και την παρουσία «quasi species» με αποτέλεσμα την επιλογή νέων στελεχών που ξεφεύγουν της ανοσολογικής απάντησης (Εικόνα 18).



Πίνακας 15. Παθογένεια χρόνιας HBV&HCV λοίμωξης.

Θεωρία διαφυγής (HCV)	Θεωρία ανοσολογικής ανεπάρκειας (HBV)
Αύξηση της Th1 δραστηριότητας	Χαμηλή Th1 δραστηριότητα
Αύξηση έκφρασης Fas & πρωτεϊνών σύνδεσης	Αυξημένη Th0 δραστηριότητα
Αύξηση έκφρασης HLA	Μειωμένη CTL δραστηριότητα
Έντονη πολυκλωνική CTL δραστηριότητα	



Εικόνα 18. Μηχανισμός ανοσολογικής διαφυγής του HCV

Η. Νέα ταξινόμηση της χρόνιας ηπατίτιδας.

Η αιτιολογία της ηπατίτιδας αποτελεί το κύριο κριτήριο για τη νέα ταξινόμηση της χρόνιας ηπατίτιδας [404,405,406], ενώ η νόσος βαθμοποιείται και σταδιοποιείται. Για τη βαθμοποίηση αξιολογούνται η νέκρωση και η φλεγμονή (Πίνακας 16) ενώ για το στάδιο της νόσου εκτιμάται μόνο ο βαθμός της ίνωσης (Πίνακας 17).

Πίνακας 16.

ΧΡΟΝΙΑ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ: ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ (HAI:0-18)

Ιστολογική παράμετρος	βαθμός
Πυλαία φλεγμονή	
Απουσία	0
Ήπια σε μερικά ή σε όλα τα πυλαία	1
Μέτρια σε μερικά ή σε όλα τα πυλαία	2
Μέτρια/πυκνή σε όλα τα πυλαία	3
Πυκνή σε όλα τα πυλαία	4
Περιπυλαία ηπατίτιδα	
Απουσία	0
Ήπια (εστιακή λίγα πυλαία)	1
Ήπια-μέτρια (εστιακή περισσότερα πυλαία)	2
Μέτρια (συνεχής <50% των πυλαίων)	3



Ικανή (συνεχής>50%)	4
Εστιακή νέκρωση(λυτική ή αποπτωτική)/Εστιακή φλεγμονή*	
Μία εστία Χ 10 αντικειμενικό	1
Δύο-τέσσερις εστίες Χ 10 αντικειμενικό	2
Πέντε-δέκα εστίες Χ10 αντικειμενικό	3
Περισσότερες από δέκα Χ10 αντικειμενικό	4
Συρρέουσες νεκρώσεις	
Απουσία	0
Εστιακή συρρέουσα νέκρωση	1
Στη ζώνη 3 σε μερικές περιοχές	2
Στη ζώνη 3 στις περισσότερες περιοχές	3
Ζώνη 3+λίγες πυλαιοκεντρικές γεφυρικές νεκρώσεις	4
Ζώνη 3+πολυάριθμες πυλαιοκεντρικές γεφυρικές νεκρώσεις	5
Πανλοβιακές νεκρώσεις	6
<hr/>	
ΗΑΙ 0-18	
<hr/>	
*Δεν περιλαμβάνονται φλεγμονώδεις διηθήσεις στα ηπατικά κολποειδή.	

Πίνακας 17.**ΣΤΑΔΙΟΠΟΙΗΣΗ ΧΡΟΝΙΑΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ**

Όχι ίνωση	0
Διεύρυνση μερικών πυλαίων από ινώδη ιστό	
Με ή χωρίς βραχέα ινώδη διαφράγματα-----	1
Διεύρυνση των περισσότερων πυλαίων από ινώδη ιστό	
Με ή χωρίς βραχέα ινώδη διαφράγματα-----	2
Διεύρυνση των περισσότερων πυλαίων από ινώδη ιστό	
Με λίγες πυλαίο /πυλαίες γέφυρες-----	3
Διεύρυνση των περισσότερων πυλαίων από ινώδη ιστό	
Με έντονες πυλαιο/πυλαίες ή πυλαιο/κεντρικές γέφυρες-----	4
Έντονες πυλαιο/πυλαίες ή πυλαιο/κεντρικές γέφυρες	
Με όζο(πιθανή κίρρωση)-----	5
Κίρρωση-----	6

Σύμφωνα με το βαθμό δραστηριότητας της νόσου ο οποίος αναφέρεται ως ΗΑΙ(Hepatic Activity Index), η χρόνια ηπατίτιδα ταξινομείται σε χρόνια ηπατίτιδα με ελάχιστες αλλοιώσεις , σε ήπια χρόνια ηπατίτιδα , σε μέτρια χρόνια ηπατίτιδα και σε ικανή χρόνια ηπατίτιδα(Πίνακας 18) [407,408].

Πίνακας 18.**ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΗΑΙ ΚΑΙ ΒΑΘΜΟΥ ΒΑΡΥΤΗΤΑΣ ΤΗΣ ΧΡΟΝΙΑΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ**

ΗΑΙ : 1-3 ελάχιστες αλλοιώσεις
ΗΑΙ : 4-8 ήπια χρόνια ηπατίτιδα
ΗΑΙ : 9-12 μέτρια χρόνια ηπατίτιδα
ΗΑΙ : 13-18 ικανή χρόνια ηπατίτιδα



ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ

Η παρούσα έκθεση περιγράφει τα αποτελέσματα της εφαρμογής του προγράμματος...

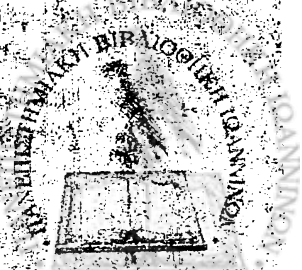
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Το ειδικό μέρος της έκθεσης αναφέρεται στην ανάλυση των δεδομένων που συλλέχθηκαν...

Αναλύονται τα αποτελέσματα των ερευνών που πραγματοποιήθηκαν κατά τη διάρκεια του προγράμματος...

Τα αποτελέσματα της ανάλυσης δείχνουν ότι οι στόχοι του προγράμματος έχουν επιτευχθεί...

Οι προτάσεις που προκύπτουν από την ανάλυση είναι οι εξής:

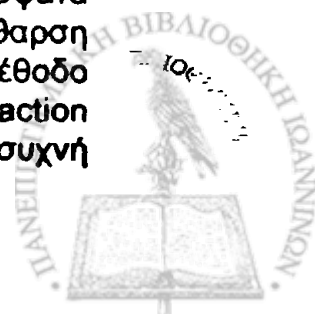


A. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Η αντιική θεραπεία των ιογενών ηπατοπαθειών ξεκίνησε στο τέλος της δεκαετίας του 1970 με τη χορήγηση σε μια μικρή ομάδα ασθενών ιντερφερόνης-άλφα απομονωμένης από λευκοκύτταρα του ανθρώπου. Τα αρχικά αποτελέσματα υπήρξαν πολύ ενθαρρυντικά σηματοδοτώντας το ξεκίνημα μιας νέας περιόδου στη θεραπεία των ιογενών ηπατοπαθειών. Από τα μέσα της δεκαετίας του 1980 η ευρεία παραγωγή και η διάθεση ιντερφερονών με την τεχνική του ανασυνδυαζομένου DNA επέτρεψε την πραγματοποίηση εκτεταμένων πολυκεντρικών, τυχαιοποιημένων δοκιμασιών παρεμβάσεως σε διάφορες κατηγορίες ασθενών με χρόνιες ιογενείς ηπατοπάθειες [349,350,351,417,418,419,420]. Δοκιμάστηκαν διάφορα θεραπευτικά σχήματα από πλευράς δοσολογίας και διάρκειας με αποτέλεσμα αρκετά ικανοποιητικά στο σύνολό τους, τουλάχιστον συγκριτικά με τη φυσική πορεία των χρόνιων ιογενών ηπατοπαθειών. Μέσα σε λίγο χρονικό διάστημα η ιντερφερόνη -άλφα θεωρήθηκε ως το «χρυσό πρότυπο» της αντιικής αγωγής στη χρόνια ηπατίτιδας Β και C.

Στους ασθενείς με χρόνια HBV λοίμωξη η βαρύτητα της χρόνιας ηπατίτιδας καθορίζεται από τη συνολική εκτίμηση τριών παραμέτρων: α) των ιστολογικών αλλοιώσεων β) των βιοχημικών διαταραχών (τρανσαμινασών) και γ) των δεικτών ιικού αναδιπλασιασμού (HBeAg και HBV-DNA). Στόχοι της θεραπείας των ασθενών αυτών είναι 1.Κάθαρση των δεικτών που υποδηλώνουν πολλαπλασιασμό του HBV 2. Μείωση της μολυσματικότητας 3. Ομαλοποίηση των αμινοτρανσφερασών 4. Υποχώρηση (λύση) της φλεγμονής 5. Βελτίωση της συμπτωματολογίας 6. Μείωση του ρυθμού πρόοδου της ηπατοπάθειας με επιδιωκόμενο αποτέλεσμα την πρόληψη της εξέλιξης σε χρονιότητα και κίρρωση 7.Πρόληψη του ηπατοκυτταρικού καρκίνου , η ανάπτυξη του οποίου ευνοείται από τη συνεχιζόμενη HBV λοίμωξη και την παρουσία κίρρωσης και 8.Ελάττωση της θνητότητας που είναι ο απώτερος σκοπός της θεραπείας [421].

Πρέπει να σημειώσουμε ότι επιτυχής θεραπεία επιτυγχάνεται σε σχετικά μικρό ποσοστό ασθενών (25-40%) μετά από χορήγηση ιντερφερόνης-α(IFN-α) για 4-6 μήνες [25]. Ειδικότερα σε ασθενείς με ιό μεταλλαγμένο στην προπυρηνική περιοχή του γονιδιώματος , τα ποσοστά απαντήσεως στην IFN-α είναι χαμηλότερα και υποτροπής υψηλότερα μετά την απόσυρση της θεραπείας[25,422]. Στους ασθενείς αυτούς ικανοποιητικά αποτελέσματα έχουν αναφερθεί με μακροχρόνια θεραπευτικά σχήματα [423].Ο μηχανισμός της ηπατοκυτταρικής βλάβης στη χρόνια ηπατίτιδα Β περιλαμβάνει ενεργοποίηση αυτοανόσου τύπου διεργασιών.Ο μηχανισμός αυτός εξηγεί τη συχνή ανεύρεση υψηλών τίτλων HBV-DNA σε ασθενείς με φυσιολογικές τρανσαμινάσες και απουσία ιστολογικών βλαβών καθώς και την «παράδοξη» ανεύρεση στον ορό χαμηλών συγκεντρώσεων HBV-DNA σε ασθενείς με βαριές ιστολογικές βλάβες. Σε HBeAg θετικούς ασθενείς η επιτυχής ορομετατροπή σε anti-HBe μετά από χορήγηση IFN-α αναφέρθηκε πρόσφατα ότι σχετίζεται με σημαντική βελτίωση της επιβιώσεως [20]. Ωστόσο κάθαρση από τον ορό του HBsAg ή του HBV-DNA [όταν αυτό μετράται με τη μέθοδο της αλυσιδωτής αντιδράσεως πολυμεράσης ,polymerase chain reaction (PCR)] παρατηρείται πολύ σπάνια. Στους ασθενείς αυτούς η συχνή



παρακολούθηση των επιπέδων των τρανσαμινασών αποτελεί τον πιο αξιόπιστο δείκτη της ηπατοκυτταρικής βλάβης [424]. Συνεπώς η βιοχημική ανταπόκριση θα πρέπει να είναι ο κύριος δείκτης παρακολουθήσεως των αντι-HBe θετικών ασθενών που υποβάλλονται σε αντιική θεραπεία εφόσον βεβαίως αποκλεισθούν οι σπάνιες περιπτώσεις, όπου άλλα αίτια ευθύνονται για την αύξηση των ηπατικών ενζύμων σε ασθενείς με χρόνια HBV λοίμωξη. Επαναληπτικός έλεγχος για HBV-DNA(και HBeAg στους ασθενείς που ήταν θετικοί στην αρχή της θεραπείας) θα πρέπει να γίνεται στο τέλος της θεραπείας και έξι μήνες αργότερα[25]. Η θεραπεία θα πρέπει να διακόπτεται αν οι τρανσαμινάσες δεν ελαττωθούν σημαντικά μετά από έξι μήνες θεραπείας ή σε κάθε περίπτωση σημαντικής αύξησεως των τρανσαμινασών ή εμφανίσεως κλινικών σημείων ηπατικής ανεπάρκειας. Επί βιοχημικής υποτροπής μετά το πέρας της (κατά προτίμηση) 12μηνιαίας αγωγής, η θεραπεία θα πρέπει πιθανώς να επαναλαμβάνεται με στοχο πιο μακροχρόνια χορήγηση. Θα επισημάνουμε εδώ ότι η επανάληψη της βιοψίας ήπατος σε χρονικά διαστήματα μικρότερα των 3-5 ετών πολύ σπάνια συμβάλλει σε πιο ορθολογική αντιμετώπιση των ασθενών με HBV λοίμωξη. Μακροχρόνια -και ίσως συνεχής - αγωγή με στοχο την συνεχή πίεση επί του ιού και τη βελτίωση της ηπατικής νόσου[425], πιθανώς να αποτελέσει πιο ρεαλιστική θεραπευτική στρατηγική στο άμεσο μέλλον σε πολλούς ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα Β. Η θεραπευτική αυτή προσέγγιση απαιτείται ιδιαίτερα σε ασθενείς με βαριές ιστολογικές αλλοιώσεις, ιδίως όταν αυτοί ανταποκρίνονται στο αρχικό σχήμα θεραπείας. Η θεραπευτική αυτή προσέγγιση είναι επιβεβλημένη ιδίως σε ασθενείς με κίρρωση -αντιρροπούμενη ή μη- σε αρκετούς από τους οποίους επιτυγχάνεται εξομάλυνση των τρανσαμινασών, παράλληλα με κλινική σταθεροποίηση, η οποία σε ορισμένες περιπτώσεις είναι εντυπωσιακή με υποχώρηση του ασκίτη και της ηπατικής εγκεφαλοπάθειας[426].

Στην πλειονότητα των ασθενών με χρόνια ηπατίτιδα C(HCV) τα επίπεδα των τρανσαμινασών είναι αυξημένα, αν και συχνά εμφανίζουν ευρείες διακυμάνσεις. Σταθερά φυσιολογικές τρανσαμινάσες παρατηρούνται στο 1/3 περίπου των ασθενών. Σε anti-HCV θετικούς ασθενείς με αύξηση των τρανσαμινασών HCV-RNA ανιχνεύεται στον ορό σε ποσοστό 90% [427], έναντι μόνο 45% όταν οι τρανσαμινάσες είναι φυσιολογικές. Παρά το γεγονός ότι η χρόνια ηπατίτιδα C είναι μια βραδέως εξελισσόμενη νόσος, η οποία δεν φαίνεται ότι αυξάνει τη θνητότητα στην πρώτη 20ετία από την αρχική λοίμωξη [226,428] υπάρχουν πλέον δεδομένα ότι εξελίσσεται αδιαλείπτως στην πορεία του χρόνου, προκαλώντας βαριές ιστολογικές αλλοιώσεις χρόνιας ηπατίτιδας σε ποσοστό μεγαλύτερο από 70% και κίρρωσεως σε τουλάχιστον 20% των ασθενών [429]. Η εξέλιξη αυτή της φυσικής ιστορίας της νόσου εξηγεί το γεγονός ότι στην Β.Αμερική και τη Δ.Ευρώπη η συχνότερη ένδειξη για ηπατική μεταμόσχευση είναι πλέον η ηπατική ανεπάρκεια από χρόνια ηπατίτιδα C.

Η κλασική ένδειξη για τη χορήγηση θεραπείας με IFN-a στη χρόνια ηπατίτιδα C αφορά ασθενείς με επιμένουσα αύξηση των τρανσαμινασών και παρουσία σημαντικών ιστολογικών αλλοιώσεων φλεγμονής και νεκρώσεως, σε συνδυασμό με πυλαία ή γεφυροποιό ίνωση. Αντιρρήσεις εκφράζονται από ορισμένους ερευνητές για τη χορήγηση θεραπείας σε ασθενείς με εγκατεστημένη κίρρωση, επειδή τα υπάρχοντα δεδομένα δεν υποστηρίζουν επιμήκυνση της επιβιώσεως ή καθυστέρηση της αναπτύξεως ΗΚΚ. Αντίθετα υπάρχουν πλέον δεδομένα που δείχνουν ότι τα υψηλότερα ποσοστά



μακροχρόνιας ανταποκρίσεως σε θεραπεία με IFN- α επιτυγχάνονται σε ασθενείς νεαρής ηλικίας , με βραχεία διάρκεια νόσου , ήπιες ιστολογικές βλάβες , χαμηλά επίπεδα HCV-RNA και λοίμωξη από μη 1 β γονότυπο [430]. Σε ασθενείς με επανειλημμένως φυσιολογικές τρανσαμινάσες και ήπιες ιστολογικές αλλοιώσεις επί του παρόντος θεραπεία δεν θα πρέπει να χορηγείται. Οι ασθενείς αυτοί με αρχικά στάδια νόσου που έχουν εξαιρετική μεσοπρόθεσμη και μακροπρόθεσμη πρόγνωση , μπορούν να περιμένουν μέχρι την εισαγωγή στη θεραπευτική της ηπατίτιδας C απλουστερών και πιο αποτελεσματικών αντιικών παραγόντων[430]. Η αποτελεσματικότητα της θεραπείας με IFN- α καθορίζεται από την εξομάλυνση των επιπέδων των τρανσαμινασών και την αρνητικοποίηση του HCV-RNA στον ορό. Οι τρανσαμινάσες θα πρέπει να παρακολουθούνται ανά μήνα και το HCV-RNA να επαναλαμβάνεται τρεις μήνες από την έναρξη της θεραπείας. Αν η αύξηση των τρανσαμινασών επιμένει και το HCV-RNA παραμένει θετικό μετά από 3 μήνες θεραπείας η πιθανότητα μελλοντικής ανταποκρίσεως είναι εξαιρετικά μικρή και η θεραπεία θα πρέπει να διακόπτεται. Αν το HCV-RNA είναι αρνητικό ή οι τρανσαμινάσες φυσιολογικές (ή και τα δύο) η θεραπεία θα πρέπει να συνεχίζεται για συνολικό χρονικό διάστημα 12 τουλάχιστον μηνών. Το HCV-RNA θα πρέπει να επαναλαμβάνεται στο τέλος της θεραπείας καθώς και έξι μήνες αργότερα. Η Διάσκεψη για την Αντιμετώπιση της Ηπατίτιδας C που διοργάνωσε το Εθνικό Ινστιτούτο Υγείας των ΗΠΑ (Μάρτιος 1997) κατέληξε στο συμπέρασμα ότι επαναληπτική βιοψία ήπατος δεν χρειάζεται μετά την ολοκλήρωση της θεραπείας με IFN- α σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C.

Σκοπός της μελέτης μας ήταν:

1. Η αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας της μακροχρόνιας θεραπείας με Ιντερφερόνη αλφα-2 α (ROFERON^R) ασθενών με χρόνια ενεργό ηπατίτιδα Β , D και C , όσον αφορά τις βιοχημικές ηπατικές δοκιμασίες, τον πολλαπλασιασμό των ιών , την ηπατική ιστολογία , τις υποτροπές της νόσου και την επιβίωση των ασθενών.
2. Η εκτίμηση των ποσοστών ανταπόκρισης της χρόνιας ηπατίτιδας Β , D και C στη θεραπεία με Ιντερφερόνη αλφα-2 α .
3. Η εκτίμηση των ποσοστών μακροχρόνιας ύφεσης της χρόνιας ηπατίτιδας Β , D και C μετά τη χορήγηση Ιντερφερόνης αλφα-2 α .
4. Η εκτίμηση της ανοχής του θεραπευτικού σχήματος (3-9 MU) Ιντερφερόνης αλφα-2 α τρεις εβδομαδιαίως για διάστημα 12 μηνών.

B.ΥΛΙΚΟ

Στην μελέτη μας έλαβαν μέρος 79 ασθενείς με HBV χρόνια λοίμωξη, 52 εκ των οποίων ήταν άνδρες 49.5 \pm 15 ετών και 27 γυναίκες 47.3 \pm 16.4 ετών ($p = 0.551$). Εκ των ασθενών οι 7 (8.9%) είχαν υποβληθεί σε μετάγγιση και οι 17 (21.5%) κατανάλωναν αλκοόλ (>60gr/day) κατά δήλωσή τους.



- Η μέση τιμή του AST κατά την εισαγωγή των ασθενών στη μελέτη ήταν 126.68 ± 95.7 (IU/L), ενώ η μέση τιμή της ALT ήταν 173.15 ± 143.15 (IU/L).
- Η μέση τιμή του DNA ήταν $1258910.7595 \pm 4987797.4308$ (copies/ml)
- Τέλος, η κατανομή των αποτελεσμάτων της βιοψίας στην εισαγωγή περιγράφεται στον ακόλουθο πίνακα

ΒΙΟΨΙΑ Α

	Συχνότητα	Ποσοστό(%)	Τιμή %	Αθροιστικό ποσοστό
Τιμή(HAI)	1	3	3.8	3.8
	2	15	19.0	22.8
	3	42	53.2	75.9
	4	19	24.1	100.0
Σύνολο	79	100.0	100.0	

Χαρακτηριστικά ασθενών με HBV λοίμωξη που έλαβαν μέρος στη μελέτη(N=79)

Ηλικία(mean±sd)	48.71±15.43	
Φύλο	Ανδρες 52(65.8%) Γυναίκες 27(34.2%)	p=0.0001
HBeAg+	9(11.4%)	
Μετάγγιση	7(8.9%)	
Αλκοόλ(>60gr/d)	17(21.5%)	
AST(mean±sd, IU/L)	126.68±95.7	
ALT(mean±sd, IU/L)	173.15±143.15	p=0.0176
HBV-DNA(mean±sd, copies/ml)	1258910.7595±4987797.4308	
HDV+	6(7.5%)	
Anti-HCV+	1	
Βιοψία (HAI)		
1	3(3.8%)	
2	15(19.0%)	
3	42(53.2%)	p<0.001
4	19(24.0%)	
U/S		
Φυσιολογικό	67(84.8%)	p<0.001
Ηπατομεγαλία	6(7.59%)	
Σπληνομεγαλία	4(5.05%)	
Χολολιθίαση	1(1.26%)	
Αιμαγγείωμα	1(1.26%)	



Εξάλλου μελετήθηκαν 49 ασθενείς με HCV χρόνια λοίμωξη, 29 εκ των οποίων ήταν άνδρες 48.5 ± 15 ετών και 20 γυναίκες 54.9 ± 14 ετών ($p = 0.149$). Εκ των ασθενών οι 17 (34.7%) είχαν υποβληθεί σε μετάγγιση και οι 13 (26.5%) κατανάλωναν αλκοόλ (>60gr/day), κατά δήλωσή τους.

- Η μέση τιμή του AST κατά την εισαγωγή των ασθενών στη μελέτη ήταν 110.71 ± 31.6 (IU/L), ενώ η μέση τιμή της ALT ήταν 123.69 ± 49.11 (IU/L).
- Η μέση τιμή του RNA ήταν $2686977.5510 \pm 1827729.7473$ (copies/ml)
- Τέλος, η κατανομή των αποτελεσμάτων της βιοψίας στην εισαγωγή περιγράφεται στον ακόλουθο πίνακα

ΒΙΟΨΙΑ Α

	Συχνότητα	%	Τιμή %	Αθροιστικό ποσοστό
Τιμή(HAI)	1	3	6.1	6.1
	2	8	16.3	22.4
	3	29	59.2	81.6
	4	9	18.4	100.0
	Σύνολο	49	100.0	100.0

Χαρακτηριστικά ασθενών με HCV λοίμωξη που έλαβαν μέρος στη μελέτη(N=49)

Ηλικία(mean±sd)	51.18±15.11	
Φύλο	Ανδρες 29(59.2%) Γυναίκες 20(40.8%)	p=0.149
Μετάγγιση	17(34.7%)	
Αλκοόλ(>60gr/d)	13(26.5%)	
AST(mean±sd,IU/L)	110.71±31.6	
ALT(mean±sd,IU/L)	123.69±49.11	p=NS
HCV-RNA(mean±sd, copies/ml)	2686977.5510±1827729.7473	
Βιοψία (HAI)		
1	3(6.12%)	
2	8(16.32%)	
3	29(59.18%)	p<0.001
4	9(18.38%)	
U/S		
Φυσιολογικό	39(79.59%)	p<0.001
Ηπατομεγαλία	9(18.36%)	
Σπληνομεγαλία	1(2.05%)	
Γονότυποι		
1α	6(12.24%)	
1β	37(75.52%)	p<0.001
2	5(10.21%)	
3	1(2.03%)	



Γ.ΜΕΘΟΔΟΙ

Κριτήρια εισαγωγής ασθενών στη μελέτη ήταν τα ακόλουθα: **α)** HBsAg(+) χρόνια ενεργός ηπατίτιδα , η οποία ήταν HBeAg(+) ή anti-HBe(+) και HBV-DNA(+) για διάστημα μεγαλύτερο από 6 μήνες πριν την οριστική εισαγωγή στη μελέτη. Επίσης ασθενείς με HBsAg(+) και anti-HDV(+) και τέλος ασθενείς με anti-HCV(+) χρόνια ενεργό ηπατίτιδα και HCV-RNA(+) για διάστημα μεγαλύτερο από 6 μήνες πριν την εισαγωγή στη μελέτη. **β)** Ηλικία 18-70 ετών. **γ)** Τιμή ALT δύο φορές μεγαλύτερη από το ανώτερο φυσιολογικό(=40) εντός 3 μηνών από την εισαγωγή τους στη μελέτη. **δ)** Ιστολογική διάγνωση χρόνιας ηπατίτιδας.

Κριτήρια αποκλεισμού ήταν: **α)** Εγκυμοσύνη **β)** Μη αντιρροπούμενη ηπατική κίρρωση (κλάση C κατά Child-Pugh) **γ)** Αποκλεισμός άλλων αιτιών ηπατοπάθειας (π.χ. αυτοάνοσος ή φαρμακευτική ηπατοπάθεια) ή διαταραχής των τρανσαμινασών(αλκοολισμός, λιπώδες ήπαρ) **δ)** Ανοσολογική ανεπάρκεια οιασδήποτε αιτιολογίας, συμπεριλαμβανομένης και της HIV λοίμωξης **ε)** Λήψη ηπατοτοξικών ή ανοσοκατασταλτικών φαρμάκων (κορτικοστεροειδών, αζαθειοπρίνης) κατά το 6μηνο που προηγείται της εισαγωγής στη μελέτη **στ)** Λευκοπενία (αριθμός λευκών $<3.000/\text{mm}^3$, απόλυτος αριθμός πολυμορφοπύρηνων <1500) ή /και πτώση του αριθμού των αιμοπεταλίων ($<100.000/\text{mm}^3$) **ζ)** Αιμορραγική διάθεση οιασδήποτε αιτιολογίας **η)** Νεφρική ανεπάρκεια (κρεατινίνη ορού $>1,7 \text{ mg/dl}$) **θ)** Συνοδός νεοπλασματική πάθηση **ι)** Προηγούμενη θεραπεία με ιντεφερόνη ή /και άλλους αντιικούς παράγοντες (κατά τους προηγούμενους 6 μήνες) **κ)** κλινικά ευρήματα αυτοάνοσου νόσου(π.χ. θυρεοειδίτιδα) **λ)** Σοβαρή ψυχιατρική πάθηση (κατάθλιψη, ψύχωση) και **μ)** Σοβαρή καρδιο-αγγειακή πάθηση(Ασταθής στηθάγχη, συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια, πρόσφατο έμφραγμα μυοκαρδίου, σοβαρή αρρυθμία).

Στην ομάδα των ασθενών με χρόνια ενεργό ηπατίτιδα Β χορηγήθηκε Ιντερφερόνη α-2α σε δόση 4,5 MU τρεις φορές την εβδομάδα , υποδορίως για χρονικό διάστημα 12 μηνών (**Ομάδα Α**). Στην ομάδα των ασθενών με χρόνια ενεργό ηπατίτιδα C χορηγήθηκε Ιντερφερόνη α-2α σε δόση 3 MU τρεις φορές την εβδομάδα , υποδορίως για διάστημα 12 μηνών (**Ομάδα Β**). Επίσης στην ομάδα των ασθενών με χρόνια ενεργό ηπατίτιδα Β και D χορηγήθηκε ιντερφερόνη α-2α σε δόση 9 MU τρεις φορές την εβδομάδα υποδορίως για χρονικό διάστημα 12 μηνών (**Ομάδα Γ**) και τέλος στην ομάδα των ασθενών με χρόνια ενεργό ηπατίτιδα Β και C χορηγήθηκε ιντερφερόνη α-2α σε δόση 9 MU τρεις φορές την εβδομάδα υποδορίως για χρονικό διάστημα 12 μηνών (**Ομάδα Δ**).

Ποσοτικός προσδιορισμός του HBV-DNA με τη μέθοδο του υβριδισμού στα αρχικά περιστατικά της μελέτης(Genostics;Abbott Laboratories, North Chicago ,IL) επίσης αρκετά περιστατικά με τη μέθοδο του διακλαδιζόμενου DNA(bDNA, Versant, Bayer Diagnostics, Emeryville, CA) και πρόσφατα με την τεχνική PCR (Amplicor-Monitor HBV;Roche Diagnostics , Pleasanton, CA) και προσδιορισμός του HCV-RNA με την τεχνική PCR (Amplicore Roche Diagnostics) πραγματοποιήθηκε σε χρόνο 0, 6, 12 , 18, 24 μηνών(1pg HBV-DNA=283000copies= 3×10^5 viral genome equivalents). Ο προσδιορισμός των



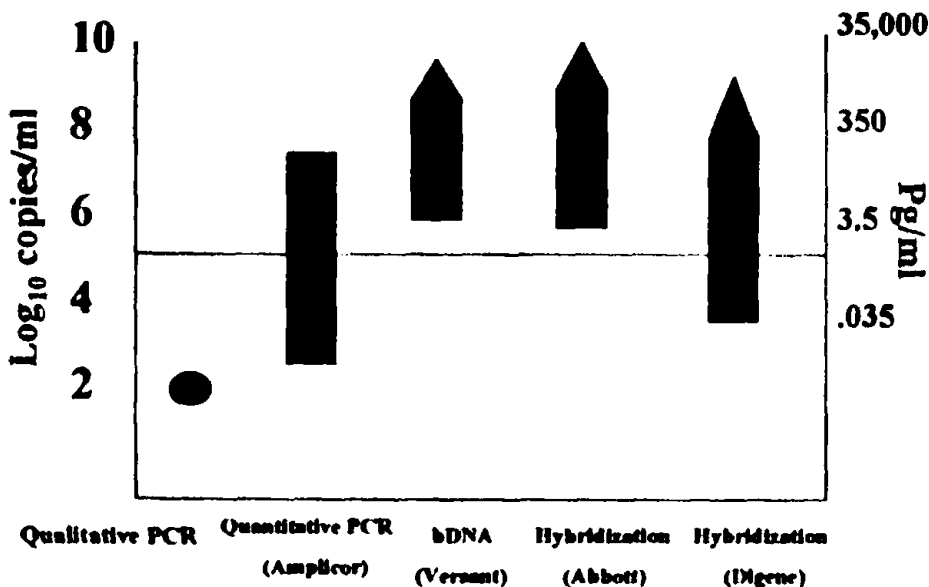
γονοτύπων στην HCV έγινε με την μέθοδο μοριακής βιολογίας INNO-LiPA, Innogenetics, Gent, Belgium.

Τρεις είναι οι μέθοδοι ποσοτικού προσδιορισμού του HBV-DNA (εμπορικά διαθέσιμες) : υβριδισμός , τεχνική διακλαδιζόμενου DNA (bDNA) και πιο πρόσφατη ποσοτική PCR.

Στον υβριδισμό , που αποτέλεσε την πρώτη ουσιαστικά μέθοδο ποσοτικής εκτίμησης του HBV-DNA , έχουμε αντίδραση μεταξύ του τμήματος του DNA στόχου με σεσημασμένο εκκινητή συμπληρωματικό της περιοχής του DNA που θα ανιχνευθεί . Η μέθοδος είναι αρκετά ακριβής , διαθέτει ευρύ φάσμα ανίχνευσης , έχει όμως περιορισμένη ευαισθησία.

Στην bDNA μέθοδο έχουμε υβριδισμό της αλληλουχίας στόχου με ειδικό ανιχνευτή και το προϊόν αυτό πολλαπλασιάζεται μέσω ειδικού μορίου διακλαδιζόμενου DNA. Η μέθοδος είναι αναπαραγωγίμος και πιο ευαίσθητη από την προηγούμενη[431].

Κατά την πρόσφατα περιγραφείσα PCR μέθοδο ποσοτικού προσδιορισμού του HBV-DNA έχουμε κατά χιλιάδες φορές πολλαπλασιασμό της αλληλουχίας στόχου. Η μέθοδος είναι πολύ ευαίσθητη (όριο ανίχνευσης 200 αντίγραφα/ml). Λόγω της εξαιρετικής ευαισθησίας της οι περισσότεροι οροί με υψηλές συγκεντρώσεις ιικών σωματιδίων με τη μέθοδο υβριδισμού ή bDNA θα πρέπει να αραιώνονται προκειμένου να εκτιμηθούν με την ποσοτική PCR . Η PCR μπορεί και ανιχνεύει όλους σχεδόν τους ασθενείς με χρόνια λοίμωξη ανεξάρτητα από την εικόνα του HBeAg[432].



Γραμμικό διάγραμμα προσδιορισμού του HBV-DNA στον ορό χρησιμοποιώντας 5 ιολογικές μεθόδους εκφραζόμενες σε log₁₀ copies/ml και σε pg/ml. PCR, polymerase chain reaction; bDNA, branched DNA[433].



Οι μέθοδοι ανίχνευσης του HCV-RNA είναι ποιοτικές και ποσοτικές. Οι ευρύτερα χρησιμοποιούμενες μέθοδοι προσδιορισμού του ιικού φορτίου του HCV είναι οι μέθοδοι ενισχύσεως σήματος (b DNA) και οι μέθοδοι ενισχύσεως στόχου (PCR) [434]. Τα περισσότερα κλινικά εργαστήρια χρησιμοποιούν σήμερα εμπορικά διαθέσιμα kits προσδιορισμού του HCV-RNA όπως η δοκιμασία Amplicore (Roche) που εμφανίζει ευαισθησία 100 αντίγραφα ανά ml [435].

Για όλους τους ασθενείς υπήρχε μια αρχική βασική περίοδος παρακολούθησης (περίπου 6 μηνών), κατά τη διάρκεια της οποίας επιβεβαιωνόταν η δραστηριότητα της νόσου και ο πολλαπλασιασμός του HBV και του HCV.

Προ της θεραπείας σε όλους τους ασθενείς έγινε πλήρης φυσική εξέταση και ο ακόλουθος εργαστηριακός έλεγχος:

- Γενική αίματος
- INR
- Γενική ούρων
- ALT/AST
- γ-GT
- Κρεατινίνη
- Χολερυθρίνη
- Αλκαλική φωσφατάση
- LDH, CK
- Αλβουμίνη
- Σάκχαρο
- ΗΦ
- Fe, φερρίνη
- AFP
- CHOL, TRG, HDL, LDL
- T3, T4, TSH
- Ηλεκτρολύτες (Na⁺, K⁺)
- Ορολογικός έλεγχος HBsAg, anti-HBs, anti-HbcAg IgM, HbeAg, anti-HbeAg, anti-HDV, anti-HCV, anti-HIV
- HBV-DNA HCV-RNA
- ANA, SMA (προς αποκλεισμό αυτοάνοσης ηπατίτιδας)
- ΗΚΓ
- U/S άνω κοιλίας
- Ακτινογραφία θώρακα

Επίσης πραγματοποιήθηκε βιοψία ήπατος δια λεπτής βελόνης πρό της θεραπείας και 6-12 μήνες μετά το πέρας της θεραπείας σε όσους ασθενείς είχαμε την αναγκαία συγκατάθεση.

Γινόταν τακτική συλλογή δειγμάτων ορού και η γενική αίματος, ο προσδιορισμός των ηπατικών ενζύμων, ο βιοχημικός και ο αναγκαίος ορολογικός έλεγχος επαναλαμβανόταν ανά μήνα, ενώ η βιοψία ήπατος θα επαναλαμβανόταν αν το επιθυμούσαν οι ασθενείς σε 6-12 μήνες μετά το πέρας της θεραπείας με ντερφερόνη για να εκτιμηθεί η επίδρασή της στην εξέλιξη της ιστολογίας των ηπατικών βλαβών.

Οι ανταποκρίσεις στη θεραπεία αξιολογήθηκαν ως εξής:



A) **Πλήρης ανταπόκριση**: Πλήρης ομαλοποίηση των τρανσαμινασών και εξαφάνιση του HBV-DNA και HCV-RNA.

B) **Μερική ανταπόκριση**: Μείωση >50% της δραστηριότητας των τρανσαμινασών και της συγκέντρωσης του HBV-DNA και HCV-RNA στον ορό , σε σύγκριση με τις προ της θεραπείας τιμές τους.

Γ) **Μη ανταπόκριση**: Μείωση <50% της δραστηριότητας των τρανσαμινασών ή /και της συγκέντρωσης του HBV-DNA και HCV-RNA στον ορό , σε σύγκριση με τις προ της θεραπείας τιμές τους.

Η εκτίμηση της ανταπόκρισης στη θεραπεία έγινε μετά το πέρας της θεραπείας καθώς και 6 και 12 μήνες επίσης μετά το πέρας της θεραπείας (που ήταν και η περίοδος παρακολούθησης).

Επιπλέον έγινε αξιολόγηση της ηπατικής ιστολογίας πριν την έναρξη της θεραπείας καθώς και 6-12 μήνες μετά το πέρας της. Οι ιστολογικές αλλοιώσεις εκτιμήθηκαν με βάση τον δείκτη ιστολογικής δραστηριότητας Desmet et al [408].

Η αξιολόγηση της ασφάλειας της χορηγούμενης θεραπείας έγινε με τον ακόλουθο τρόπο: Όλες οι εμφανιζόμενες ανεπιθύμητες αντιδράσεις κατά τη διάρκεια της θεραπείας ή και μετά το πέρας της καταγράφηκαν και βαθμολογήθηκαν ανάλογα με την βαρύτητά τους ως εξής:

1= Ελαφράς μορφής (αποδεκτές)

2= Μέτριας βαρύτητας(ανεκτές)

3= Σοβαρές (μη ανεκτές)

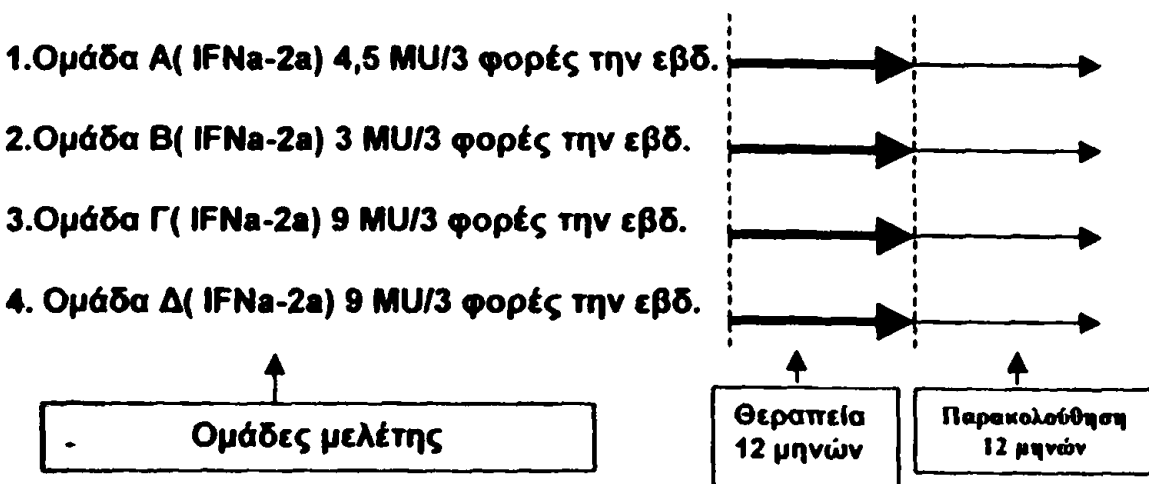
4= Πολύ σοβαρές ή απειλητικές για τη ζωή

Οι ανεπιθύμητες αντιδράσεις ελαφράς ή μέτριας βαρύτητας αντιμετωπίστηκαν με συμπτωματική αγωγή (χορήγηση παρακεταμόλης για τον πυρετό και τις μυαλγίες) και με ελάττωση της δόσης της ιντερφερόνης.

Οι σοβαρές , πολύ σοβαρές ή απειλητικές για τη ζωή ανεπιθύμητες αντιδράσεις απαιτούν διακοπή της θεραπείας.

Ο σχεδιασμός της μελέτης περιγράφεται σχηματικά στον ακόλουθο πίνακα.

Σχεδιασμός μελέτης



Οι ασθενείς εκτιμήθηκαν και 6 χρόνια αργότερα όπου καταγράφηκε αν είναι εν ζωή , αν παρουσίασαν ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα και αν απεβίωσαν από επιπλοκή της χρόνιας ενεργού ηπατίτιδας(κίρρωση, ασκίτις κ.λ.π.).



Χρονοδιάγραμμα εκτιμήσεων και διαδικασιών

Εκτίμηση / Διαδικασία	Προεπιλογή	Περίοδος θεραπείας						παρακολούθηση				
		1-6 μήνες	1 ^η εβδ.	2 ^η εβδ.	3 ^η εβδ.	4 ^η εβδ.	1 ^ο μήνα	6 ^ο	12 ^ο	18 ^ο	24 ^ο	6 έτη
Συγκατάθεση / ενημέρωση	X											
Ιστορικό	X											
Φυσική εξέταση	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Τεστ κύησης	X											
A/A θώρακα	X											
U/S άνω κοιλίας	X					X		X			X	
aFP	X					X		X			X	
Anti-HAV IgM, anti-HIV, anti-HDV,	X											
AMA, ANA, SMA	X											
Γενική αίματος	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Βιοχημικές εξετάσεις	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Γενική ούρων	X	X		X		X		X			X	
TSH, T3, T4	X	X						X			X	
HBeAg, anti-HBeAg, anti-HBsAg	X							X			X	
HBV-DNA	X							X	X	X	X	
HCV-RNA	X							X	X	X	X	
Ανεπιθύμητες ενέργειες		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Βιοψία ήπατος	X									X		
Παρακολούθηση για εμφάνιση ΗΚΚ, κίρρωσης, θανάτου											X	X



Δ. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Ηπατίτιδα HBV

Μελετήθηκαν 79 ασθενείς με HBV λοίμωξη, 52 εκ των οποίων ήταν άνδρες 49.5 ± 15 ετών και 27 γυναίκες 47.3 ± 16.4 ετών ($p = 0.551$). Εκ των ασθενών οι 7 (8.9%) είχαν υποβληθεί σε μετάγγιση και οι 17 (21.5%) κατανάλωναν αλκοόλ κατά δήλωση τους ($>60g/ημέρα$).

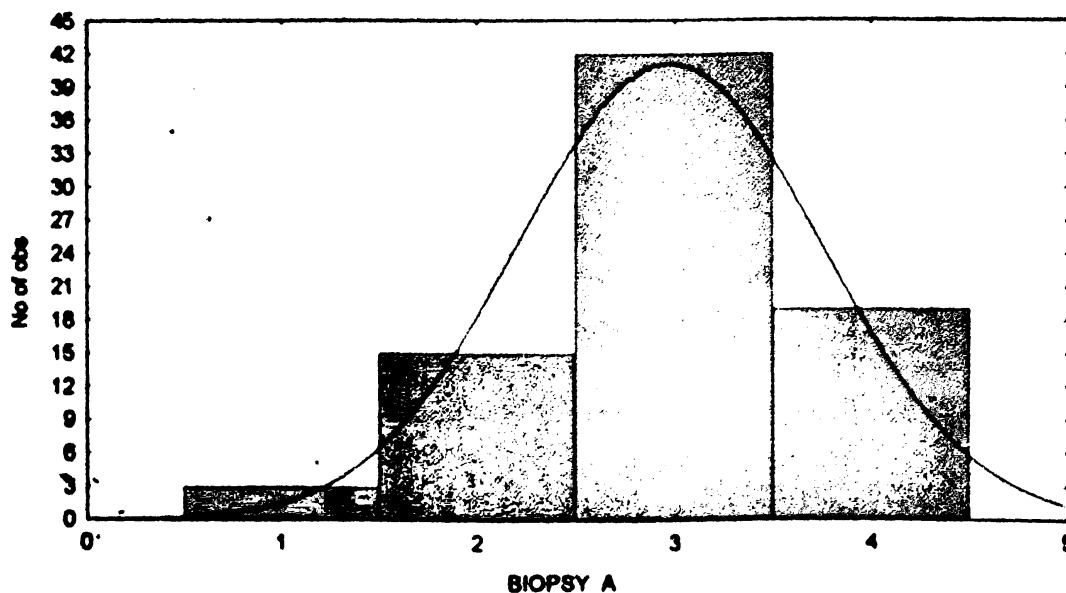
- Η μέση τιμή του AST κατά την εισαγωγή των ασθενών στη μελέτη ήταν $126.68 \pm 95.7(IU/L)$, ενώ η μέση τιμή της ALT ήταν $173.15 \pm 143.15(IU/L)(p=0.018)$.
- Η μέση τιμή του DNA ήταν $1258910.7595 \pm 4987797.4308(copies/ml)$
- Τέλος, η κατανομή των αποτελεσμάτων της βιοψίας στην εισαγωγή περιγράφεται στον ακόλουθο πίνακα

ΒΙΟΨΙΑ Α

	Συχνότητα		% Ισχύον %		Αθροιστικό ποσοστό
Τιμή(HAI)	1	3	3.8	3.8	3.8
	2	15	19.0	19.0	22.8
	3	42	53.2	53.2	75.9
	4	19	24.1	24.1	100.0
Σύνολο	79	100.0	100.0	100.0	

Ιστόγραμμα κατανομής βιοψιών στην χρόνια HBV λοίμωξη πριν την θεραπεία

$$y = 79 \cdot 1 \cdot \text{normal} (\mu, 2.974683, 0.767525)$$



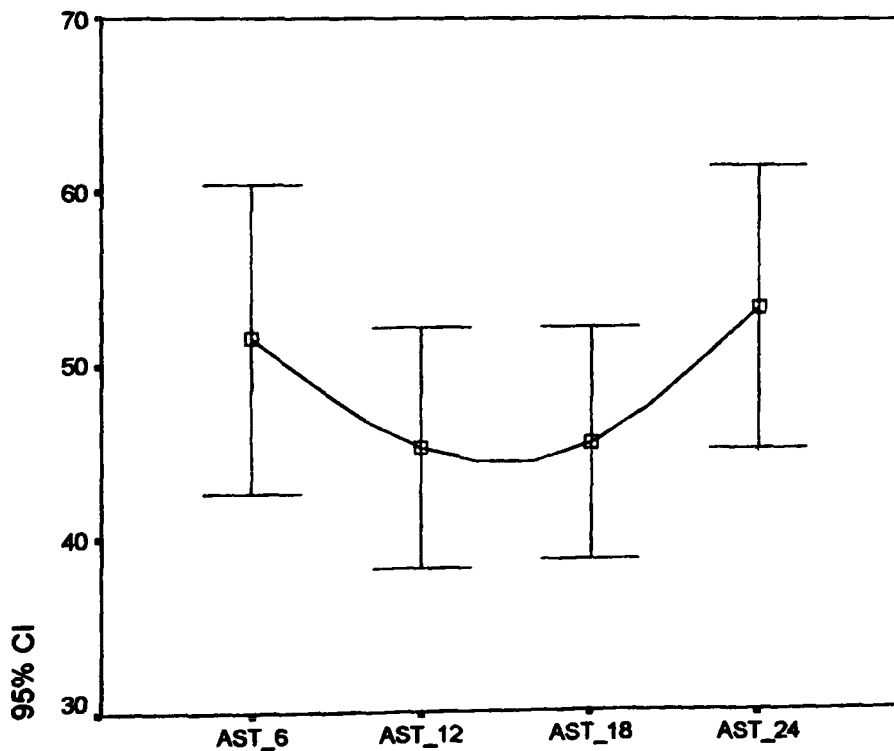
- Η μεταβολή των τιμών του AST, ALT, και DNA 6 – 12 – 18 – 24 μήνες μετά την έναρξη της θεραπείας περιγράφεται στον ακόλουθο πίνακα

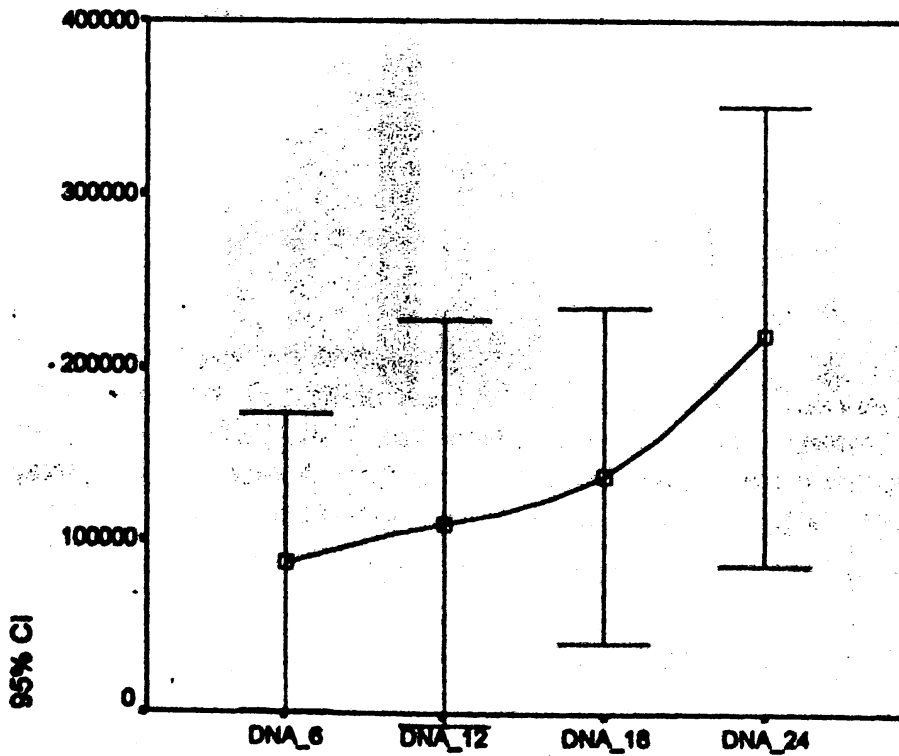
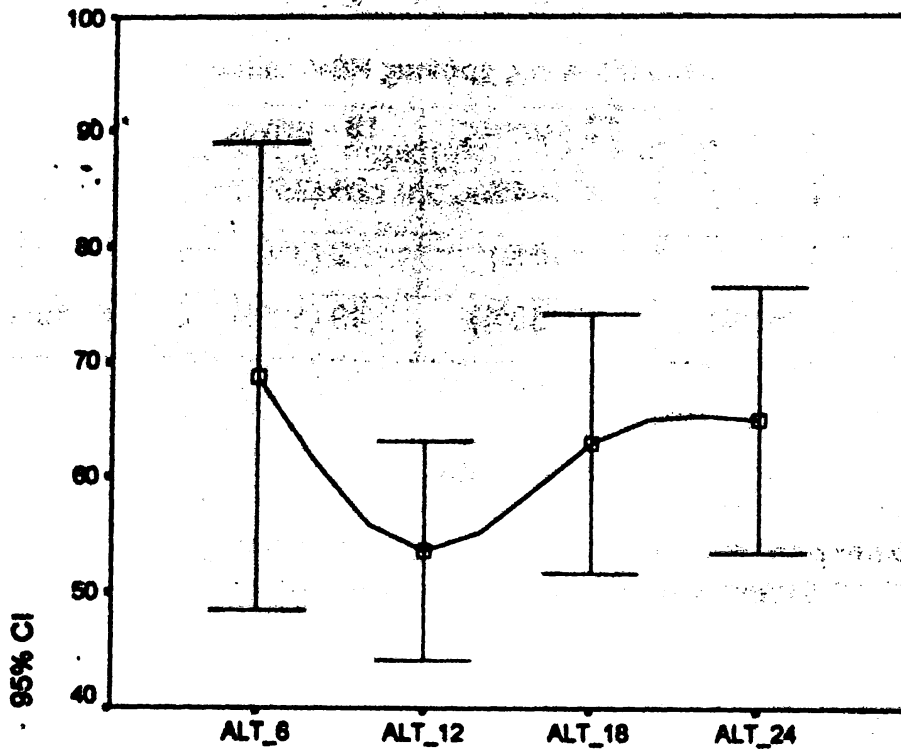
Στατιστικά

	AST_6	AST_12	AST_18	AST_24	ALT_6	ALT_12	ALT_18	ALT_24
N	79	79	79	79	79	79	79	79
Mean	51.5063	45.1646	45.4810	53.2785	68.7215	53.6329	62.9241	64.9620
Std. Deviation	39.9242	31.0671	29.9999	36.5092	90.5201	42.7309	50.2131	51.6697

	DNA_6	DNA_12	DNA_18	DNA_24
N	79	75	58	79
Mean	227158.8608	204502.6667	198856.8966	403110.1266
Std. Deviation	696466.2334	603990.0154	549371.3214	861800.8280

Τα παραπάνω παρουσιάζονται γραφικά στα ακόλουθα σχήματα





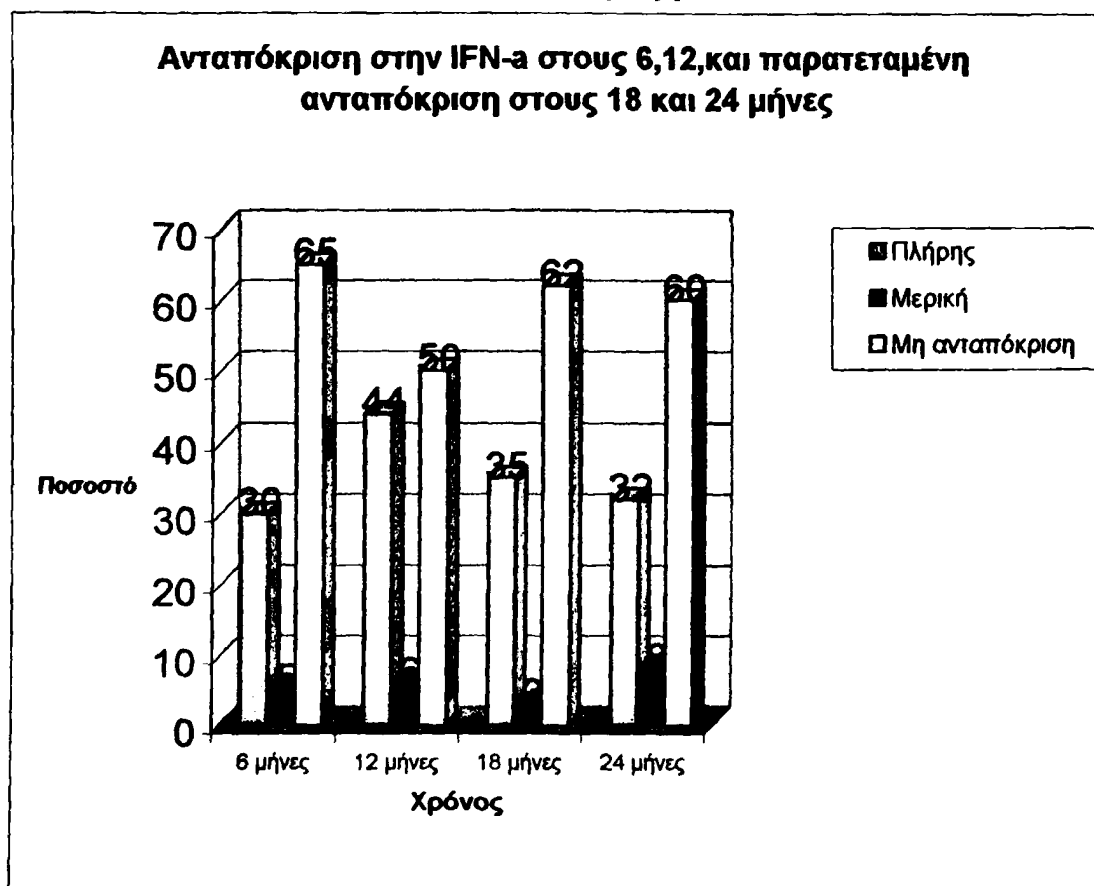
Η ανταπόκριση στη θεραπεία 6 - 12 - 18 και 24 μήνες μετά την έναρξη της παρουσιάζεται στον ακόλουθο πίνακα:



Ανταπόκριση στην IFN-α της χρόνιας HBV λοίμωξης

	6 - μήνες	12 - μήνες	18 - μήνες	24 - μήνες
Πλήρης	24 (30%)	35 (44%)	28 (35%)	25 (32%)
Μερική	4 (5%)	5 (6%)	2 (3%)	6 (8%)
Καθόλου	51 (65%)	39 (50%)	49 (62%)	48 (60%)

HBV λοίμωξη

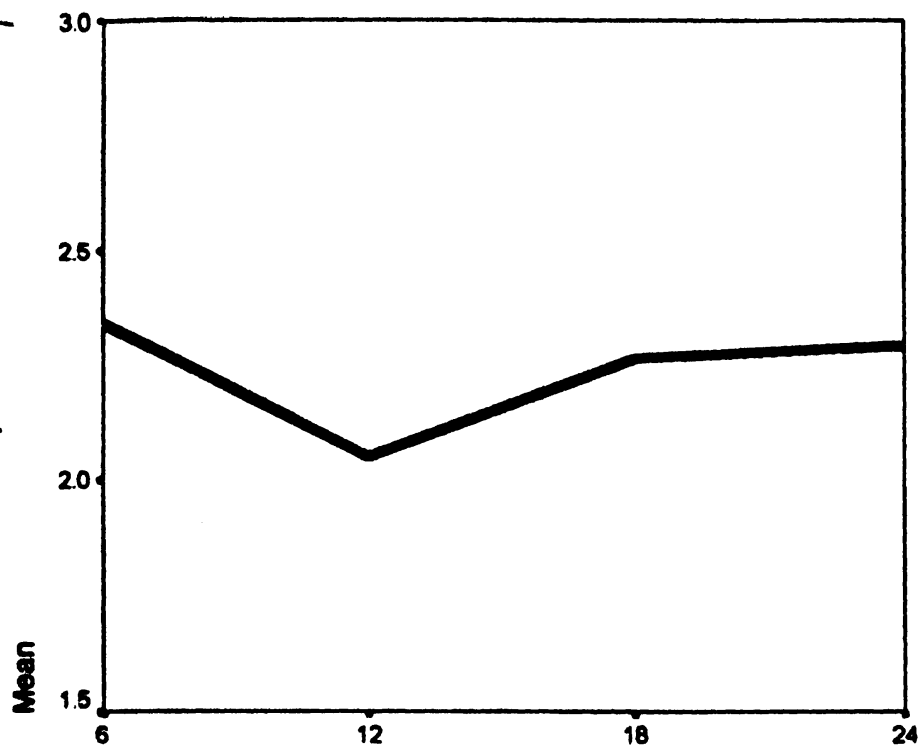


Με την στατιστική ανάλυση (Chi-square test $df=1$) προκύπτει ότι η πλήρης ανταπόκριση στους 12 μήνες συγκριτικά με την ανταπόκριση στους 6 μήνες διαφέρει σε σημείο οριακής στατιστικής σημαντικότητας ($p=0.0563$). Η ανάλυση έδειξε στο σημείο αυτό ότι αύξηση του αριθμού των ασθενών σε ένα ποσοστό 10% θα αποδείξει τη διαφορά σε στατιστικά σημαντικό βαθμό της ανταπόκρισης στους 12 μήνες συγκριτικά με τους 6 μήνες. Αν συμπεριλάβουμε στην ανάλυσή μας και την μερική ανταπόκριση τότε προκύπτει βελτίωση της στατιστικής σημαντικότητας ($p=0.0538$).

Εξάλλου σύγκριση της πλήρους ανταπόκρισης στους 18 μήνες (παρατεταμένη ανταπόκριση = 6 μήνες μετά την ολοκλήρωση της θεραπείας) προκύπτει ότι δεν διαφέρει στατιστικά με αυτή στους 12 μήνες ($p=0.1732$).

όπως επίσης και στους 24 μήνες(12 μήνες μετά την ολοκλήρωση της θεραπείας) ($p=0.1075$).

Το ακόλουθο γράφημα παριστάνει την μέση ανταπόκριση στη θεραπεία (αδρός δείκτης), στη διάρκεια της μελέτης.



3 = Καθόλου ανταπόκριση – 1 = πλήρης ανταπόκριση

- Η πολυπαραγοντική ανάλυση έδειξε οριακές διαφορές ($p = 0.0563$) στην ανταπόκριση στη θεραπεία των ασθενών με ηπατίτιδα-B, αφού λήφθηκαν υπόψη οι τιμές AST, ALT και DNA κατά την εισαγωγή τους στη μελέτη. Η παρατηρηθείσα οριακή στατιστική σημαντικότητα αποδίδεται κυρίως στην ανταπόκριση των ασθενών το πρώτο 12μηνο μετά την έναρξη της θεραπείας.

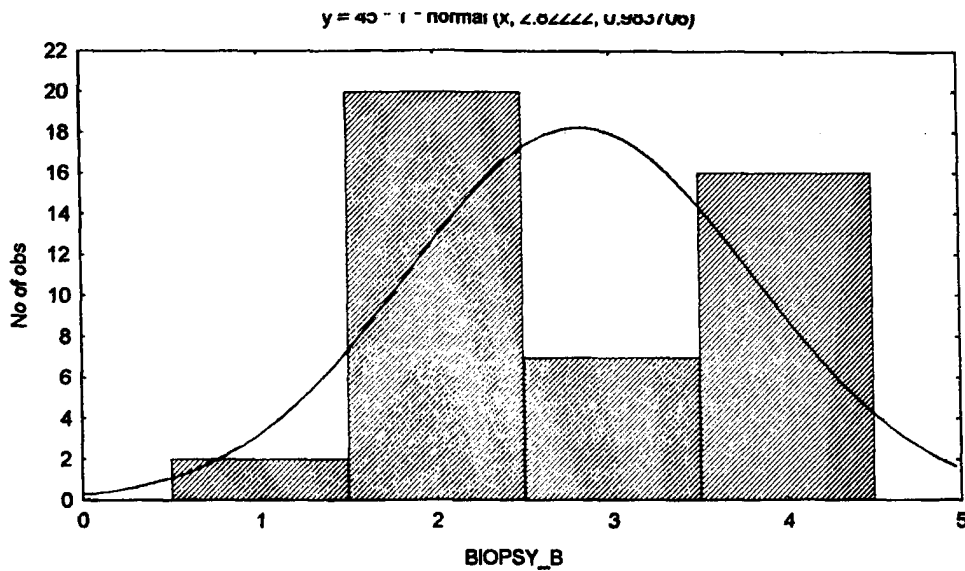
Η κατανομή των αποτελεσμάτων της βιοψίας στο τέλος της μελέτης είναι η ακόλουθη:

Βιοψία Β

	Συχνότητα	%	Τιμή %	Αθροιστικό %	
Τιμή(HAI)	1	2	2.5	4.4	4.4
	2	20	25.3	44.4	48.9
	3	7	8.9	15.6	64.4
	4	16	20.3	35.6	100.0
Σύνολο	45	57.0	100.0		
Μη ύπαρξη	34	43.0			
Σύνολο	79	100.0			



Ιστόγραμμα κατανομής της βιοψίας ήπατος στην HBV λοίμωξη μετά την θεραπεία

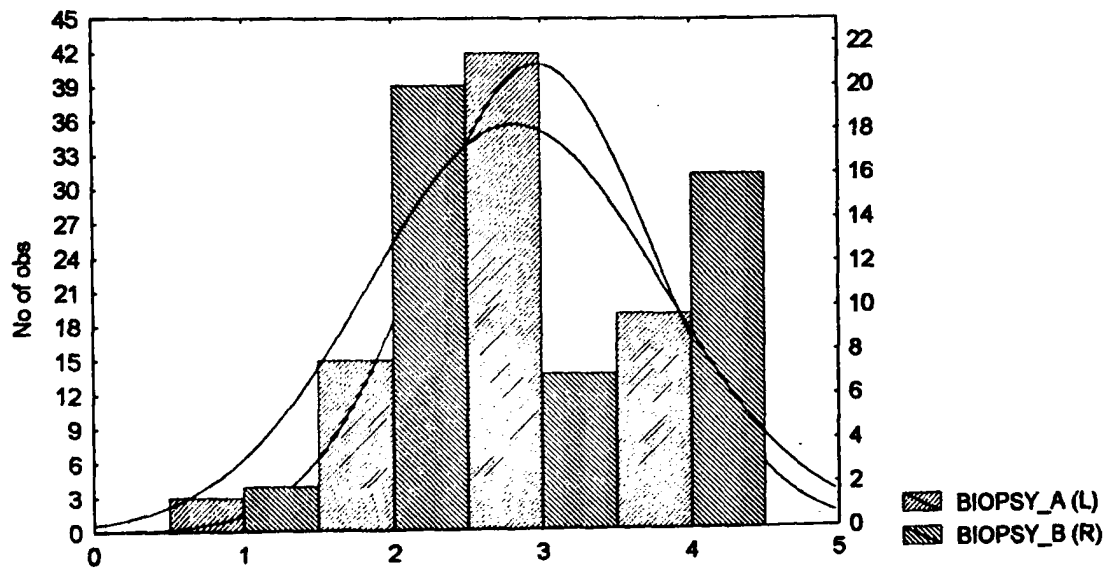


Συγκριτική αντιπαράθεση των βιοψιών πριν και μετά θεραπεία θα μας δώσει τα ακόλουθα γραφήματα.

Συγκριτική αντιπαράθεση βιοψιών στην HBV , προ και μετά θεραπεία

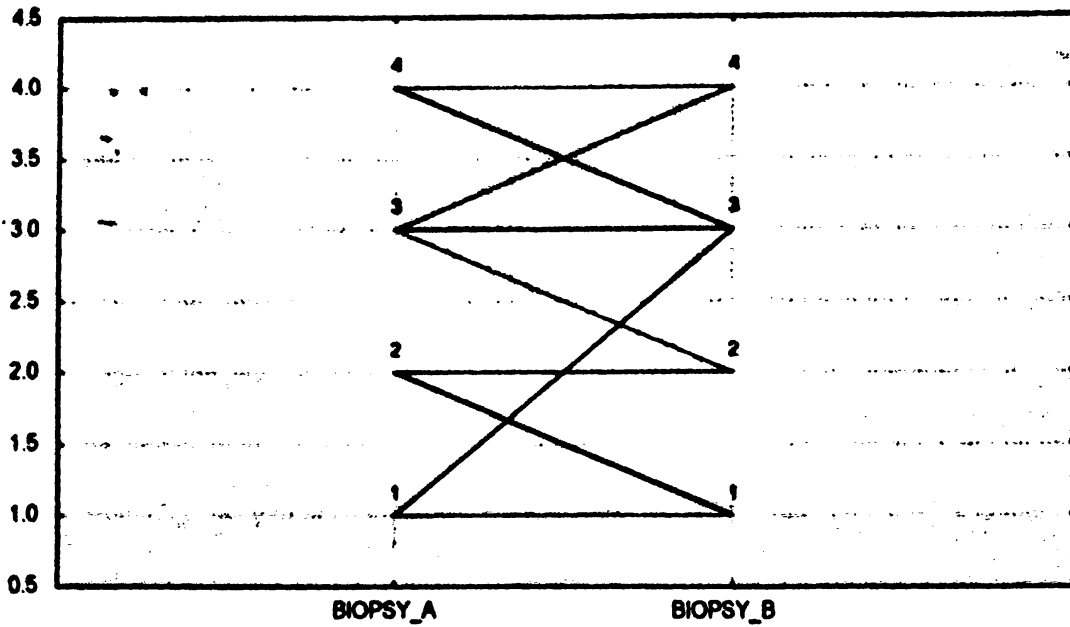
BIOPSY_A $y = 79 \cdot 1 \cdot \text{normal}(x, 2.974683, 0.767525)$

BIOPSY_B $y = 45 \cdot 1 \cdot \text{normal}(x, 2.82222, 0.983706)$



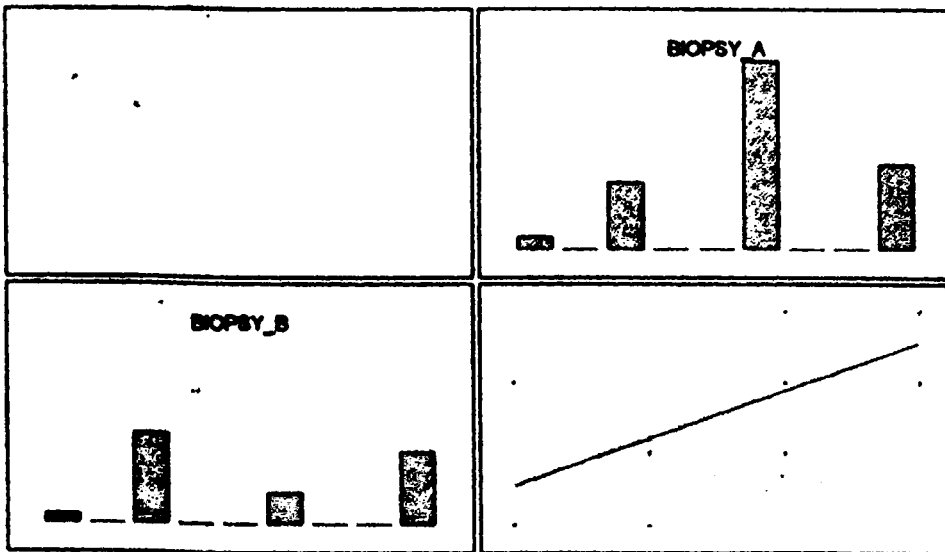
Συγκριτική αντιπαράθεση βιοψιών στην HBV , προ και μετά θεραπεία

Line Plot (THESIS.STA 37\79c)

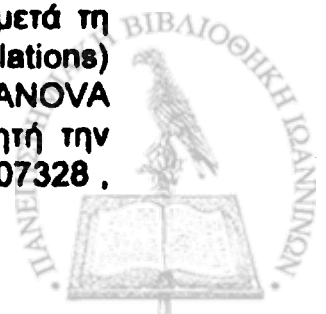


Συγκριτική αντιπαράθεση βιοψιών στην HBV , προ και μετά θεραπεία

Correlations (THESIS.STA 37\79c)



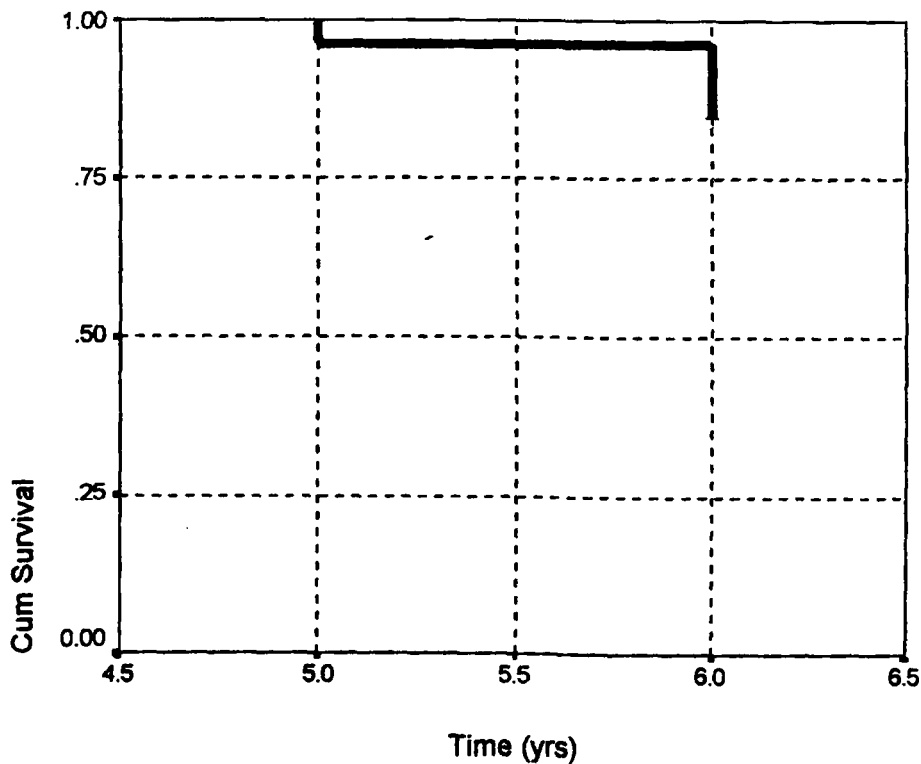
Στη διερεύνηση της συσχέτισης μεταξύ της βιοψίας πριν και μετά τη θεραπεία με τη μέθοδο Spearman (Spearman Rank Order Correlations) προκύπτει ($p < 0.001$) και με την χρήση της μεθόδου Kruskal -Wallis ANOVA test ($p = 0.0008$). Επίσης χρησιμοποιώντας σαν ανεξάρτητη μεταβλητή την βιοψία πριν την θεραπεία, με τη μέθοδο Chi-square προκύπτει $t = 13,07328$.



$df=3$ και $p=0.0045$. Δηλαδή στατιστικά πολύ σημαντική διαφορά(στη βελτίωση) της βιοψίας μετά από την ολοκλήρωση της θεραπείας συγκριτικά με την βιοψία προ θεραπείας.

- Τέλος Οι ασθενείς εκτιμήθηκαν και **6 χρόνια** αργότερα όπου καταγράφηκε αν είναι εν ζωή , αν παρουσίασαν ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα και αν απεβίωσαν από επιπλοκή της χρόνιας ενεργού ηπατίτιδας(κίρρωση, ασκίτις κ.λ.π.). Η βετής επιβίωση των ατόμων της μελέτης ήταν $84\% \pm 4\%$. Επίσης, κανείς από τους διερευνούμενους παράγοντες δεν βρέθηκε να είναι ανεξάρτητος προγνωστικός δείκτης για την έκβαση των ατόμων της μελέτης, με βάση το πολυπαραγοντικό μοντέλο του Cox που εφαρμόστηκε.

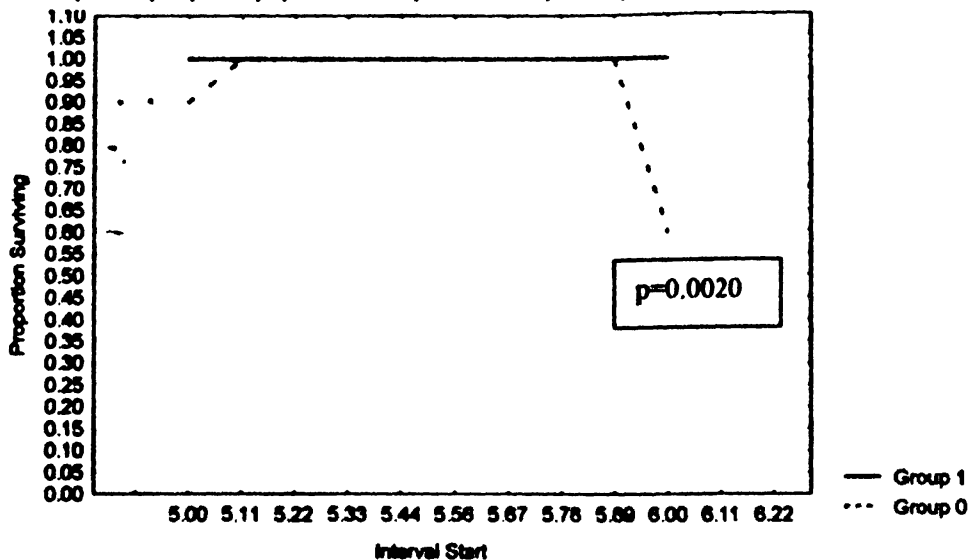
Διάγραμμα επιβίωσης στους ασθενείς με χρόνια HBV λοίμωξη



Συγκρίνοντας την επιβίωση (Chi-square test) των ασθενών που ανταποκρίθηκαν πλήρως στη θεραπεία στους 12 μήνες σε σχέση με τους ασθενείς που δεν ανταποκρίθηκαν προκύπτει σημαντική διαφορά (απεικονίζεται παραστατικά στο ακόλουθο γράφημα) που είναι στατιστικά σημαντική($p=0.0020$)

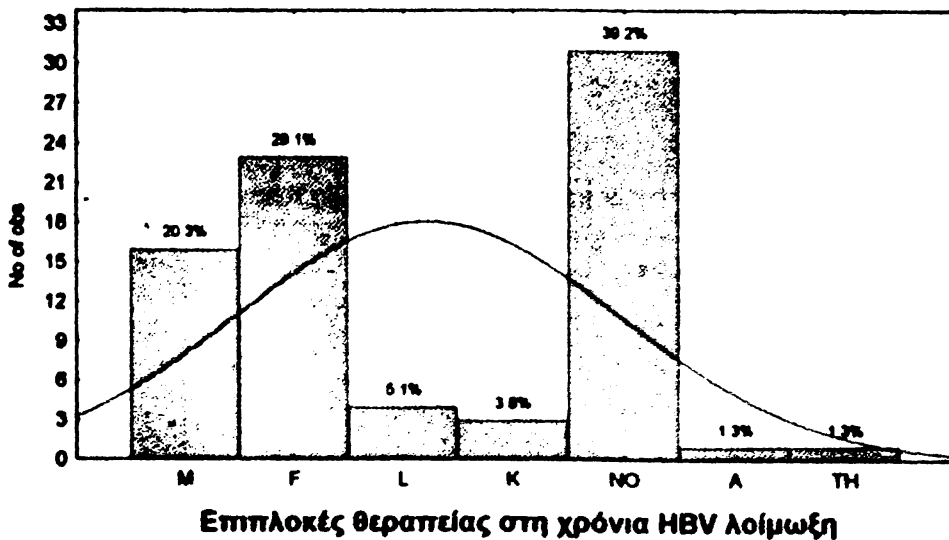


Ποσοστό επιβίωσης ασθενών με χρόνια HBV λοίμωξη που ανταποκρίθηκαν (Group 1) και μη ανταποκριθέντων (Group 0) στη θεραπεία με IFN-α.



Οι επιπλοκές που παρουσιάστηκαν στους ασθενείς κατά την διάρκεια της θεραπείας καταγράφονται στο ακόλουθο διάγραμμα όπου (M= μυαλγίες, F=πυρετός, L=λευκοπενία, K=καταβολή, NO=χωρίς επιπλοκές, A=αλωπεκία, TH=θρομβοπενία). Κανένας ασθενής δεν χρειάστηκε να διακόψει την αγωγή λόγω σοβαρής επιπλοκής. Γενικά μπορούμε να αναφέρουμε ότι η θεραπεία ήταν πολύ καλά ανεκτή από την πλειονότητα των ασθενών.

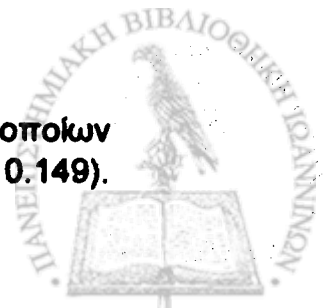
Histogram THESIS.STA 37v79c)
 $y = 79 \cdot 1 \cdot \text{normal}(x, 102.215, 1.73701)$



Τέλος 4 ασθενείς (5%) στη διάρκεια της παρακολούθησης παρουσίασαν αντισώματα έναντι του επιφανειακού αντιγόνου(anti-HBsAg).

Ηπατίδα HCV

Μελετήθηκαν 49 ασθενείς με HCV χρόνια λοίμωξη, 29 εκ των οποίων ήταν άνδρες 48.5 ± 15 ετών και 20 γυναίκες 54.9 ± 14 ετών ($p = 0.149$).



Σκοπός της μελέτης είναι η αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας της μακροχρόνιας θεραπείας με Ιντερφερόνη αλφα-2^α. Εκ των ασθενών οι 17 (34.7%) είχαν υποβληθεί σε μετάγγιση και οι 13 (26.5%) καταναλώναν αλκοόλ, κατά δήλωση τους.

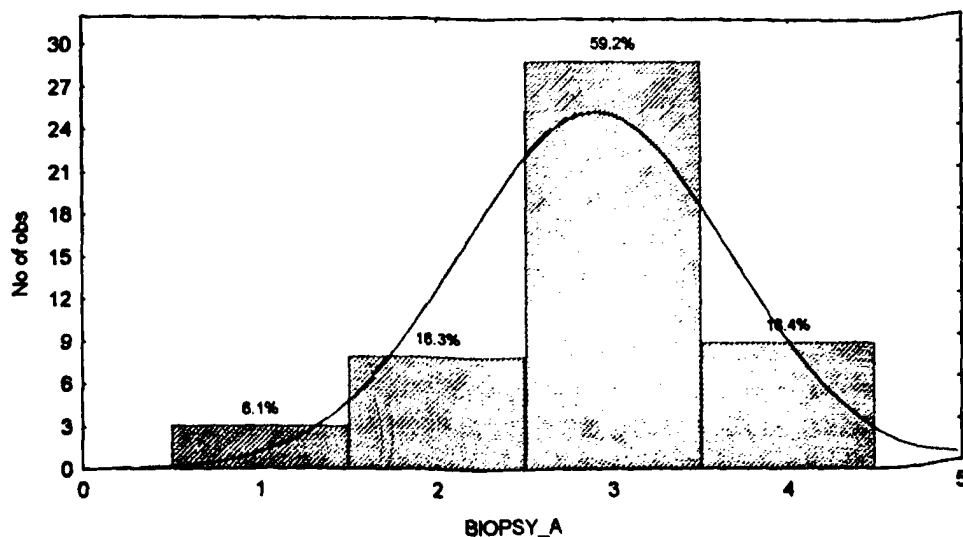
- Η μέση τιμή του AST κατά την εισαγωγή των ασθενών στη μελέτη ήταν 110.71 ± 31.6 (IU/L), ενώ η μέση τιμή της ALT ήταν 123.69 ± 49.11 (IU/L).
- Η μέση τιμή του RNA ήταν $2686977.5510 \pm 1827729.7473$ (copies/ml)
- Τέλος, η κατανομή των αποτελεσμάτων της βιοψίας στην εισαγωγή περιγράφεται στον ακόλουθο πίνακα

ΒΙΟΨΙΑ

	Συχνότητα	%	Τιμη %	Αθροιστικό ποσοστό
Τιμή(HAI)	1	3	6.1	6.1
	2	8	16.3	22.4
	3	29	59.2	81.6
	4	9	18.4	100.0
	Σύνολο	49	100.0	100.0

Ιστογράμμα κατανομής βιοψιών στην χρόνια HCV λοίμωξη πριν την θεραπεία

$$y = 49 \cdot 1 \cdot \text{normal}(x, 2.89796, 0.770414)$$

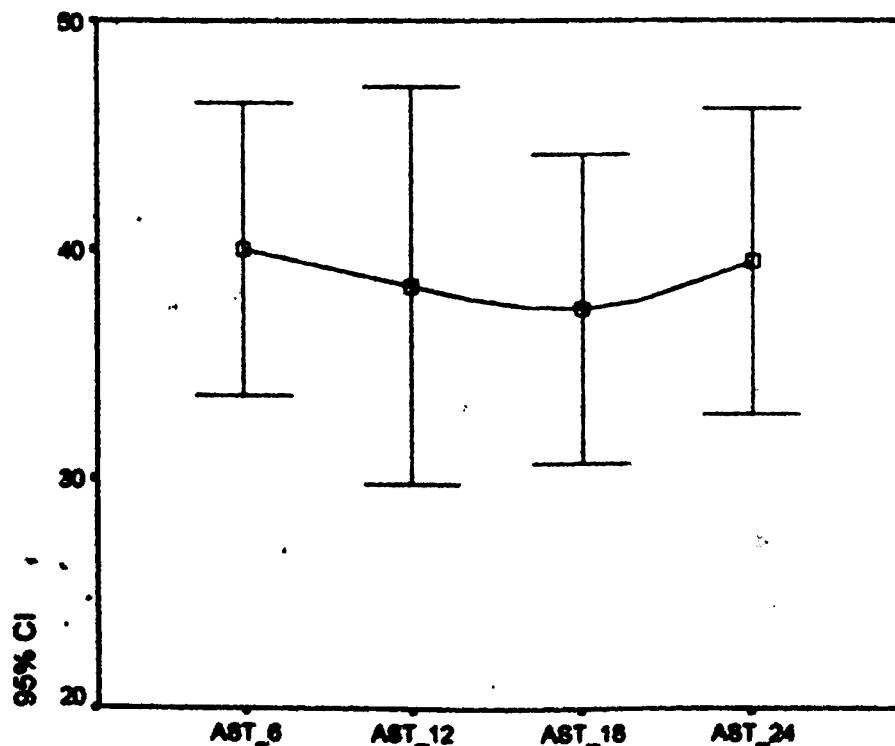


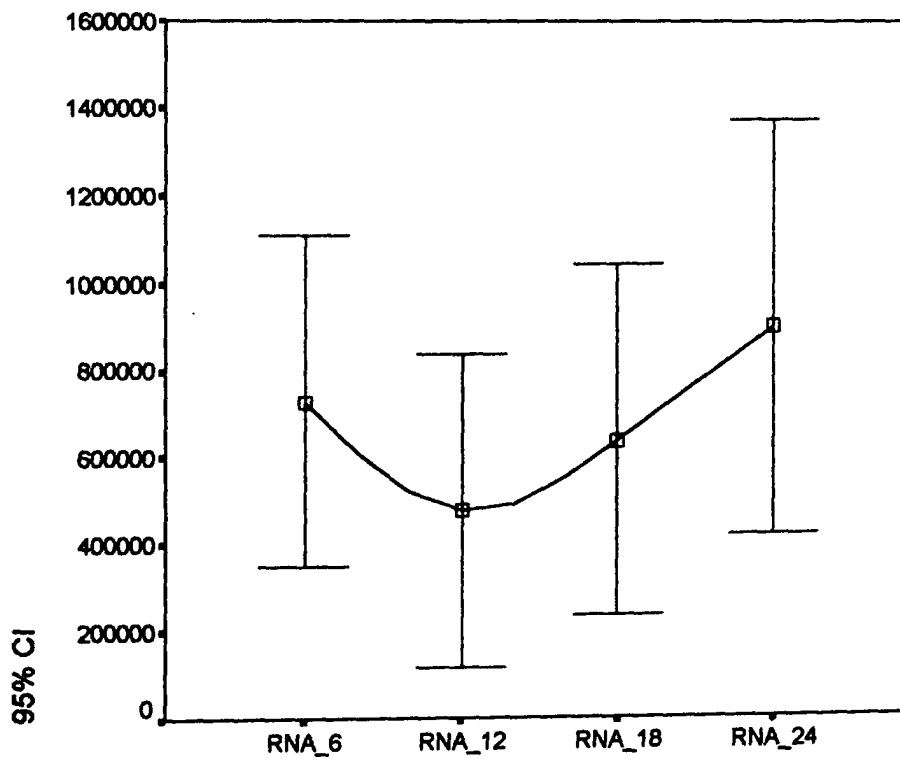
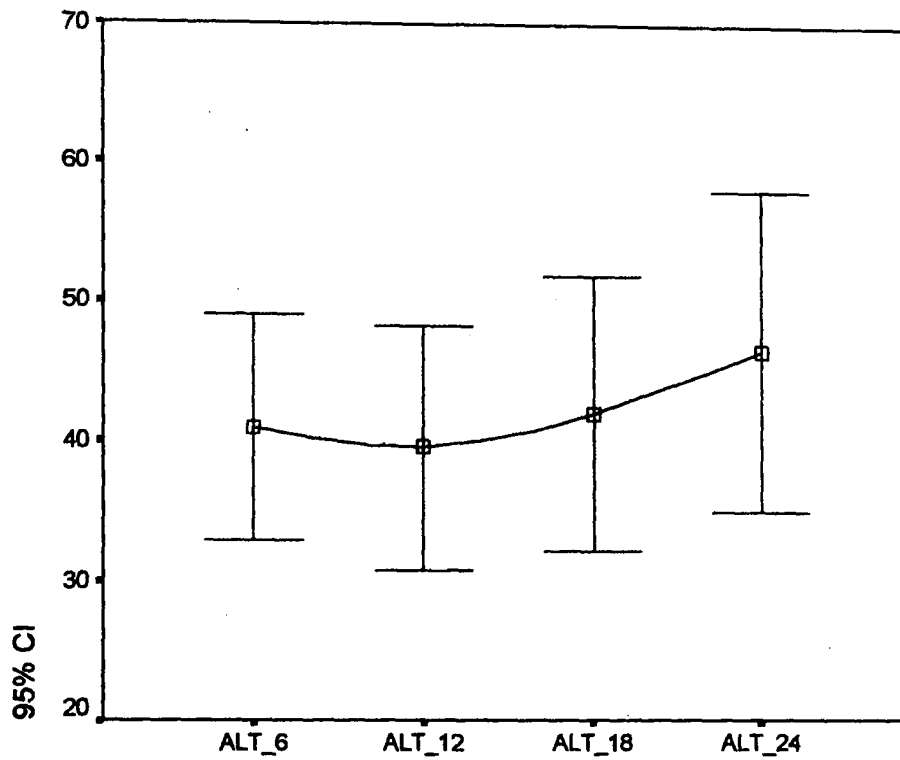
- Η μεταβολή των τιμών του AST, ALT, και RNA 6 – 12 – 18 – 24 μήνες μετά την έναρξη της θεραπείας περιγράφεται στον ακόλουθο πίνακα

	AST 6	AST 12	AST 18	AST 24	ALT 6	ALT 12	ALT 18	ALT 24
N	49	0	0	1	49	49	49	49
Mean	40.0204	38.4490	37.4286	39.4694	40.9592	39.5714	42.0612	46.4694
Std. Deviation	22.1890	30.2008	23.3211	23.1049	27.9821	30.3542	34.3690	40.1223

RNA-6	RNA-12	RNA-18	RNA-24
49	49	48	49
766485.7143	543214.2857	638833.3333	958108.1633
1315328.9083	1319807.0250	1397366.0684	1674653.9289

Τα παραπάνω παρουσιάζονται γραφικά στα ακόλουθα σχήματα:



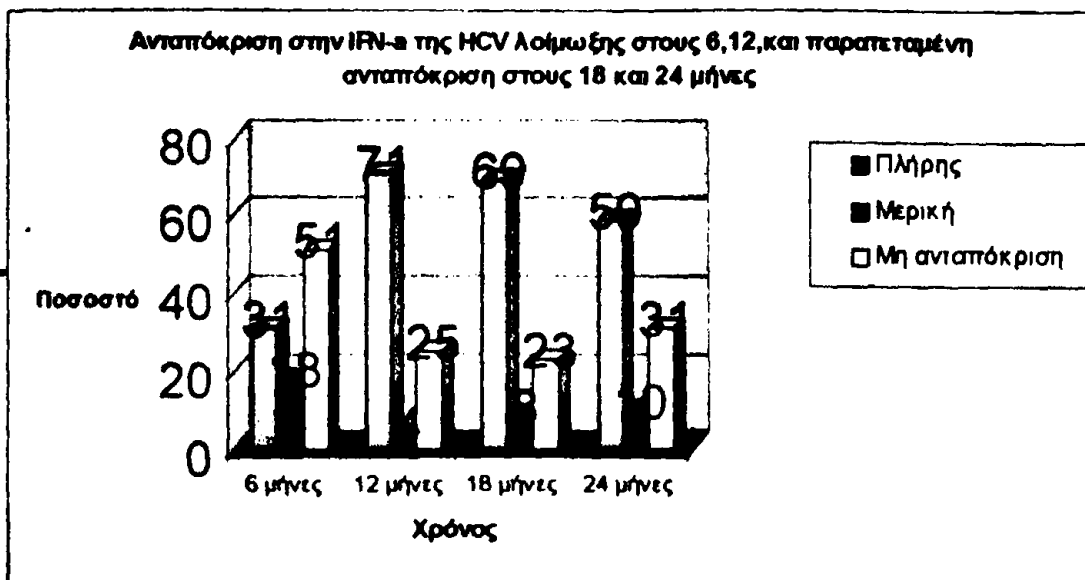


Η ανταπόκριση στη θεραπεία 6 – 12 – 18 και 24 μήνες μετά την έναρξη της παρουσιάζεται στον ακόλουθο πίνακα:



Ανταπόκριση στην IFN- α της χρόνιας HCV λοίμωξης

	6 - μήνες	12 - μήνες	18 - μήνες	24 - μήνες
Πλήρης	15 (31%)	35 (71%)	34 (69%)	29 (59%)
Μερική	9 (18%)	2 (4%)	4 (8%)	5 (10%)
Μη ανταπόκριση	25 (51%)	12 (25%)	11 (23%)	15 (31%)

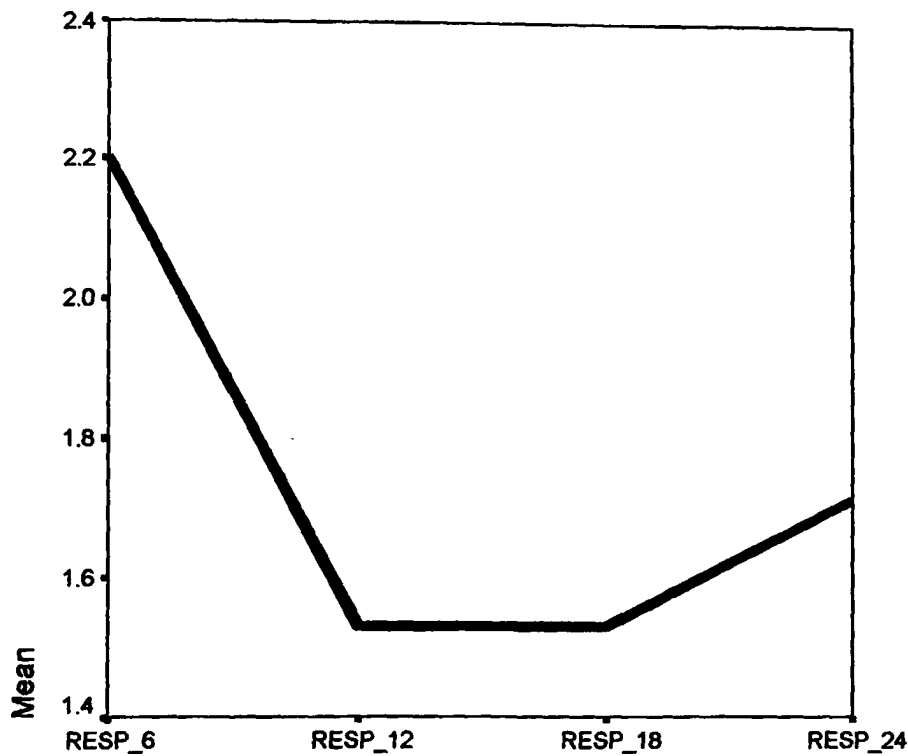


Με την στατιστική ανάλυση (Chi-square test $df=1$) συμπεραίνουμε ότι η πλήρης ανταπόκριση στους 12 μήνες συγκριτικά με την ανταπόκριση στους 6 μήνες διαφέρει σε σημαντικό βαθμό στατιστικής σημαντικότητας ($p=0.005$) και ($p=0.0011$) στη διόρθωση κατά Yates (Yates Corrected Chi-square).

Επίσης σύγκριση της ανταπόκρισης (παρατεταμένη ανταπόκριση) στους 18 και 12 μήνες απέδειξε μη στατιστικό σημαντικό αποτέλεσμα ($p=0.9042$). Δηλαδή οι ασθενείς παρουσιάζουν πολύ καλύτερη ανταπόκριση στους 12 μήνες συγκριτικά με τους 6 και η παρατεταμένη ανταπόκριση (18 μήνες) διατηρείται στο ίδιο ποσοστό και 6 μήνες μετά την ολοκλήρωση της θεραπείας. Εξάλλου παρόμοια αποτελέσματα ανέδειξε και η ανάλυση της διατήρησης της ανταπόκρισης στους 24 συγκριτικά με τους 12 μήνες.

Το ακόλουθο γράφημα παριστάνει την μέση ανταπόκριση στη θεραπεία (αδρός δείκτης), στη διάρκεια της μελέτης.





3 = Καθόλου ανταπόκριση , 1 = πλήρης ανταπόκριση

- Η πολυπαραγοντική ανάλυση έδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p = 0.011$) στην ανταπόκριση στη θεραπεία των ασθενών με ηπατίτιδα-C, αφού λήφθηκαν υπόψη οι τιμές AST, ALT και DNA κατά την εισαγωγή τους στη μελέτη. Η παρατηρηθείσα στατιστική σημαντικότητα αποδίδεται κυρίως στην ανταπόκριση των ασθενών στο 12μηνο – 18μήνο μετά την έναρξη της θεραπείας.

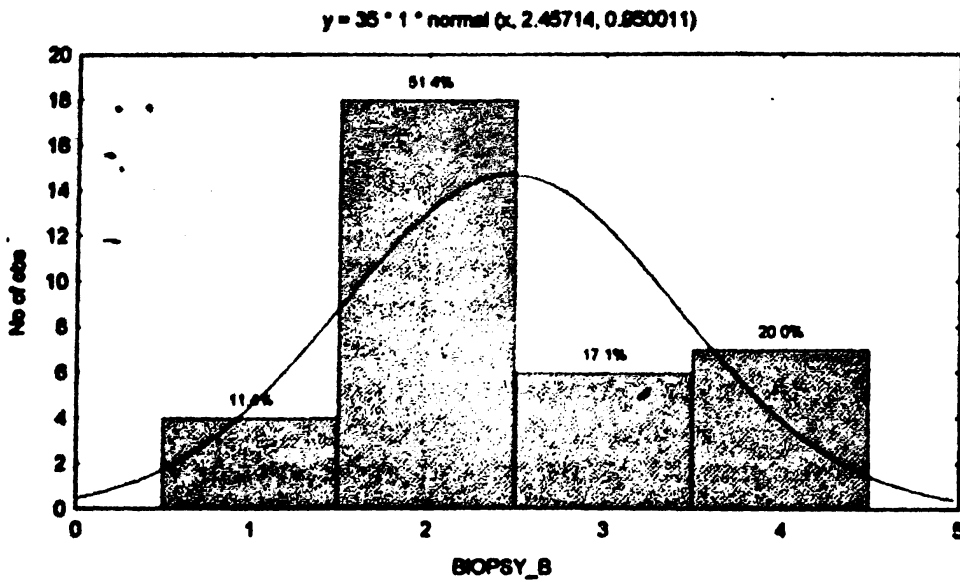
Η κατανομή των αποτελεσμάτων της βιοψίας στο τέλος της μελέτης είναι η ακόλουθη:

ΒΙΟΨΙΑ Β

	Συχνότητα	%	Τιμή %	Αθροιστικό %
Τιμή(HAI)	1	4	8.2	11.4
	2	18	36.7	51.4
	3	6	12.2	17.1
	4	7	14.3	20.0
	Σύνολο	35	71.4	100.0
Μη μετρήσιμο		14	28.6	
Σύνολο		49	100.0	



Ιστογράμμο κατανομής της βιοψίας ήπατος στην HCV λοίμωξη μετά την θεραπεία

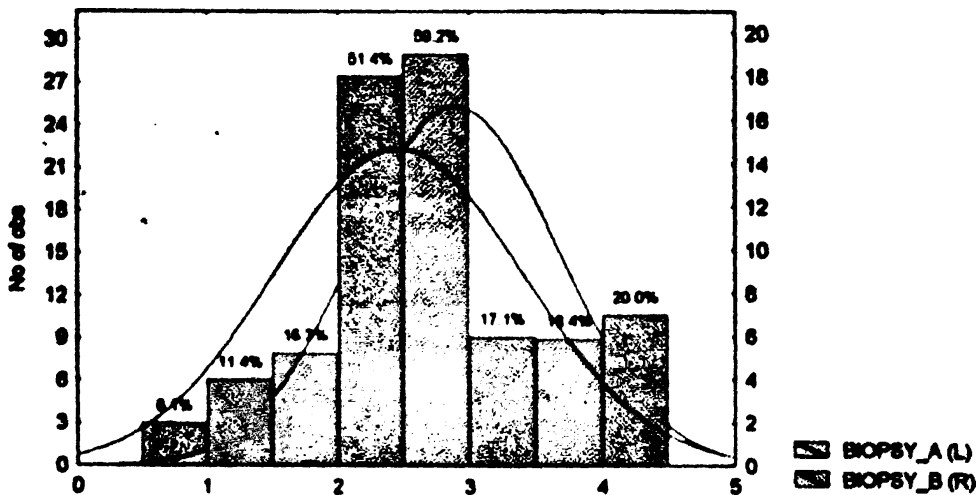


• Με συγκριτική αντιπαράθεση των βιοψιών πριν και μετά τη θεραπεία θα έχουμε τα ακόλουθα γραφήματα

Histogram (HCV THESIS_STA 37v49c)

BIOPSY_A $y = 49 \cdot 1 \cdot \text{normal} (x, 2.69796, 0.770414)$

BIOPSY_B $y = 35 \cdot 1 \cdot \text{normal} (x, 2.45714, 0.950011)$



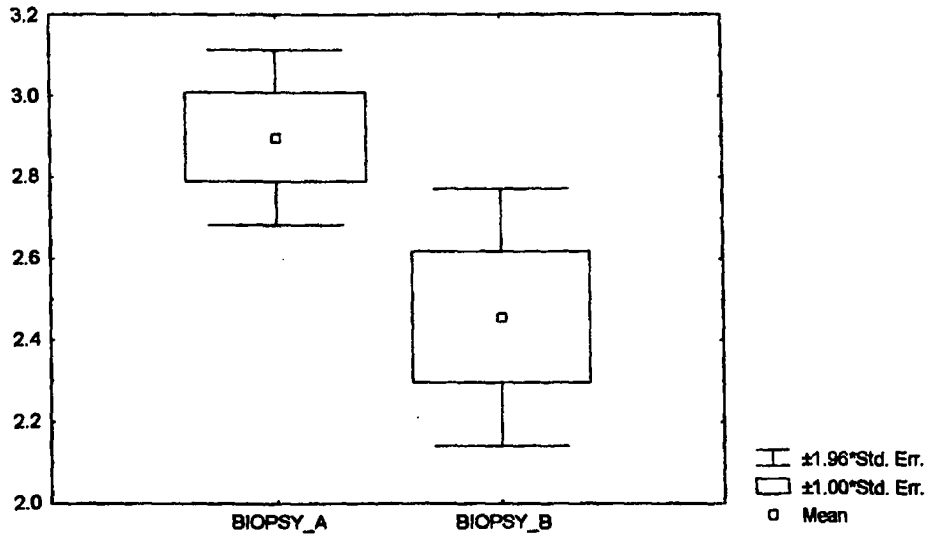
(BIOPSY A = πριν τη θεραπεία , BIOPSY B=μετά τη θεραπεία)

Συγκριτική αντιπαράθεση βιοψιών στην HCV , προ και μετά θεραπεία

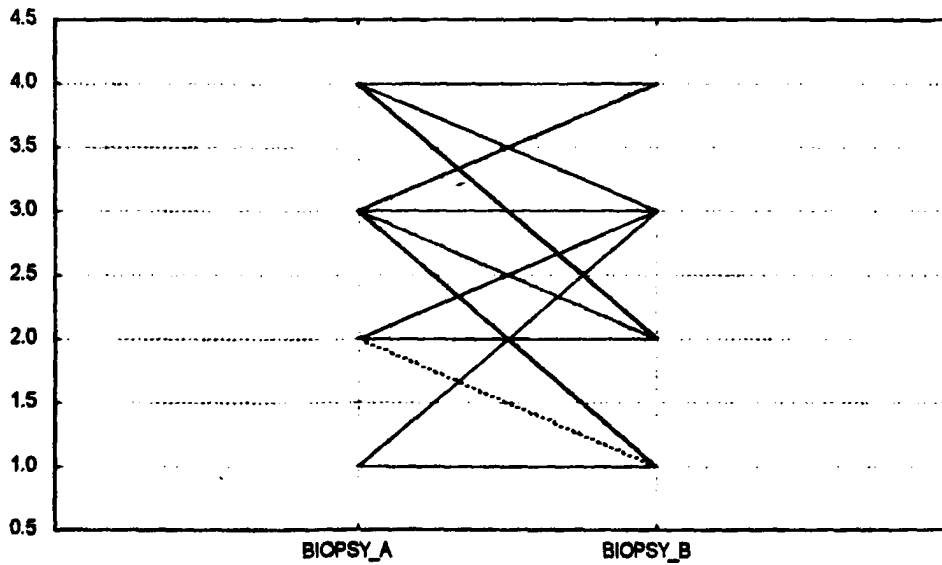


Συγκριτική αντιπαράθεση βιοψιών στην HBV , προ και μετά θεραπεία

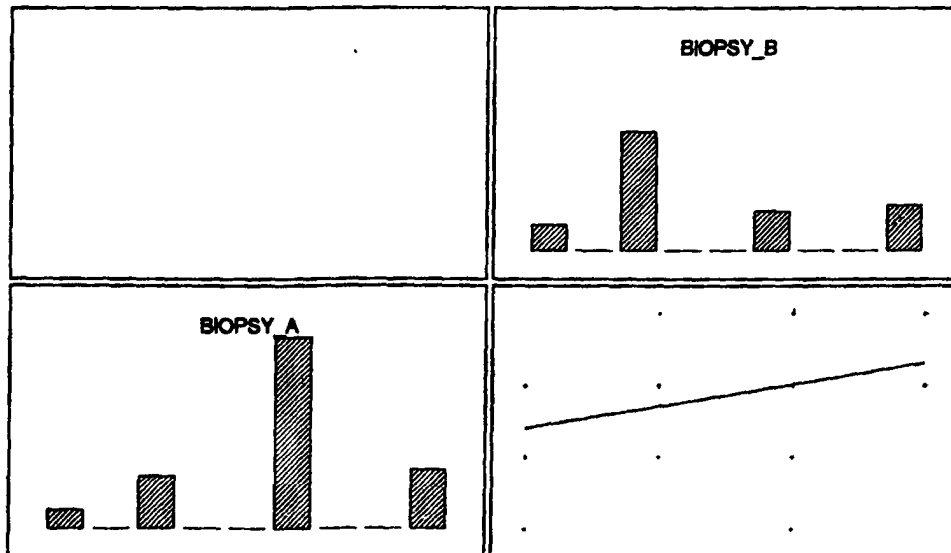
Box & Whisker Plot



Line Plot (HCV THESIS.STA 37v*49c)



Correlations (HCVTHE~1.STA 37v*49c)

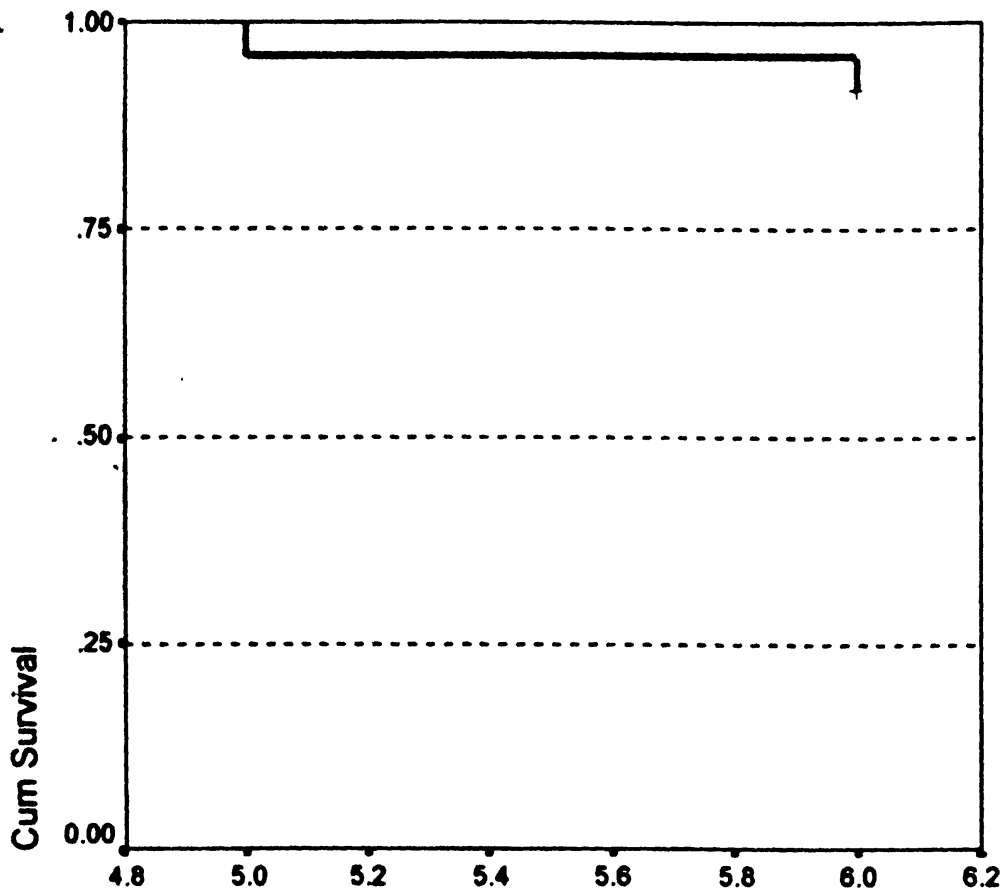


Στη μελέτη της συσχέτισης μεταξύ της βιοψίας πριν και μετά τη θεραπευτική αγωγή με τη μέθοδο Spearman (Spearman Rank Order

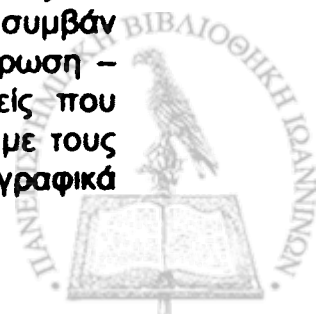


Correlations) προκύπτει σημαντική βελτίωση ($p=0.042516$), η οποία δεν επιβεβαιώνεται ισχυρά και με τη μέθοδο Kruskal- Wallis ANOVA test($p=0.1743$). Επίσης χρησιμοποιώντας σαν ανεξάρτητη μεταβλητή την βιοψία πριν τη θεραπεία (BIOPSY A), με την μέθοδο Chi-square προκύπτει $t=4.847514$, $df=3$ και $p=0.1833$ το οποίο δεν είναι στατιστικά σημαντικό. Όμως με τη χρήση της μεθόδου Sign test προκύπτει ($p=0.045500$) που είναι στατιστικά σημαντικό.

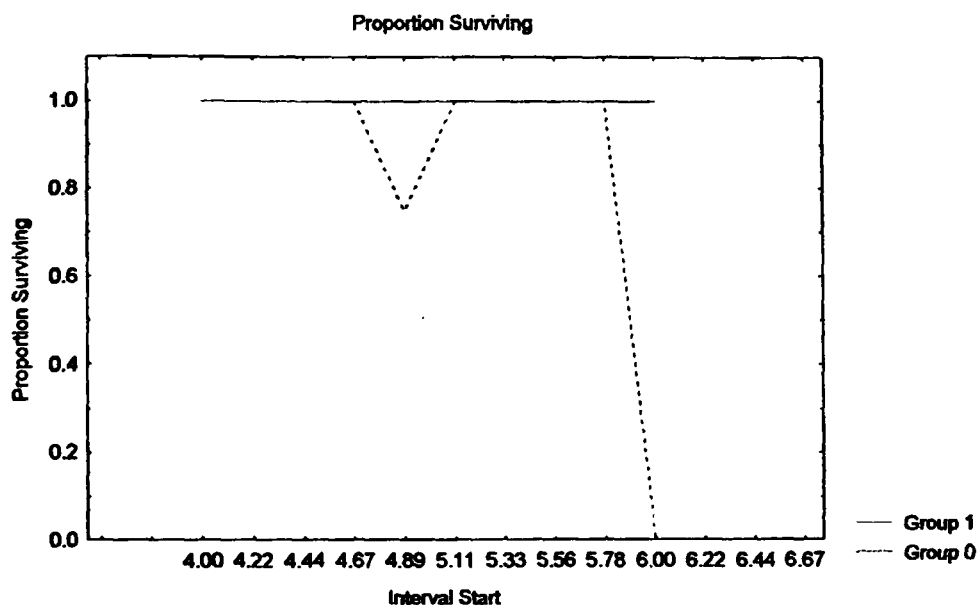
■ Τέλος οι ασθενείς εκτιμήθηκαν και 6 χρόνια αργότερα όπου καταγράφηκε αν είναι εν ζωή, αν παρουσίασαν ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα και αν απεβίωσαν από επιπλοκή της χρόνιας ενεργού ηπατίτιδας(κίρρωση, ασκίτις κ.λ.π.). Η θετική επιβίωση των ατόμων της μελέτης ήταν $92\% \pm 4\%$. Επίσης, κανείς από τους διερευνούμενους παράγοντες δεν βρέθηκε να είναι ανεξάρτητος προγνωστικός δείκτης για την έκβαση των ατόμων της μελέτης, με βάση το πολυπαραγοντικό μοντέλο του Cox που εφαρμόσθηκε.



Η εκτίμηση της επιβίωσης (Chi-Square test, $df=1$) των ασθενών που ανταποκρίθηκαν πλήρως στη θεραπεία στους 12 μήνες(από τους 12 ασθενείς που δεν ανταποκρίθηκαν στην θεραπεία οι 7 παρουσίασαν συμβάν δηλαδή οι 4 απεβίωσαν από επιπλοκή της χρόνιας ηπατίτιδας κίρρωση - κίρρωση και 3 παρουσίασαν ΗΚΚ, ενώ από τους 35 ασθενείς που ανταποκρίθηκαν πλήρως κανείς δεν παρουσίασε συμβάν) σε σχέση με τους ασθενείς που δεν ανταποκρίθηκαν προκύπτει σημαντική διαφορά (γραφικά

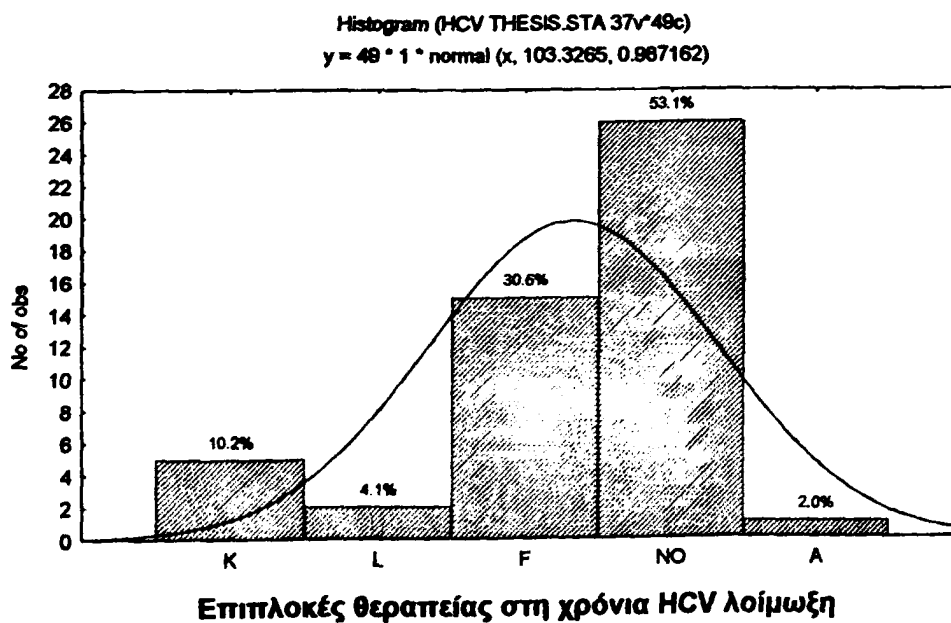


απεικονίζεται στο ακόλουθο γράφημα) και είναι στατιστικά πολύ σημαντική ($p=0.0000$).



Ποσοστό επιβίωσης ασθενών με χρόνια HCV λοίμωξη που ανταποκρίθηκαν (Group 1) και μη ανταποκριθέντων (Group 0) στη θεραπεία με IFN- α .

Τέλος οι επιπλοκές που παρουσιάσθηκαν στους ασθενείς κατά τη διάρκεια της θεραπείας καταγράφονται στο ακόλουθο διάγραμμα όπου (K=καταβολή, L=λευκοπενία, F=πυρετός, NO=χωρίς παρενέργειες, A=αλωπεκία). Κανείς ασθενής δεν διέκοψε την αγωγή εξαιτίας σοβαρής επιπλοκής. Η θεραπεία γενικά μπορούμε να αναφέρουμε ήταν πολύ καλά ανεκτή από το σύνολο των ασθενών.



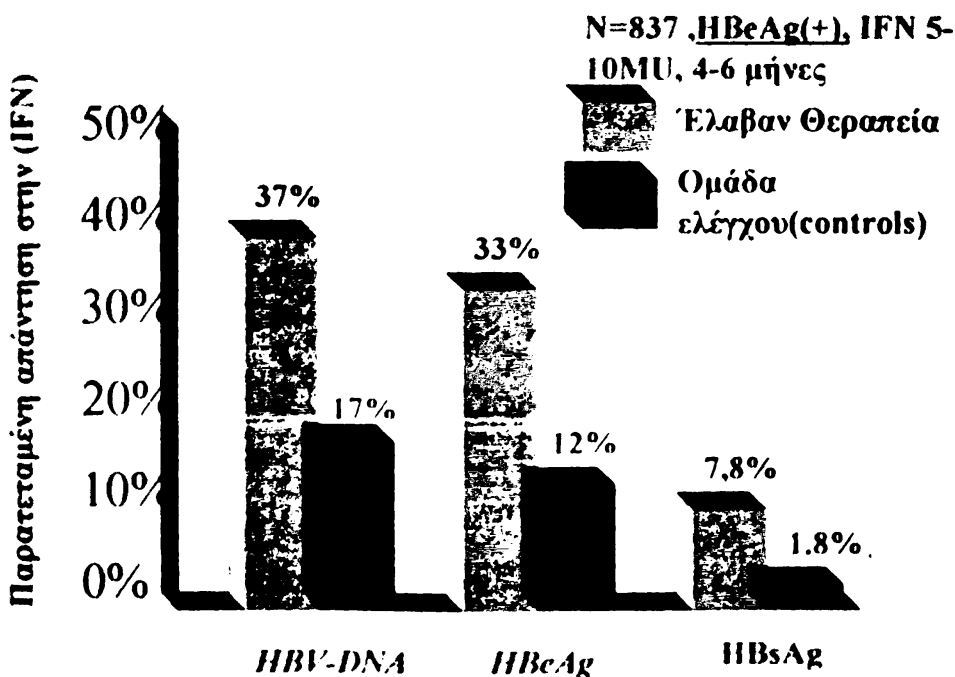
Σημείωση: Εφαρμόστηκε πολυπαραγοντική ανάλυση επαναλαμβανόμενων μετρήσεων (repeated measures με διόρθωση κατά Greenhouse - Geisser) για την αξιολόγηση διαφορών στην ανταπόκριση των ασθενών κατά τη διάρκεια της μελέτης. Στο πολυμεταβλητό μοντέλο ανάλυσης επιβίωσης σαν συμπαράγοντες ορίστηκαν οι τιμές του ALT, AST, DNA-RNA στο τέλος της αρχικής περιόδου των 24 μηνών.

Ε.ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Ιντερφερόνη α –θεραπεία της χρόνιας HbeAg-θετικής ηπατίτιδας B

Μετα-ανάλυση που δημοσιεύθηκε το 1993 ανασκοπεί 15 τυχαιοποιημένες με ομάδα ελέγχου (randomized controlled studies) μελέτες[436]. Στις μελέτες αυτές συνολικά έλαβαν μέρος 837 ενήλικες ασθενείς, οι οποίοι έλαβαν ιντερφερόνη-α σε δόση 5-10MU τρεις φορές την εβδομάδα για 4-6 μήνες. Απώλεια του HBeAg συνέβη στο 33% των ασθενών που έλαβαν θεραπεία συγκριτικά με 12% της ομάδας ελέγχου. Εξάλλου απώλεια του HBsAg καταγράφηκε στο 7,8% των ασθενών που έλαβαν ιντερφερόνη συγκριτικά με μόνο 1,8% της ομάδα ελέγχου (εικόνα 19).

Στη μελέτη μας έλαβαν μέρος 9(11.4%) ασθενείς με HBeAg + που ανταποκρίθηκαν πλήρως στην 12μηνη χορήγηση ιντερφερόνης και όλοι παρουσίασαν ορομετατροπή σε anti-HBeAg στη διάρκεια της παρακολούθησης(12 μήνες μετά την χορήγηση θεραπείας).Εξάλλου 1 ασθενής παρουσίασε και Anti-HBsAg. Στον Ελληνικό χώρο δεν υπάρχουν πολλοί ασθενείς με το ανώτερο ιολογικό πρότυπο(wild type).

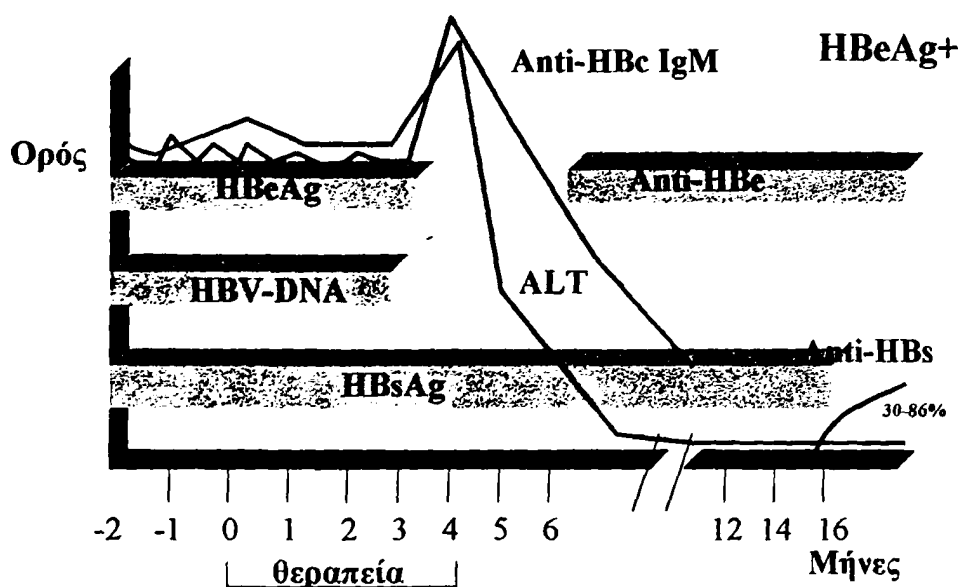


Εικόνα 19 Διακύμανση ποσοστού ανταπόκρισης (απώλεια του HBV-DNA, HBeAg, HBsAg) σε διάστημα παρακολούθησης 4-6 μηνών, μετά χορήγηση ιντερφερόνης α, σε τυπική HBeAg θετική χρόνια ηπατίτιδα B[436].



Το ιδανικό διάστημα χορήγησης ιντερφερόνης δεν έχει καλά τεκμηριωθεί. Πολυκεντρική μελέτη από την Ευρώπη κατέδειξε πρόσθετο όφελος από τη συνέχιση της θεραπείας για 32 εβδομάδες σε ασθενείς οι οποίοι δεν εξαφάνισαν το ΗΒεΑg στο τέλος των 16 εβδομάδων αλλά είχαν χαμηλά επίπεδα HBV-DNA (< 10pg/ml)[437].

Στους ασθενείς που ανταποκρίνονται στην ιντερφερόνη (IFN-α), παρουσιάζεται αύξηση των αμινοτρανσφερασών 6-8 εβδομάδες μετά την έναρξη της θεραπείας. Το φαινόμενο αυτό εκφράζει την πετυχημένη προσπάθεια του ανοσιακού συστήματος να απαλλαγεί από τα μολυσμένα ηπατοκύτταρα (φαινόμενο θεραπευτικής ηπατίτιδας)(εικόνα 20). Εξαφάνιση του HBV-DNA με τη μέθοδο της κηλίδας ή τον υβριδισμό υγρής φάσης παρατηρείται κατά την διάρκεια της θεραπείας. Το γεγονός της ορομετατροπής ΗΒεΑg σε αντι-ΗΒεΑg μπορεί να καθυστερήσει[438].



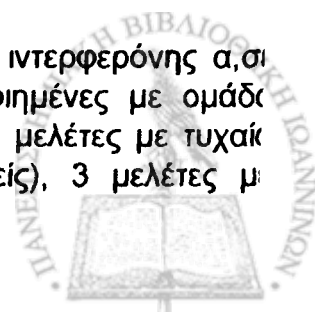
Εικόνα 20. Πλήρης ανταπόκριση χρόνιας ηπατίτιδας Β, με θετικό ΗΒεΑg, στην IFN-α, με πρόκληση θεραπευτικής ηπατίτιδας (30-50%)[438].

Μπορεί να ακολουθήσει αργότερα εξαφάνιση του ΗΒsΑg με ανάπτυξη αντι-ΗΒsΑg, το φαινόμενο αυτό συνοδεύεται από πλήρη εξαφάνιση της ιαμίας και πιθανή ίαση (αναφέρεται ότι παραμένει σχεδόν πάντα υπολειμματικός ιός στο ηπατικό παρέγχυμα).

Οι ασθενείς που ανταποκρίνονται καλύτερα στην IFN-α είναι αυτοί που έχουν χαμηλά επίπεδα HBV-DNA στον ορό (< 200 pg/ml), αμινοτρανσφεράσες > 2X ΑΦΤ (ανώτερη φυσιολογική τιμή), θήλυ φύλο, μικρό χρονικό διάστημα από την αρχική προσβολή, επάρκεια ανοσιακών μηχανισμών και καλά αντιροπούμενη ηπατική νόσο.

Ιντερφερόνη α-θεραπεία χρόνιας ΗΒεΑg-αρνητικής ηπατίτιδας Β

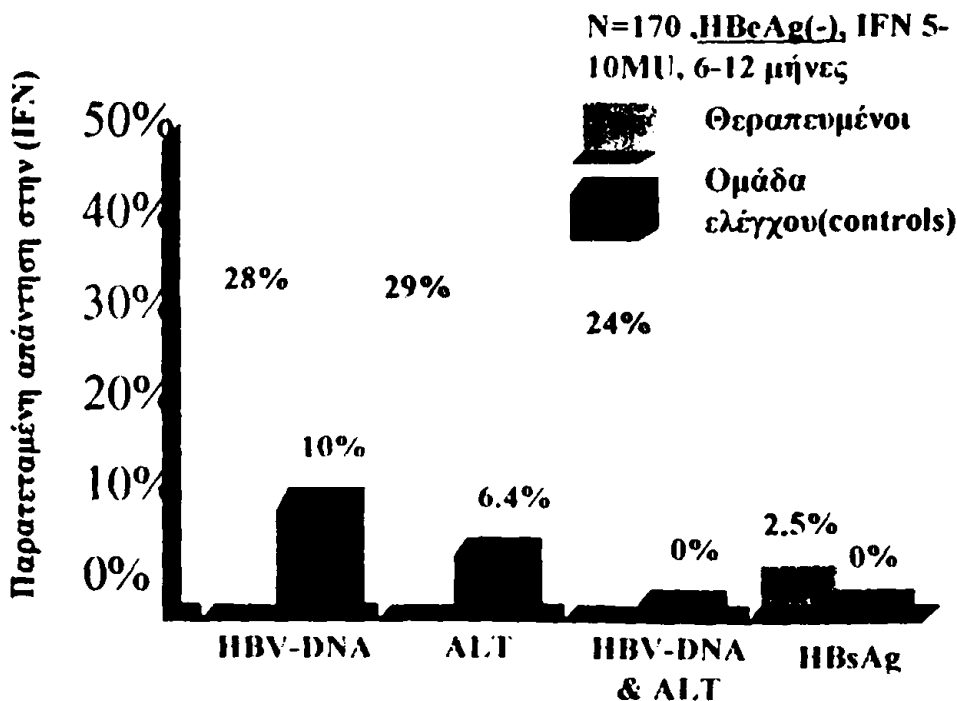
Έχουν δημοσιευθεί περίπου 18 μελέτες με χορήγηση ιντερφερόνης α, σε ασθενείς με χρόνια ΗΒεΑg-αρνητική ηπατίτιδα Β: 4 τυχαιοποιημένες με ομάδες ελέγχου (86 έλαβαν θεραπεία και 84 δεν έλαβαν θεραπεία), 2 μελέτες με τυχαιά χορήγηση διαφορετικών σχημάτων ιντερφερόνης (110 ασθενείς), 3 μελέτες με



τυχαιοποίηση σε διαφορετικούς παράγοντες (45 ασθενείς) και 9 observational μελέτες (702 ασθενείς). Αποτελέσματα από τις 4 τυχαιοποιημένες μελέτες (με ομάδα ελέγχου) φαίνονται στην εικόνα 11[439-442]. Στο τέλος της θεραπείας η απάντηση στην ιντερφερόνη παρουσίαζε ένα εύρος από 38%-90% σε αυτούς που έλαβαν θεραπεία συγκριτικά με 0%-37% σε εκείνους που δεν έλαβαν θεραπεία. Ειδικά το ποσοστό παρατεταμένης 12μηνιαίας ανταπόκρισης παρουσίαζε διακύμανση από 10%-47%(μέσος όρος 24%) σε αυτούς που έλαβαν θεραπεία συγκριτικά με 0% σε αυτούς που δεν έλαβαν θεραπεία. Οι προγνωστικοί παράγοντες για παρατεταμένη ανταπόκριση δεν είναι ξεκάθαροι όπως είναι στην χρόνια ΗΒε Αg θετική ηπατίτιδα. Η δόση της ιντερφερόνης έχει μικρό αποτέλεσμα, αλλά η διάρκεια της θεραπείας (12 συγκριτικά με 5-6 μήνες θεραπεία) σχετίζεται με διπλασιασμό του ποσοστού παρατεταμένης ανταπόκρισης[443]. Πρώιμη ελάττωση του επιπέδου της ALT στο φυσιολογικό σχετίζεται με υψηλότερο ποσοστό παρατεταμένης ανταπόκρισης.

Η μελέτη μας ανέδειξε πλήρη ανταπόκριση στους 6 μήνες σε 24 ασθενείς(30%) και μη ανταπόκριση σε 51(65%) ενώ στους 12 μήνες 35(44%) και 39(50%) αντίστοιχα ($p=0.05$). Η ανάλυση έδειξε ότι η αύξηση του αριθμού παρατηρήσεων θα κατοχυρώσει στατιστικά πιο ισχυρά την ανάγκη χορήγησης 12μηνιαίας θεραπείας σε όλους τους ασθενείς. Η παρατεταμένη ανταπόκριση βρέθηκε σε ποσοστό 35%(18 μήνες) και διατηρήθηκε στο 32%(24 μήνες) όπως καταγράφεται και στη διεθνή βιβλιογραφία από το σύνολο των μελετών. 4 ασθενείς (5%) παρουσίασαν αντισώματα anti-HBsAg στο τέλος της παρακολούθησης.

Ένα σπουδαίο θέμα στη θεραπεία της ΗΒε Αg αρνητικής ηπατίτιδας Β είναι η αντοχή της απάντησης. Σε μακροχρόνια παρακολούθηση ασθενών που έλαβαν θεραπεία η παρατεταμένη απάντηση μειώνεται από 41% ύστερα από 6 μήνες σε 22% στα 2-5 χρόνια[444]. Ένα ποσοστό από τους ασθενείς που παρουσιάζουν παρατεταμένη ανταπόκριση θα αρνητικοποιήσουν το HBsAg (15%-32%).

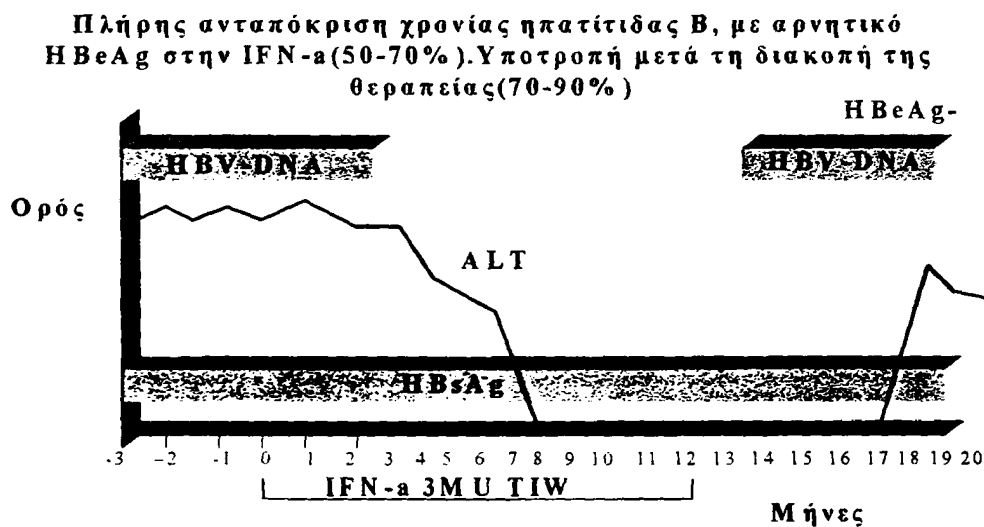


Εικόνα 21. Ποσοστά ανταπόκρισης (αρνητικοποίηση του HBV-DNA, φυσιολογικοποίηση της ALT, συνδυασμός των προηγούμενων, ή απώλεια του HBsAg) σε 6-12 μήνες παρακολούθησης και χορήγησης ιντερφερόνης σε ασθενείς με ΗΒεΑg αρνητική χρόνια ηπατίτιδα Β. Συγκεντρωτικά αποτελέσματα από 4 τυχαιοποιημένες (με ομάδα ελέγχου) μελέτες[439-442].



Μελέτες με μακροχρόνια παρακολούθηση έδειξαν ότι η παρατεταμένη ανταπόκριση ήτο σχετιζόμενη με χαμηλότερο ποσοστό θανάτου(3,5% έναντι 12,5%) και ΗΚΚ(1,7% έναντι 10%)[445].

Άλλη μελέτη της κλινικής μας , (55 ασθενείς ΗΒεΑg αρνητικοί ασθενείς έλαβαν 4,5ΜU/3 φορές την εβδομάδα ιντερφερόνη-α υποδορίως για διάστημα 12 μηνών), κατέδειξε 75% ποσοστό ανταπόκρισης στους άνδρες και 92,3 % στις γυναίκες[446].



Εικόνα 22. Πλήρης ανταπόκριση χρόνιας ηπατίτιδας Β με αρνητικό ΗΒεΑg, στην IFN-α[438].

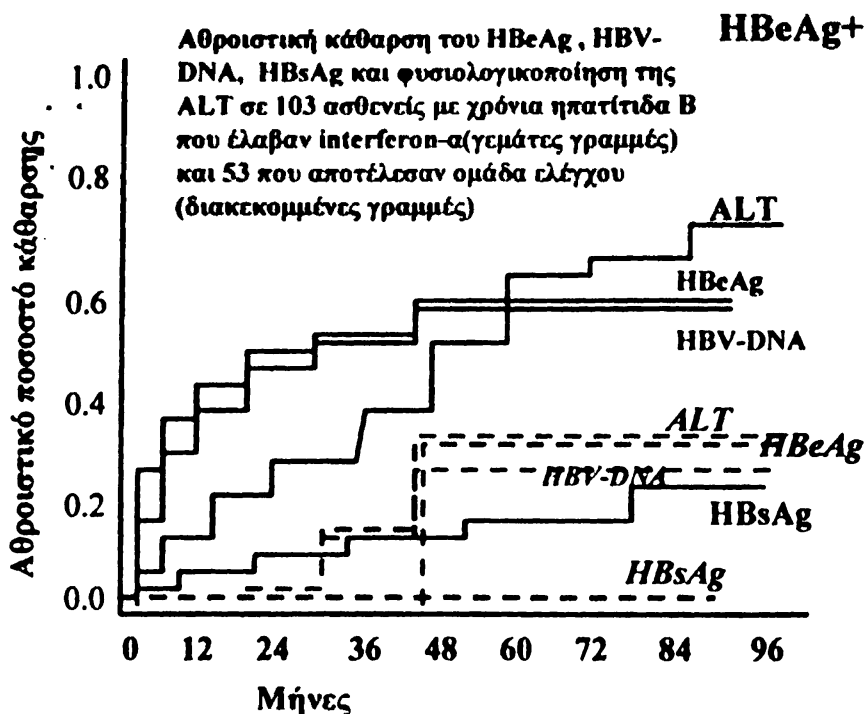
Συνοπτικά μπορούμε να πούμε ότι σε ΗΒεΑg αρνητικούς ασθενείς με σημαντική ιαιμία χορηγείται IFN-α 3-5 ΜU 3 φορές την εβδομάδα για χρονικό διάστημα 6-12 μηνών. Οι ασθενείς αυτοί παρουσιάζουν σημειακή μεταλλαγή στην προπυρηνική περιοχή του γονιδιώματος του ΗΒV, στη θέση 1896 (G₁₈₉₆A) ή σπανιότερα πυρηνικές μεταλλαγές (core promoter mutations A₁₇₆₂T , G₁₇₆₄A). Οι ασθενείς αυτοί ανταποκρίνονται στη θεραπεία με IFN-α ιολογικά και βιοχημικά σε ποσοστό που πολλές φορές φθάνει το 80% χωρίς να παρουσιάζεται το φαινόμενο θεραπευτικής ηπατίτιδας (Εικόνα 22). Όμως , το 70-90% των ασθενών υποτροπιάζει μετά τη διακοπή της θεραπείας μέσα στα 1-2 πρώτα χρόνια της παρακολούθησης. Σε εκείνους που δεν θα υποτροπιάσουν μπορεί να συμβεί κάθαρση του ΗΒV με ανάπτυξη αντι-ΗBs (συμβαίνει στο 10% των ασθενών σε διάστημα 4 ετών)[438].

Η παρούσα μελέτη έδειξε πολύ μικρότερη υποτροπή στον πρώτο χρόνο παρακολούθησης μετά την θεραπεία (10%).

Επίδραση της ιντερφερόνης -α στη φυσική ιστορία της χρόνιας ηπατίτιδας Β.

Το επίτευγμα της θεραπείας έναντι της ηπατίτιδας Β είναι η πρόληψη της κίρρωσης και των επιπλοκών της. Στην κλασική πλέον μελέτη του Niederau et al[447].

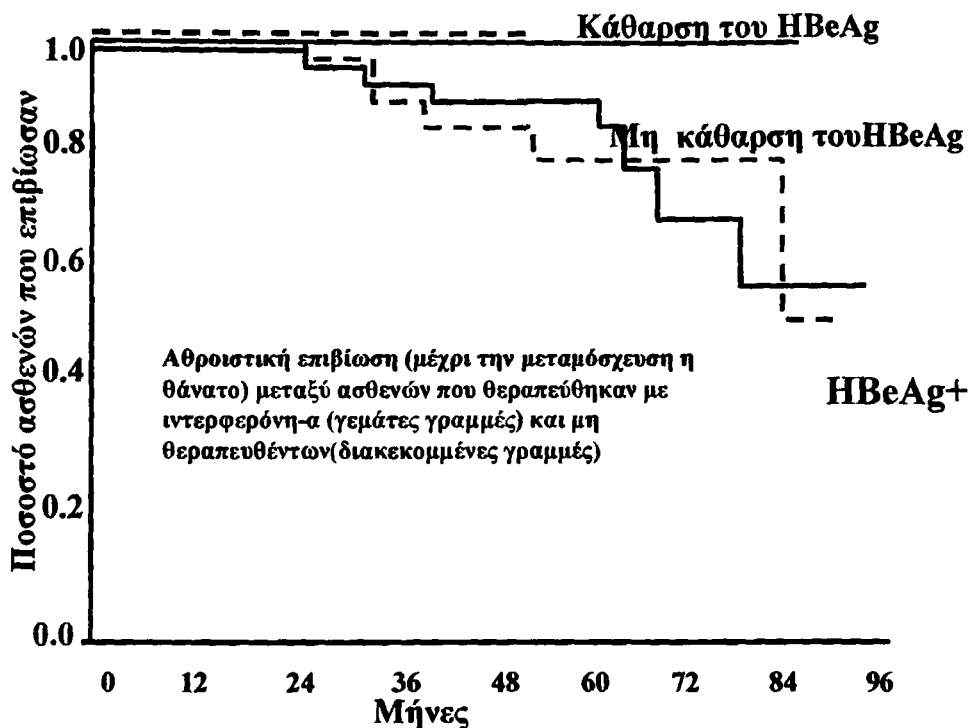




Εικόνα 23. Αθροιστική κάθαρση του HBeAg, HBsAg και φυσιολογικοποίηση της ALT σε 103 ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα Β που έλαβαν ιντερφερόνη-α(γεμάτες γραμμές) και 53 που ήταν η ομάδα ελέγχου(διακεκομμένες γραμμές)[447]

εκτιμήθηκε εκτός των κλασσικών δεικτών ιολογικής ανταπόκρισης (εικόνα 23) και η αθροιστική επιβίωση, μέχρι το χρονικό διάστημα της μεταμόσχευσης ή του συμβάματος του θανάτου, μεταξύ ασθενών που θεραπεύτηκαν με ιντερφερόνη-α και αυτών που δεν έλαβαν θεραπεία(εικόνα 24). Η επιβίωση ήτο μακρύτερη μεταξύ των ασθενών που το HBeAg εξαφανίστηκε μετά από θεραπεία συγκριτικά με εκείνους που δεν παρουσίασαν κάθαρση του HBeAg ($p=0.004$).

Στην διάρκεια της μακροχρόνιας παρακολούθησης των ασθενών (6 συνολικά έτη- 5 έτη μετά την ολοκλήρωση της θεραπείας) η αναζήτηση των ασθενών ανέδειξε 7(8.8%) ασθενείς με ΗΚΚ και 5(6%) ασθενείς που επεβίωσαν από επιπλοκές της χρόνιας HBV λοίμωξης (3 κίρσορραγία και 2 ηπατική εγκεφαλοπάθεια). Και οι 12 ασθενείς ανήκαν στην κατηγορία της μη ανταπόκρισης στη θεραπεία. Η σύγκριση της επιβίωσης (6 έτη συνολικά) των ασθενών που ανταποκρίθηκαν στη θεραπεία με τους ασθενείς που δεν ανταποκρίθηκαν ανέδειξε πολύ σημαντική διαφορά(Chi-Square test, $p=0.0020$).

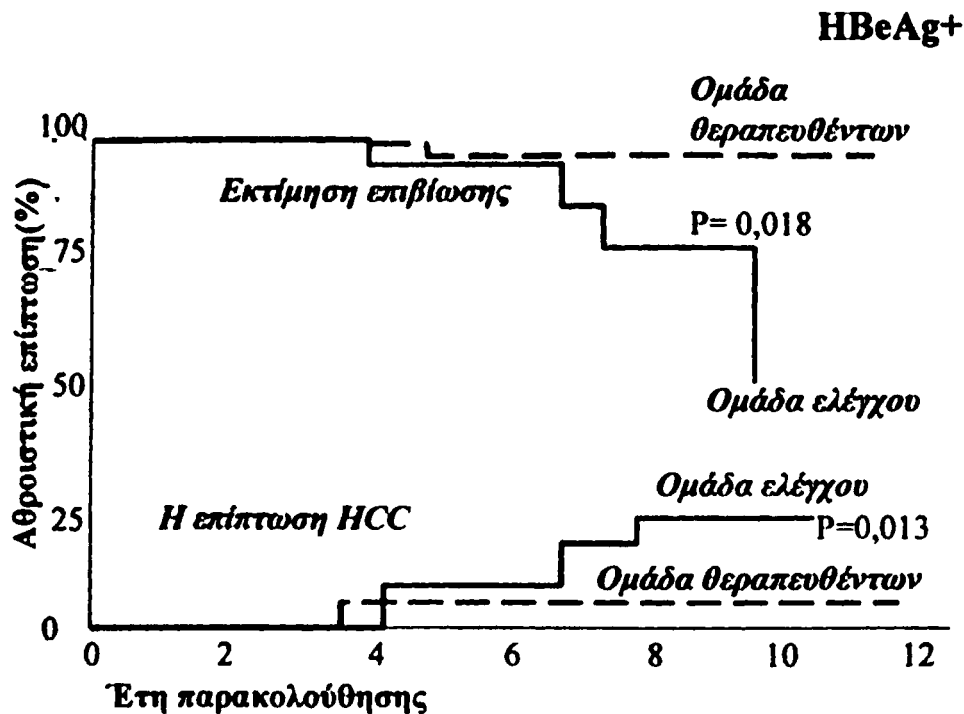


Εικόνα 24. Αθροιστική επιβίωση (μέχρι τη μεταμόσχευση ή θάνατο) μεταξύ ασθενών που έλαβαν θεραπεία με ιντερφερόνη-α(γεμάτες γραμμές) και ασθενών που δεν πήραν θεραπεία(διακεκομμένες γραμμές)[447].

Σε σημαντική μελέτη του Lin et al[448]. Από την Ταϊβάν συγκρίθηκαν τα δεδομένα από 67 ασθενείς που έλαβαν ιντερφερόνη -α(HBeAg θετικοί) με 37 που αποτέλεσαν την ομάδα ελέγχου, οι οποίοι παρακολούθηθηκαν για περίοδο 1-11 χρόνια. Το ποσοστό απώλειας του HBeAg ήταν σημαντικό τον πρώτο χρόνο(42% έναντι 24%) αλλά οριακά διαφορετικό μεταξύ των δύο ομάδων ύστερα από 4 χρόνια ($P=0.49$). Κανένας ασθενής δεν αρνητικοποίησε το HBsAg. Κατά τη χρονική διάρκεια παρακολούθησης (περίοδος 7 ετών) ΗΚΚ αναπτύχθηκε σε 4 ασθενείς από την ομάδα ελέγχου αλλά μόνο σε 1 από την ομάδα που έλαβε θεραπεία . Και οι 5 ασθενείς με ΗΚΚ ήτο HBeAg θετικοί και όλοι πέθαναν σε διάστημα 3 ετών από τη διάγνωση. Κίρρωση διαγνώσθηκε στο 13% των ασθενών, που έλαβαν θεραπεία και σε ποσοστό 17% αυτών που δεν έλαβαν θεραπεία, αλλά κανείς ασθενής δεν απεβίωσε από τελικό στάδιο ηπατικής νόσου. Τα ευρήματα αυτά μας οδηγούν στη διαπίστωση ότι, η θεραπεία με ιντερφερόνη-α έχει ευνοϊκή επίδραση στην εξέλιξη και φυσική ιστορία της χρόνιας ηπατίτιδας Β και ειδικότερα στην πρόληψη του ΗΚΚ.

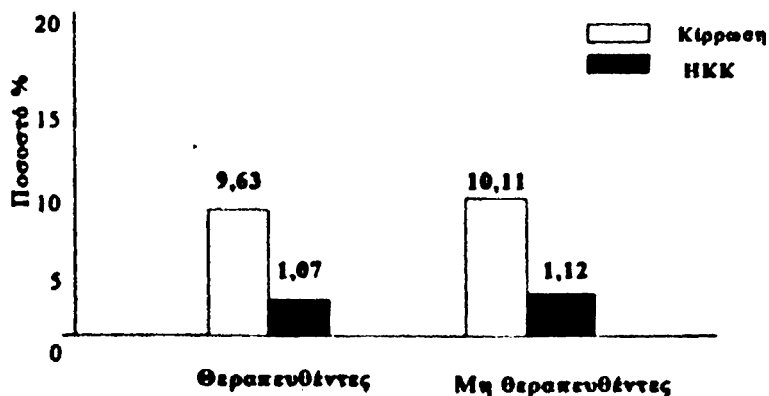
Σε όλες τις μελέτες που μελετήθηκε η μακροχρόνια ανταπόκριση στην ιντερφερόνη-α , η βελτίωση της επιβίωσης σχετιζόταν θετικά με την νεαρά ηλικία , απουσία κίρρωσης και ανταπόκριση ιολογική στη θεραπεία(απώλεια του HBeAg ,HBV-DNA και βιοχημική βελτίωση).





Εικόνα 25.Αθροιστική εκτίμηση επιβίωσης και επίπτωσης ΗΚΚ σε 67 ασθενείς που έλαβαν ιντερφερόνη-α έναντι 37 ασθενών της ομάδας ελέγχου[448].

Ωστόσο στην αντιρροπούμενη HBsAg(+) κίρρωση δεν παρατηρείται καμιά σημαντική διαφορά στην επίπτωση του ΗΚΚ μεταξύ των θεραπευθέντων και μη θεραπευθέντων ασθενών. Υπάρχουν μελέτες όπως των Mazella et al στην Ιταλία και πρόσφατη σύντομη ανακοίνωση από την Ιαπωνία. Μάλιστα σε μια μετανάλυση των μακροπρόθεσμων αποτελεσμάτων της θεραπείας με ιντερφερόνη σε 300 ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα Β από 3 πολυκεντρικές τυχαίοποιημένες μελέτες, δεν παρατηρήθηκε κανένα ευεργετικό αποτέλεσμα ούτε στην εξέλιξη της νόσου, συμπεριλαμβανομένου και του ΗΚΚ, ούτε στην επιβίωση.



Μετανάλυση από 3 τυχαίοποιημένες μελέτες των μακροπρόθεσμων αποτελεσμάτων της θεραπείας με ιντερφερόνη.



Στη μελέτη της Διεθνούς Ομάδας Εργασίας για τον ΗΚΚ και την ιντερφερόνη, παρατηρήθηκε η ίδια συχνότητα ανάπτυξης ΗΚΚ μεταξύ των θεραπευθέντων και των μη θεραπευθέντων της ομάδας αναφοράς (8/49 ή 16% έναντι 18/97 ή 18%). Εξάλλου στην ομάδα των anti-HCV (+) ασθενών η συνύπαρξη αντισώματος έναντι του πυρήνα του HBV (anti-HBc), ένδειξη έκθεσης στον HBV εξουδετέρωνε το κέρδος από την ιντερφερόνη όσον αφορά τη συχνότητα ανάπτυξης ΗΚΚ, αυξάνοντας το σχετικό κίνδυνο στα ίδια επίπεδα, όπως και στην ομάδα των HBsAg(+) ασθενών. Αυτά τα σημαντικά ευρήματα είναι συμβατά με διαφορετικούς μηχανισμούς καρκινογένεσης μεταξύ χρόνιας ηπατίτιδας Β και C. Με τον τρόπο αυτό ενισχύεται μια άποψη που έχει εκφραστεί στο παρελθόν, ότι η ενσωμάτωση του ιού Β στο γονιδίωμα του ξενιστή, γεγονός που μπορεί να συμβεί νωρίς στην πορεία της χρόνιας ηπατίτιδας Β, ενοχοποιείται σε μεγάλο βαθμό για την ηπατοκαρκινογένεση, ανεξάρτητα από την παρουσία ή όχι κίρρωσης.

Πέρα από τις αμφιβολίες που υπάρχουν σχετικά με τους μηχανισμούς ηπατοκαρκινογένεσης από τον HBV, η αιτιολογική σχέση μεταξύ του ιού της ηπατίτιδας Β και του ΗΚΚ είναι αναμφισβήτητη. Η ύπαρξη anti-HBc(+) ακόμη και anti-HBs, ευρήματα που αντανακλούν έκθεση στον ιό, μπορεί να συνοδεύονται από ενσωμάτωση ακολουθιών του HBV-DNA στο γονιδίωμα του ξενιστή και συνακόλουθη αύξηση του κινδύνου ανάπτυξης ΗΚΚ.

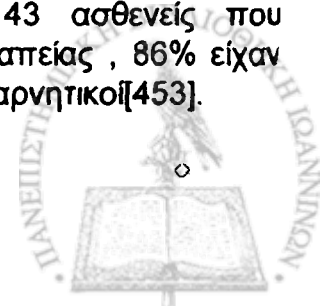
Σύγχρονες εξελίξεις στην θεραπεία της χρόνιας ηπατίτιδας Β

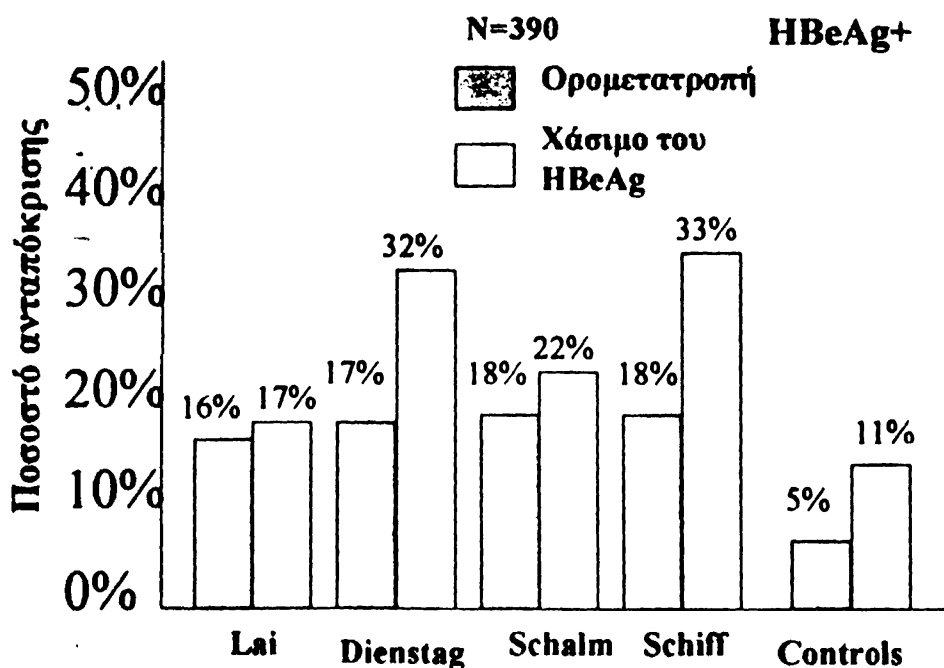
Λαμβιβουντίνη -θεραπεία της HbeAg θετικής χρόνιας ηπατίτιδας Β.

Η λαμβιβουντίνη (Lamivudine, 2'3' dideoxycytidine, 3TC) είναι 5' τριφωσφορυλιωμένο 2'3' διδεοξυ-νουκλεοσιδικό ανάλογο της πυριμιδίνης κυτοσίνης. Χρησιμοποιείται από το 1995 στην HIV λοίμωξη γιατί παρουσιάζει συνεργική δράση με την αζιδοθυμιδίνη (AZT).

Μακροχρόνια χορήγηση θεραπείας με λαμβιβουντίνη (100 mg/ημέρα per os) για 52 εβδομάδες, εκτιμήθηκε σε 4 μεγάλες πολυκεντρικές τυχαιοποιημένες (με ομάδα ελέγχου)[449-452] (εικόνα 26). Και στις 4 μελέτες φάνηκε μια αύξηση του ποσοστού ορομετατροπής με τη χρήση της λαμβιβουντίνης. Επίσης η θεραπεία συσχετίστηκε με ελάττωση της πιθανότητας ανάπτυξης κίρρωσης (7% στους 99 ασθενείς της ομάδας ελέγχου και μόνο 2% στους 219 ασθενείς που έλαβαν θεραπεία). Η λαμβιβουντίνη δεν εμφάνισε άξιες λόγου παρενέργειες. Οι προγνωστικοί παράγοντες καλής ανταπόκρισης στη θεραπεία είναι παρόμοιοι με εκείνους που αναφέραμε για την ιντερφερόνη-α. Έχουμε καλύτερη ανταπόκριση όταν το επίπεδο της ALT είναι τουλάχιστον 2ΧΑΦΤ κατά την έναρξη της θεραπείας.

Σημαντικό θέμα στη θεραπεία με λαμβιβουντίνη συνιστά η ανθεκτικότητα στην ανταπόκριση. Οι ασθενείς που δεν γίνονται HBeAg αρνητικοί κατά τη διάρκεια της θεραπείας με λαμβιβουντίνη συνήθως υποτροπιάζουν αν γίνει διακοπή της θεραπείας, με παρουσία επιπέδων HBV-DNA και ALT σε τιμές ίδιες με αυτές προ της θεραπείας. Η αντοχή-διάρκεια της ανταπόκρισης σε ασθενείς που καθάρισαν το HBeAg (με ή χωρίς ορομετατροπή σε anti-HBe) με τη βοήθεια της λαμβιβουντίνης είναι άλλο σπουδαίο θέμα. Σε μελέτη που περιέλαβε 43 ασθενείς που αρνητικοποίησαν το HBeAg 3 μήνες μετά τη διακοπή της θεραπείας, 86% είχαν αντοχή στην απώλεια του HBeAg και 26% επίσης έγιναν HBsAg αρνητικοί[453].





Ένα έτος με λαμβιβουντίνη σε 4 μελέτες

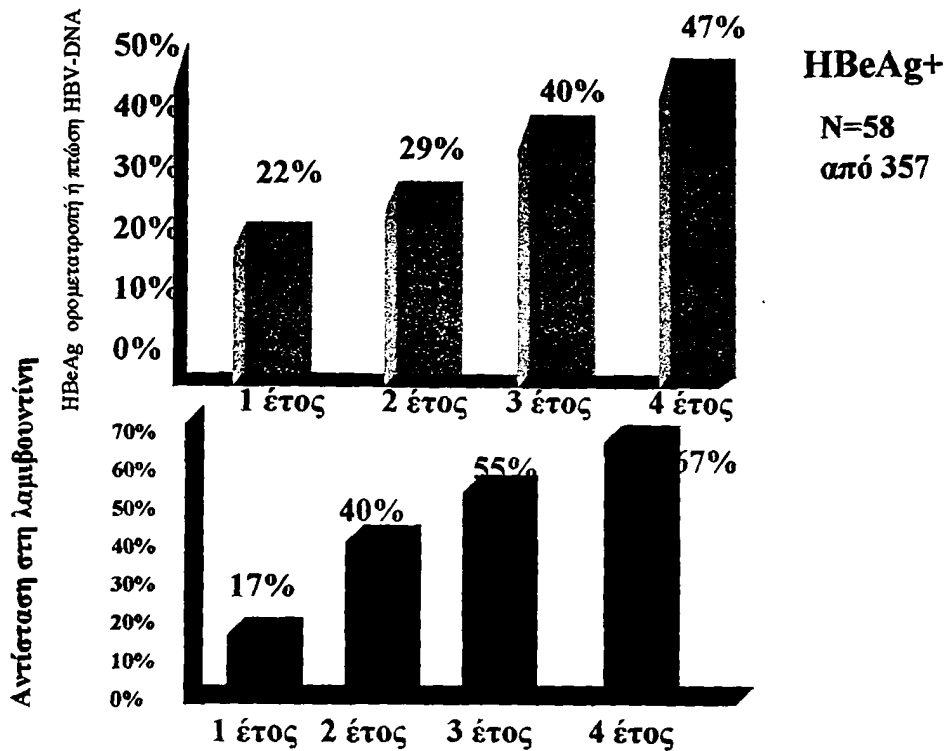
Εικόνα 26. Ποσοστό ανταπόκρισης (ορομετατροπή ή απώλεια του HBeAg) μετά από 1 έτος χορήγησης λαμβιβουδίνης σε 4 μελέτες [449-452].

Μη δημοσιευμένα δεδομένα και μελέτες μη διασταυρούμενες δείχνουν ότι το ποσοστό υποτροπής είναι υψηλό (50%) ύστερα από απώλεια του HBeAg. Χρειάζονται περαιτέρω καλά σχεδιασμένες μελέτες για την εκτίμηση ασθενών που καθάρισαν το HBeAg με τη θεραπεία.

Μακροχρόνια θεραπεία με λαμβιβουντίνη-σε ασθενείς με HbeAg θετική χρόνια ηπατίτιδα Β.

Σε μεγάλη πολυκεντρική μελέτη από την Ασία[454], 58 ασθενείς από 357 συνέχισαν μακροχρόνια θεραπεία με λαμβιβουντίνη σε δοσολογία 100 mg την ημέρα. Τα ποσοστά ορομετατροπής αλλά και η ετήσια αντοχή στη θεραπεία με την ανάπτυξη ανθεκτικών στελεχών καταγράφονται σχηματικά στην εικόνα 17. Ορομετατροπή με αρνητικοποίηση του HBV-DNA καταγράφηκε στο 22% των ασθενών το πρώτο έτος, 29% το δεύτερο, 40% το τρίτο και 47% το τέταρτο έτος. Η αντίσταση στη λαμβιβουντίνη ήταν αντίστοιχα 17%, 40%, 55% και 67% το τέταρτο έτος. Γενικά παρατηρήθηκε ότι οι ασθενείς που παρουσίασαν αντίσταση στην λαμβιβουντίνη είχαν υψηλότερα επίπεδα ALT και HBV-DNA συγκριτικά με αυτούς που δεν παρουσίασαν αντίσταση, όμως και στις δύο κατηγορίες τα βιοχημικά και ιολογικά επίπεδα ήταν χαμηλότερα συγκριτικά με τα επίπεδα προ θεραπείας. Μερικοί ασθενείς που εμφάνισαν αντίσταση στη λαμβιβουντίνη στη συνέχεια είχαν παρουσιάσει ορομετατροπή και βελτίωση του επιπέδου της ALT. Οι 39 ασθενείς που παρουσίασαν αντίσταση στη λαμβιβουντίνη, 33% στη συνέχεια έγιναν HBeAg αρνητικοί και 59% είχαν φυσιολογικά επίπεδα ALT στο χρόνο της τελευταίας εξέτασης.





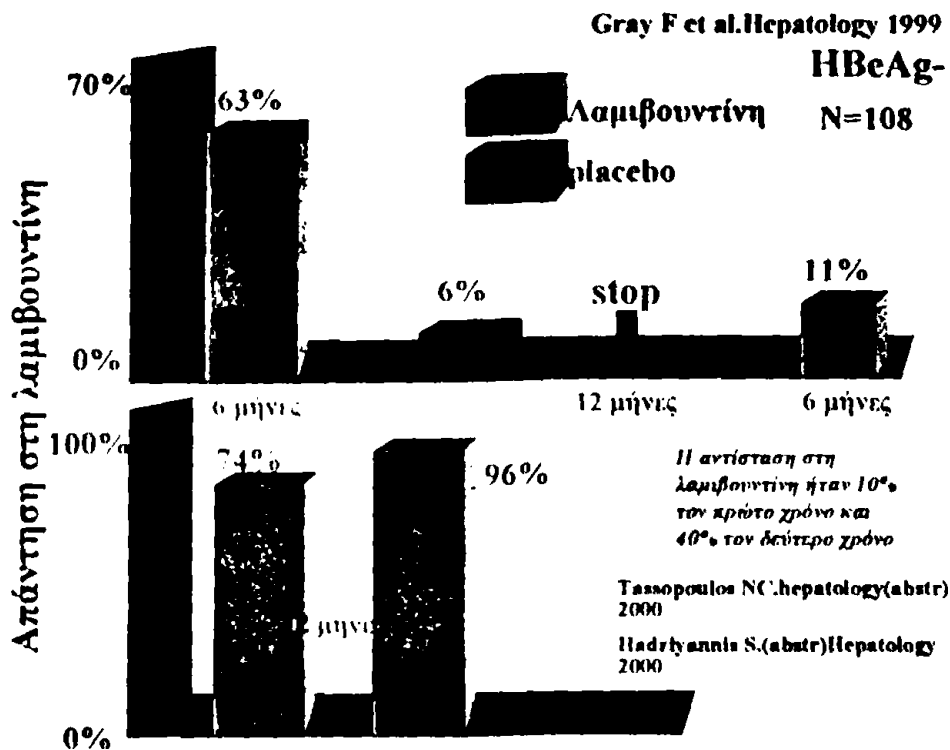
Εικόνα 27. Πολυκεντρική Ασιατική μελέτη .Καταγραφή δεδομένων σε 58 ασθενείς από 357 που έλαβαν μακροχρόνια θεραπεία με λαμβουβίνη[454].

Τα δεδομένα αυτά υποδηλώνουν ότι μακροχρόνια θεραπεία με λαμβουβίνη μπορεί να έχει καλό αποτέλεσμα ανεξάρτητα από την ανάπτυξη αντοχής-αντίστασης σε ασθενείς που δεν απώλεσαν το HBeAg κατά τη διάρκεια της θεραπείας.

Λαμβουβίνη -θεραπεία της HBeAg αρνητικής χρόνιας ηπατίτιδας B

Σε μελέτη από την Ευρώπη και τον Καναδά[455] 108 ασθενείς με HBeAg αρνητική χρόνια ηπατίτιδα B τυχαιοποιήθηκαν και έλαβαν placebo η λαμβουβίνη για μια αρχική περίοδο 26 εβδομάδων και μετά συνέχεια με ανοικτή θεραπεία για περίοδο 52 εβδομάδων. Ύστερα από 24 εβδομάδες θεραπείας, 63% από την ομάδα που έλαβε λαμβουβίνη ανταποκρίθηκε στη θεραπεία συγκριτικά με 6% της ομάδας του placebo. Πολλές φορές η υποτροπή είναι συχνή και μόνο 11% των ασθενών που λαμβάνουν θεραπεία είχαν παρατεταμένη ανταπόκριση 24 εβδομάδες μετά το τέλος 12μηνιαίας θεραπείας. Ένας από την ομάδα του placebo αλλά κανένας από την ομάδα της λαμβουβίνης αρνητικοποίησε το HBsAg (εικόνα 28).





Εικόνα 28. Δεδομένα από μελέτες με HBeAg αρνητικούς ασθενείς (άνω μελέτη από τον Καναδά και Ευρώπη και κάτω δύο Ελληνικές μελέτες)[455,457,457]

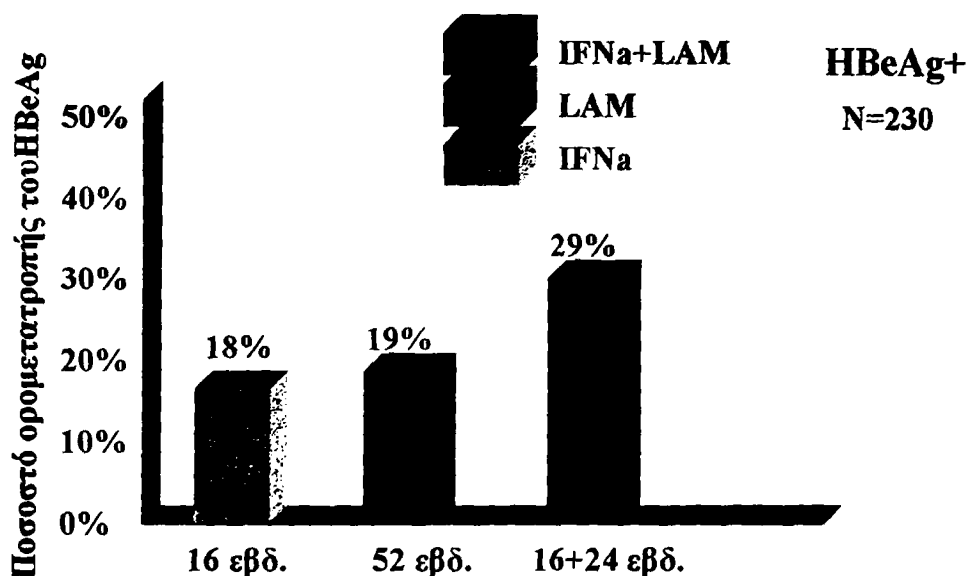
Σε δύο Ελληνικές μελέτες[456,457] υπολογίσθηκε ότι το ποσοστό ανταπόκρισης ήταν 74% και 96% ύστερα από 12μηνιαία θεραπεία με λαμβιβουτίνη. Η αντίσταση στη λαμβιβουτίνη παρουσίαζε αύξηση από 10% τον πρώτο χρόνο σε 40% τον δεύτερο χρόνο. Η ιστολογία του ήπατος βελτιώθηκε στους ασθενείς με παρατεταμένη ανταπόκριση, αλλά μόνο στο ήμισυ των ασθενών με αντίσταση στη λαμβιβουτίνη.

Σε μελέτη της κλινικής μας, χορηγήσαμε σε 30 ασθενείς με HBeAg αρνητική χρόνια ηπατίτιδα Β, λαμβιβουτίνη 100 mg την ημέρα, η ανταπόκριση στη θεραπεία ήταν άμεση (90% των ασθενών) από το πρώτο τρίμηνο, και παρέμεινε μέχρι τον 24^ο μήνα της παρακολούθησης. Δεν παρατηρήσαμε αντίσταση στη λαμβιβουτίνη ή εμφάνιση αξιόλογων παρενεργειών στο δεδομένο χρονικό διάστημα της παρακολούθησης[458].

Συνδυασμένη θεραπεία ιντερφερόνης-α και λαμβιβουτίνης στην χρόνια HBV λοίμωξη

Συνδυασμένη θεραπεία ιντερφερόνης-α και λαμβιβουτίνης μπορεί να προκαλέσει HBeAg ορομετατροπή και υποχώρηση της φλεγμονής σε ένα ποσοστό 20-35% των ασθενών με τυπική χρόνια ηπατίτιδα Β. Εύλογα προκύπτει το ερώτημα, είναι η συνδυασμένη θεραπεία πιο κατάλληλη για αρχική χορήγηση σε αυτούς τους ασθενείς; Σε μια πολυκεντρική μελέτη[451], που περιέλαβε 230 ασθενείς, που δεν είχαν πριν θεραπευθεί με HBeAg θετική χρόνια ηπατίτιδα Β, χορηγήθηκε λαμβιβουτίνη (52 εβδομάδες), ιντερφερόνη-α σε άλλη ομάδα (16 εβδομάδες) σε συνδυασμό με λαμβιβουτίνη (24 εβδομάδες) και ιντερφερόνη-α (16 εβδομάδες) στην τρίτη ομάδα. Στο τέλος της μελέτης (68 εβδομάδες), οι ασθενείς που έλαβαν το συνδυασμό είχαν μεγαλύτερο ποσοστό HBeAg ορομετατροπής (29%) σε σύγκριση με αυτούς που πήραν λαμβιβουτίνη (19%) ή ιντερφερόνη-α μόνο (18%). Η διαφορά αυτή δεν ήταν στατιστικά σημαντική (εικόνα 29). Παρόμοια μη στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα προέκυψαν και από άλλες μελέτες.

Συνδυασμένη θεραπεία ιντερφερόνης-α και λαμβιβουντίνης στην χρόνια HBV



Εικόνα 29. Πολυκεντρική μελέτη-ποσοστά ανταπόκρισης 230 ασθενών (ομάδα που έλαβε ιντερφερόνη-α ή λαμβιβουντίνη μόνο και ομάδα που έλαβε συνδυασμό)[451]

Η αποτελεσματικότητα του συνδυασμού, όπως φάνηκε από τις μελέτες, δεν ήταν ικανοποιητική και συνεργική, μένει να δούμε τώρα την αποτελεσματικότητα του συνδυασμού PEG ιντερφερόνης με λαμβιβουντίνη που ήδη δοκιμάζεται[452].

Αντίσταση στη λαμβιβουντίνη

Θεραπεία της χρόνιας ηπατίτιδας Β με λαμβιβουντίνη οδηγεί σε ελάττωση των επιπέδων του HBV-DNA (περίπου 4-5 logs) και ALT και συνακόλουθα βελτίωση της ιστολογίας του ήπατος[449-452,459]. Μακροχρόνια θεραπεία (πέραν των 12 μηνών) οδηγεί συχνά σε ανάδειξη στελεχών διαφυγής (breakthrough)[460-462], που εκδηλώνεται με επανεμφάνιση της ιαμίας και αύξηση των αμινοτρανφερασών (βέβαια σε επίπεδα χαμηλότερα από την έναρξη της θεραπείας), αλλά χωρίς ιστολογική επιβάρυνση όπως έδειξε βραχεία παρακολούθηση. Πολύ σπάνια η ανάδυση στελέχους διαφυγής μπορεί να συνοδεύεται από εκδήλωση οξείας ηπατοκυτταρικής βλάβης. Το φαινόμενο της διαφυγής αρχικά είχε παρατηρηθεί σε ασθενείς με HIV λοίμωξη που ελάμβαναν θεραπεία με λαμβιβουντίνη. Το φαινόμενο έχει αποδοθεί στην εμφάνιση μεταλλαγών στην περιοχή C της πολυμεράσης του HBV στο κωδικόνιο YMDD (τυροσίνη-μεθειονίνη-ασπαρτικό-ασπαρτικό)[463] (Εικόνα 30).



Μεταλλαγές στο μοτίβο YMDD της περιοχής C της πολυμεράσης κατά τη διάρκεια θεραπείας με λαμβουντίνη

Αμινοξέα

FLLAQFTSATCSVRRRAFPFHCLAFSYMDDVV

↓ Κωδικόνιο 528 Κωδικόνιο 552 ↓
 I σε M M σε V

FLMAQFTSATCSVRRRAFPFHCLAFSYVDDVV

M σε I ↓

FLLAQFTSATCSVRRRAFPFHCLAFSYIDDVV

Υ=τυροσίνη, M=μεθειονίνη, D=ασπαρτικό, L=λευκίνη, I=ισολευκίνη, V=βαλίνη

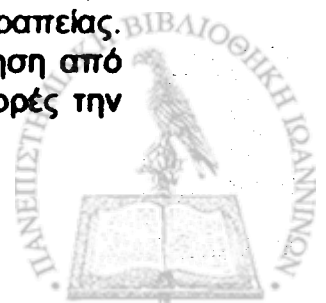
Εικόνα 30. Μεταλλαγές στο μοτίβο YMDD της περιοχής C της πολυμεράσης κατά τη διάρκεια θεραπείας με λαμβουντίνη

Η εμφάνιση του φαινομένου διαφυγής είναι απώτερη (συνήθως μετά το βμηνο), στο 50% των ασθενών στον τρίτο χρόνο της θεραπείας και είναι συχνότερη σε ανοσοκατασταλμένους ασθενείς, λόγω εντόνου πολλαπλασιασμού του ιού. Αν παρόλα αυτά εμφανιστεί διαφυγή, δόκιμο είναι να συνεχιστεί η αγωγή με λαμβουντίνη και να προστεθεί άλλο αντιικό φάρμακο (αδεφοβίρη ή γανσικλοβίρη).

Άλλες και νεώτερες μορφές νουκλεοσιδικών αναλόγων.

Η φαμισκλοβίρη[464,465](με τον δραστικό της μεταβολίτη την πενσικλοβίρη), που είναι ανάλογο της γουανοσίνης, χρησιμοποιήθηκε στη χρόνια ηπατίτιδα Β παρουσιάζοντας το πλεονέκτημα της αναστολής (όχι εξαφάνιση του υπερελικωμένου cccDNA), που δεν παρουσιάζουν τα άλλα νουκλεοσιδικά ανάλογα. Όμως μεγάλη πολυκεντρική μελέτη έδειξε παρόμοια αποτελέσματα με το placebo σε ΗΒεΑg θετικούς ασθενείς. Εξάλλου διαπιστώθηκε σημαντική ιστολογική βελτίωση. Η δόση της είναι 250-750mg, 3 φορές την ημέρα. Η χρήση της μελετάται σήμερα μόνο σε συνδυασμό με άλλες ουσίες.

Η γανσικλοβίρη[466] (2'-deoxyguanosine) είναι νουκλεοσιδικό ανάλογο της πουρίνης γουανοσίνης. Χορηγείται ενδοφλεβίως σε δόση 7,5-10 mg/kg/ημέρα, ενώ η χορήγηση από το στόμα παρουσιάζει πολύ μικρή βιοδιαθεσιμότητα (6-9%). Έχει χρόνο ημζωής 2,9 ώρες. Το μεγαλύτερο ποσοστό των ασθενών υποτροπίασε μετά την διακοπή της θεραπείας. Παρουσιάζει ήπια μυελοτοξικότητα, ενώ αυτή περιορίζεται σε χορήγηση από το στόμα σε δόση 3-6 gr/ημέρα (1 χάπι=250 mg) τουλάχιστον 4 φορές την ημέρα.



Η αδεφοβίρη[467,468](adefovir dipivoxil) είναι νεώτερο νουκλεοτιδικό παράγωγο αδενίνης . Είναι δραστικό έναντι του HBV δόση 60 ή 120 mg , ενώ η νεφροτοξικότητα μπορεί να αποτελέσει ανασταλτικό παράγοντα για μακροχρόνια χορήγηση. Το σημαντικό είναι ότι είναι δραστική και έναντι μεταλλαγμένων στελεχών που αναδύονται κατά τη διάρκεια της θεραπείας με λαμβιβουντίνη.

Η κοβιρασίλη[469] (coviracil, emtricitabine FTC) και η κλεβουδίνη[470] (clevudine-L-FMAU) που είναι νεώτερα νουκλεοσιδικά δοκιμάζονται ήδη και αναμένονται τα επίσημα αποτελέσματα.

Συνδυασμός νουκλεοσιδικών αναλόγων στην χρόνια ηπατίτιδα Β

Ο συνδυασμός λαμβιβουντίνης –φαμισκλοβίρης έχει in vitro συνεργική δράση. Μικρή πιλοτική μελέτη έδειξε ότι ο συνδυασμός παρουσιάζει μεγαλύτερη αναστολή του ιού σε σύγκριση με μονοθεραπεία με λαμβιβουντίνη[471]. Προσοχή όμως γιατί αυτός ο συνδυασμός πιθανώς δεν είναι αποτελεσματικός για την πρόληψη εμφάνισης μεταλλάξεων, καθότι η φαμισκλοβίρη δεν επιδρά στις YMDD μεταλλάξεις από τη λαμβιβουντίνη.

Θεραπευτικές εξελίξεις στην χρόνια ηπατίτιδα Β

Αντιικά νουκλεοσιδία [472] (B-L-2'-deoxynucleosides-B-L-thymidine, B-L-2'-deoxycytidine, B-L-2'-deoxyadenosine)ειδικά για τον ιό HBV δοκιμάζονται ήδη σε πειραματικά μοντέλα με αρχικά ενθαρρυντικά αποτελέσματα.

Η κυτταροκίνη , ιντερλευκίνη 12 (IL-12)[473] δοκιμάστηκε σε πιλοτική μελέτη σε 46 ασθενείς ΗBeAg θετικούς , στους οποίους χορηγήθηκε προοδευτικά αυξανόμενη δόση ιντερλευκίνης 12 για 12 εβδομάδες (0,03-0,25 και 0,5μg). Στο τέλος της παρακολούθησης το 16% των ασθενών που έλαβαν 0,25 και 0,5μg (αλλά κανείς από αυτούς που έλαβαν 0,03 μg) παρουσίασαν ΗBeAg ορομετατροπή. Περισσότερες μελέτες χρειάζονται για την εκτίμηση της αποτελεσματικότητας και ασφάλειας της ιντερλευκίνης 12.

Η θυμοσίνη[474] ένα πεπτίδιο που διεγείρει την λειτουργία των T κυττάρων δοκιμάστηκε στη θεραπεία της χρόνιας ηπατίτιδας Β αλλά τα αποτελέσματα είναι αντικρουόμενα. Κλινικές μελέτες χορήγησης θυμοσίνης για 6 και 12 μηνες έδειξαν ποσοστό ορομετατροπής 27% και 41% αντίστοιχα σε σύγκριση με 9% στην ομάδα ελέγχου. Συνδυασμοί θυμοσίνης και ιντερφερόνης-α ή θυμοσίνης και νουκλεοσιδικών αναλόγων δεν έχουν ακόμη εκτιμηθεί.

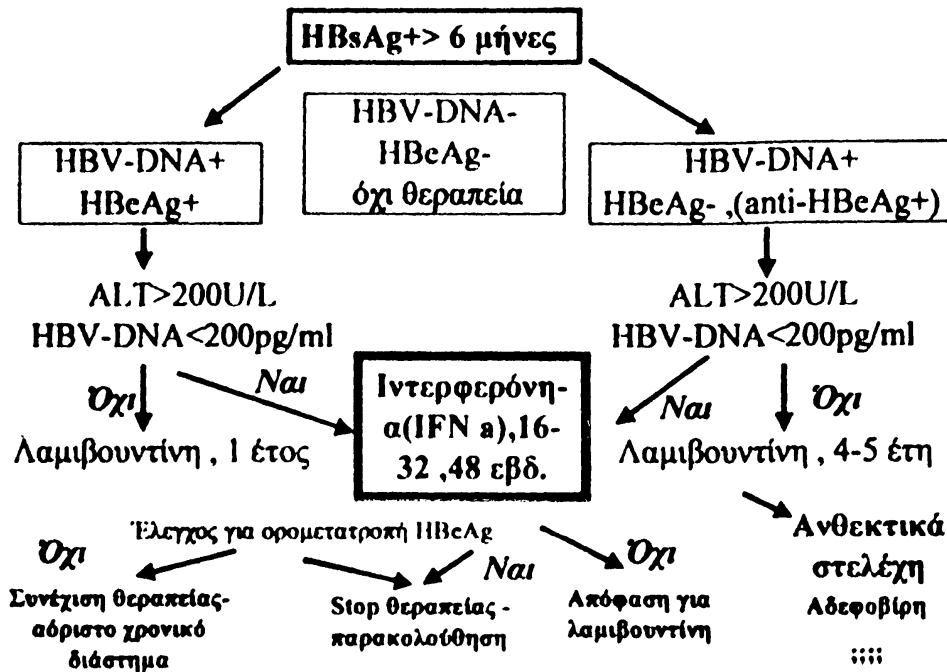
Θεραπευτικό εμβόλιο (το οποίο διεγείρει την T κυτταρική απάντηση) μπορεί να προστατέψει από την χρόνια ηπατίτιδα Β. Εμβόλια με αντιγόνα pre-S2/S , pre S1/S2/S, CpG DNA (συνθετικό ολιγονουκλεοτιδίο με ισχυρή διέγερση TH1 απάντηση) και εμβόλιο επιτόπου του ΗBcAg δοκιμάζονται σε πιλοτικές μελέτες πολλά υποσχόμενες[475-477].

Μοριακή προσέγγιση με τη χρήση μη ομόλογων ολιγονουκλεοτιδίων και ριβισωμάτων(antisense oligonucleotides, ribozymes) τα οποία ενσωματώνονται σε θέσεις του HBV-DNA και προγονιδιακού m RNA και διακόπτουν την μετάφραση , είχαν in vitro υποσχόμενα αποτελέσματα[478,479].



Θεραπευτικός αλγόριθμος της χρόνιας ηπατίτιδας Β

Η σωρευμένη εμπειρία από την διεθνή πλούσια βιβλιογραφία και η προσωπική ενασχόληση για πολλά έτη με τις ιογενείς ηπατοπάθειες μας εφοδιάζει με την δυνατότητα να προτείνουμε θεραπευτικό αλγόριθμο στη διαχείριση της χρόνιας ηπατίτιδας Β[480] (Εικόνα 31).



Εικόνα 31. Προτεινόμενος αλγόριθμος θεραπείας της χρόνιας ηπατίτιδας Β

Η πρόγνωση ασθενών με συλλοίμωση από τον ιό ηπατίτιδας Δ είναι απογοητευτική. Το 70% οδηγείται σε κίρρωση. Η θεραπεία με ιντερφερόνη-α χαρακτηρίζεται από ψηλό ποσοστό υποτροπών. Απαιτείται εντατική θεραπεία (5 MU καθημερινά ή 10MU τρεις φορές την εβδομάδα) μέχρι την μη ανίχνευση του HBsAg και αυτό γιατί λόγω της καταστολής του HBV από τον HDV, η μέτρηση του HBV-DNA δεν είναι αντιπροσωπευτική της επιτυχίας της θεραπείας[481].

Πρόληψη ηπατίτιδας Β

Η μείωση του αριθμού των ατόμων που παρουσιάζουν αντιγόνο επιφανείας (HBsAg) αποτελεί την κύρια στρατηγική πρόληψης με στόχο τη μελλοντική εξάλειψη της ιογενούς ηπατίτιδας Β. Εκτός των γενικών μέτρων πρόληψης, ο εμβολιασμός θεωρείται σήμερα το κύριο μέτρο για την εξαφάνιση της νόσου. Η δημιουργία εμβολίου με την τεχνική του ανασυνδυασμένου DNA κυρίως σε μύκητες εξασφάλισε την παραγωγή σε ικανές ποσότητες ισχυρού προστατευτικού και χωρίς παρενέργειες εμβολίου.

Σήμερα πάνω από 100 χώρες εφαρμόζουν το μαζικό εμβολιασμό. Στην Ελλάδα από το 1997 άρχισε ο υποχρεωτικός μαζικός εμβολιασμός νεογέννητων ή βρεφών και ο εμβολιασμός παιδιών ηλικίας 11 ετών. Βέβαια



συνιστάται η συνέχιση του εμβολιασμού ενηλίκων που βρίσκονται σε μεγάλο κίνδυνο λοιμώξεως. Επίσης επιβάλλεται ο υποχρεωτικός έλεγχος των εγκύων και η χορήγηση υπεράνοσης γ-σφαιρίνης κατά της ηπατίτιδας Β και έναρξη εμβολιασμού εντός του πρώτου 24ώρου σε νεογέννητα μητέρων φορέων του HBsAg.

Το εμβόλιο δημιουργεί υψηλό τίτλο αντισωμάτων στο 95% τουλάχιστον των εμβολιασθέντων. Τα νέα εμβόλια που μελετώνται που εκτός του S θα περιέχουν και pre/S1/S2 θα βελτιώσει το ποσοστό ανάπτυξης αντισωμάτων μέχρι και 100%.

Τα νέα θεραπευτικά –γονιδιακά εμβόλια που ήδη αναφέραμε στις θεραπευτικές εξελίξεις , θα εξασφαλίσουν καλύτερη χημική και κυτταρική ανοσία[475-477].

Ηπατίτιδα C(HCV)

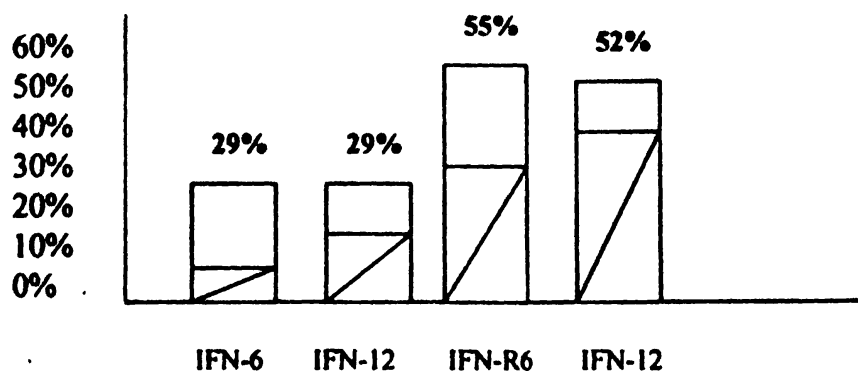
Η ιντερφερόνη α ήταν το πρώτο φάρμακο που χορηγήθηκε με επιτυχία στη χρόνια ηπατίτιδα C. Η μονοθεραπεία με ιντερφερόνη-α και πρόσφατα η συνδυασμένη θεραπεία ιντερφερόνης-α και ριμπαβιρίνης αποτελούν τις μοναδικές θεραπευτικές προσεγγίσεις που ωστόσο απέχουν –όπως αποδεικνύεται από τα ποσοστά μακράς διάρκειας απάντησης στη θεραπεία που αναφέρονται στις διάφορες μελέτες- από τον πραγματικό ιδανικό στόχο της θεραπείας που είναι: η εκρίζωση της HCV λοίμωξης η οποία θα έχει σαν αποτέλεσμα την διακοπή της εξέλιξης προς κίρρωση , ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα και θάνατο.

Στη μελέτη μας βρέθηκε ότι στο 31% των ασθενών είχαμε πλήρη ανταπόκριση στη θεραπεία στους 6 μήνες η οποία έφτασε μέχρι το ποσοστό 71% μετά παράταση της θεραπείας για 12 μήνες($p=0.005$). Όμως ένα σημαντικό ποσοστό 30% ασθενών υποτροπίασε 12 μήνες μετά το πέρας της θεραπείας . Μόνο 59% των ασθενών εξακολουθούσε να παρουσιάζει παρατεταμένη ανταπόκριση 12 μήνες μετά το πέρας της θεραπείας.

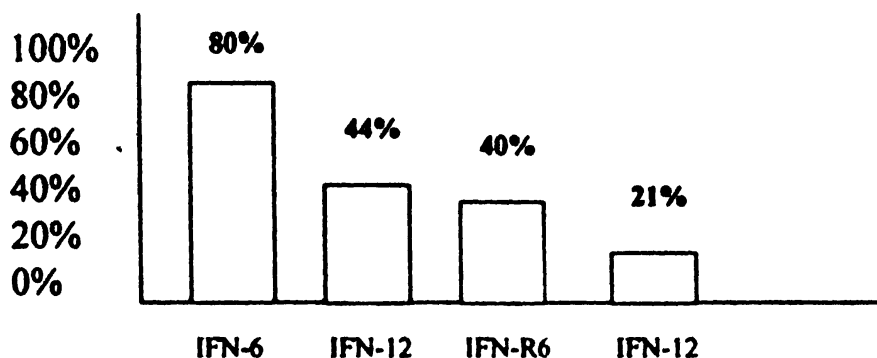
Κατά την μετα-ανάλυση πολλών μελετών διαπιστώθηκε ότι ενώ σε περίπου 40% των ασθενών οι οποίοι υποβάλλονταν σε μικρής διάρκειας θεραπεία (6 μήνες) επιτυγχάνονταν επάνοδος των τρανσαμινασών σε φυσιολογικά επίπεδα και αρνητικοποίηση του HCV-RNA , οι περισσότεροι από αυτούς υποτροπιάζαν μετά τη διακοπή της θεραπείας. Η αύξηση της διάρκειας θεραπείας σε 12 ή 18 μήνες, ενώ έδειχνε να αυξάνει τη διατήρηση της αρχικής απάντησης στη θεραπεία , τελικά και με το σχήμα αυτό , ένα μεγάλο ποσοστό των ασθενών υποτροπιάζε και το ποσοστό της μακροχρόνιας ανταπόκρισης κυμαινόταν από 15-30%[482]. Παρόλλα αυτά η 12-μηνια μονοθεραπεία με ιντερφερόνη-α δίνει πολύ καλύτερα αποτελέσματα από την 6-μηνια , όχι γιατί μειώνει το ποσοστό των μη ανταποκρινομένων (71% και με τα δύο σχήματα) αλλά γιατί υπερδιπλασιάζει το ποσοστό της μακροχρόνιας ιολογικής ανταπόκρισης μειώνοντας τις υποτροπές[483,484] (σχήμα 32).

Εξάλλου από την ανάλυση των διαφόρων μελετών διαφάνηκε η περιορισμένη τελικά αποτελεσματικότητα της θεραπείας με ιντερφερόνη –α , και για το λόγο αυτό αναζητήθηκαν νέες εναλλακτικές θεραπευτικές προσεγγίσεις και ειδικότερα προκρίθηκε η συνδυασμένη θεραπεία ιντερφερόνης με άλλους αντι-ιικούς παράγοντες, κύρια με ριμπαβιρίνη.





Σχήμα 32. Ιολογική ανταπόκριση τέλους θεραπείας (ποσοστά κορυφής στηλών) και μακροχρονίως (ποσοστά εντός εκάστης διαγραμμισμένης στήλης, 6%, 16%, 33%, 41% αντίστοιχα) μετά 6-μηνη (IFN-6) και 12-μηνη (IFN-12) μονοθεραπεία με ιντερφερόνη, καθώς και μετά 6-μηνη (IFN-R6) και 12-μηνη (IFN-R12) χορήγηση συνδυασμού ιντερφερόνης ριμπαβιρίνης[483,484].



Σχήμα 33. Ποσοστά υποτροπής ασθενών που έλαβαν την ίδια θεραπεία όπως ανωτέρω και ολοκλήρωσαν με HCV-RNA ορού αρνητικό, αλλά υποτροπίασαν. Συλλογικά αποτελέσματα δύο μεγάλων πολυκεντρικών κλινικών δοκιμών[483,484].

Είναι γενικά αποδεκτό ότι ο ΗΚΚ εμφανίζεται αρκετά αργά κατά την φυσική πορεία της χρόνιας ΗCV λοίμωξης και μάλιστα, σχεδόν πάντα μετά από την ανάπτυξη κίρρωσης[485]. Σε 7 μελέτες από διάφορα μέρη του κόσμου εκτιμήθηκε η ελάττωση της συχνότητας ανάπτυξης ΗΚΚ σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C και αντιρροπούμενη κίρρωση του ήπατος, που υποβλήθηκαν σε αγωγή με ιντερφερόνη-α σε σύγκριση με μη θεραπευθέντες μάρτυρες.

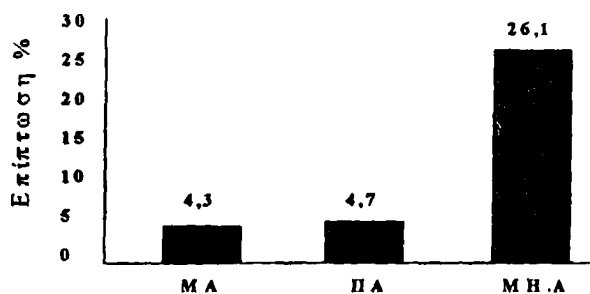


<u>Συγγραφέας</u>	<u>Έτος</u>	<u>Τύπος μελέτης</u>	<u>Ομάδα μελέτης</u>	<u>N</u>	<u>Ελάττωση επίπτωσης</u>	<u>Παρακολούθηση μετά τη θεραπεία</u>
Nishigushi	1995	Προοπτική	Ομάδα A +	45	8 φορές	2-7 έτη
Mazella	1996	Αναδρομική	Ομάδα A	193	4	3
Fattovich	1997	>>	Ομάδα A	193	Καμιά διαφορά	5
Serfaty	1998	>>	Ομάδα A	59	4	4
Kasahara	1998	>>	Ομάδα B*	617	8	8
Imai	1998	>>	Ομάδα B*#	419	2	4
Bonino	1998	>>	Ομάδα A	232	2	3
Bonino	1998	>>	HCV+/Anti-HBe-	116	4	3
Ikeda	1999	>>	Ομάδα A*	1191	2	10
Ikeda	1999	>>	Ομάδα B*	606	10	10

+ Όλοι οι θεραπευθέντες με ιντερφερόνη , ανεξάρτητα από την ανταπόκριση ή όχι στη θεραπεία
 *Οι ανταποκριθέντες στη θεραπεία με IFN-α , σε σύγκριση με τους μη ανταποκριθέντες ασθενείς
 # Καμιά διαφορά μεταξύ μη ανταποκριθέντων και ιστορικών μαρτύρων
 Ikeda Διεθνής Ομάδα Μελέτης της IFN-α και του ΗΚΚ

Σχήμα 34. Μελέτες σχετικά με την επίδραση της θεραπείας με IFN-α στην επίπτωση του ΗΚΚ στη χρόνια ηπατίτιδα C με ή χωρίς αντιρροπούμενη κίρρωση.

Σε μερικές από αυτές τις έρευνες η ομάδα των ασθενών που έλαβαν θεραπεία με ιντερφερόνη παρουσίασε σημαντική ελάττωση στην επίπτωση του ΗΚΚ σε σχέση με τους μη θεραπευθέντες ασθενείς , ανεξάρτητα από το αν υπήρξε απόκριση ή όχι και από τον τύπο της ανταπόκρισης στη θεραπεία (μόνιμη , παροδική ή μη ανταπόκριση). Αντίθετα σε άλλες μελέτες παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των ανταποκριθέντων (μόνιμα και παροδικά) και των μη ανταποκριθέντων, κυρίως όταν τα αποτελέσματα της θεραπείας με ιντερφερόνη-α εκτιμήθηκαν σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C και όχι μόνο σε ασθενείς με αντιρροπούμενη κίρρωση.



Σχήμα 35. Επταετής αθροιστική επίπτωση ΗΚΚ σε μόνιμα ανταποκριθέντες (ΜΑ) , παροδικά ανταποκριθέντες (ΠΑ) , και μη ανταποκριθέντες (ΜΗ.Α) στη θεραπεία με IFN-α ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C [486].



Στην μελέτη μας καταγράφηκε η βελτίωση της ιστολογικής εικόνας όπως εκτιμήθηκε με τον δείκτη ενεργότητας (HAI) μετά την θεραπεία, κυρίως σε ασθενείς που ανταποκρίθηκαν πλήρως στην αγωγή (Spearman Rank Order Correlations, $p=0.04$).

Επίσης στην εκτίμηση της επιβίωσης (Chi-square test, $df=1$) των ασθενών που ανταποκρίθηκαν στη θεραπεία στους 12 μήνες σε σχέση με τους ασθενείς που δεν ανταποκρίθηκαν, φάνηκε σημαντική διαφορά {όλοι οι ασθενείς που ανταποκρίθηκαν στη θεραπεία και παρουσίασαν παρατεταμένη ανταπόκριση δεν εμφάνισαν κανένα συμβάν, ενώ στους ασθενείς που δεν ανταποκρίθηκαν στην αγωγή 4(33.3%) απεβίωσαν από επιπλοκή της χρόνιας HCV λοίμωξης και 3(25%) παρουσίασαν ΗΚΚ } ($p<0.001$). Δηλαδή η φυσική ιστορία της νόσου δύναται να επηρεασθεί σημαντικά από την φαρμακευτική αγωγή.

Οι μηχανισμοί με τους οποίους η ιντερφερόνη, μπορεί να επηρεάσει αρνητικά την ηπατοκαρκινογένεση παραμένουν υποθετικοί. Οι μελέτες της κινητικής του ιού έχουν δείξει ότι η ιντερφερόνη έχει ισχυρή αντι-ιική δράση, επομένως μπορούμε να δεχθούμε ότι αυτή η ενέργεια ακολουθείται από ελάττωση της ηπατικής φλεγμονής και της αναγέννησης των ηπατοκυττάρων, καταστάσεις που ενοχοποιούνται στην παθογένεια του ΗΚΚ. Επειδή υπάρχουν μελέτες που έδειξαν ότι η πρόληψη ανάπτυξης του ΗΚΚ έχει παρατηρηθεί όχι μόνο σε ανταποκριθέντες, αλλά και σε μη ανταποκριθέντες ασθενείς, η ευεργετική δράση της ιντερφερόνης είναι λογικό να συσχετίζεται όχι μόνο με τις αντι-ιικές έναντι του HCV ιδιότητές της, αλλά και με άλλους, ακόμη και σήμερα αδιευκρίνιστους, μηχανισμούς δράσης της.

Σε γενικές γραμμές, περίπου 15% των ασθενών που παίρνουν θεραπεία με ιντερφερόνη δεν έχουν ανεπιθύμητες ενέργειες από την θεραπεία, 15% δεν μπορούν να ανεχθούν τη θεραπεία και το υπόλοιπο 70% εμφανίζει ανεπιθύμητες ενέργειες, αλλά μπορεί να συνεχίσει τη θεραπεία. Η κατάθλιψη μπορεί να είναι σοβαρό πρόβλημα και έχουν περιγραφεί τόσο περιπτώσεις αυτοκτονίας όσο και εισαγωγές για οξεία ψύχωση[487] (εικόνα 36).

Παρενέργειες της θεραπείας με ιντερφερόνη

Συμπτώματα	Συχνότητα (%)
□ Πυρετός –σύνδρομο γρίπης	80
□ Κατάθλιψη	25
□ Κόπωση –καταβολή	50
□ Αιματολογικές διαταραχές	10
□ Κανένα σύμπτωμα	15

Εικόνα 36. Ανεπιθύμητες ενέργειες της θεραπείας με ιντερφερόνη –α[487]



ΣΤ.ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Για την ηπατίτιδα Β

Η ιντερφερόνη είναι το ευρύτερα δοκιμασμένο φάρμακο , κατάλληλη για τη θεραπεία ηπατίτιδας Β τόσο από φυσικό ιό όσο και από μεταλλαγμένο και είναι η μόνη θεραπεία μέχρι σήμερα που εξασφαλίζει μακροχρόνια ανταπόκριση. Παρουσιάζει όμως μειονεκτήματα , γι'αυτό η απόφαση για χορήγησή της πρέπει να ακολουθεί την πλήρη ενημέρωση του ασθενούς.

Προγνωστικοί παράγοντες της καλής ανταπόκρισης στη θεραπεία είναι η λοίμωξη μετά την ενηλικίωση, το θυλυκό γένος, η μικρή διάρκεια της νόσου, τα χαμηλά επίπεδα ιαιμίας, η ενεργός ηπατική νόσος στην ιστολογική εξέταση , οι αρκετά αυξημένες τρανσαμινάσες, η λοίμωξη με τη φυσική (HBeAg+) μορφή του ιού , η απουσία συλλοίμωξης με τον ιό της ηπατίτιδας D και η απουσία ανοσοκαταστολής.

Στη χώρα μας κυριαρχεί η προπυρηνικά μεταλλαγμένη μορφή του ιού , που είναι και το κύριο αίτιο της HBeAg-αρνητικής χρόνιας ηπατίτιδας Β. Οφείλεται σε ανοσολογική πίεση που εφαρμόσθηκε στον φυσικό τύπο του ιού και είναι δείκτης της χρονιότητας της νόσου. Στην κατηγορία αυτή απαιτείται μεγαλύτερη διάρκεια θεραπείας (12 μήνες) γιατί με τον τρόπο αυτό βελτιώνεται το ποσοτό μακροχρόνιας ανταπόκρισης($p=0.05$).

Η ιστολογική βελτίωση είναι προφανής στους ασθενείς που ανταποκρίνονται στην φαρμακευτική αγωγή συγκριτικά με αυτούς που δεν ανταποκρίνονται ($p<0.001$).

Η πιθανότητα επιβίωσης είναι μεγαλύτερη στους ανταποκριθέντες στη θεραπεία ($p=0,0020$) όπως επίσης και η πιθανότητα επιβίωσης χωρίς επιπλοκές($p=0,020$). Δεν μπορούν όμως να εξαχθούν ασφαλή συμπεράσματα για την πρόληψη του ηπατο-κυτταρικού καρκίνου.

Η πρόγνωση για τους ασθενείς με συλλοίμωξη με τον ιο της ηπατίτιδας Δ είναι βαριά. Σχεδόν το 90% οδηγείται σε κίρρωση. Η θεραπεία με ιντερφερόνη χαρακτηρίζεται από υψηλό ποσοστό υποτροπών.

Για την ηπατίτιδα C

Η 12-μηνη μονοθεραπεία με ιντερφερόνη δίνει πολύ καλύτερα αποτελέσματα από την 6-μηνη , γιατί υπερδιπλασιάζει το ποσοτό της μακροχρόνιας ιολογικής ανταπόκρισης μειώνοντας τις υποτροπές($p=0.005$).

Η συνδυασμένη θεραπεία σκόπιμο είναι να προκρίνεται σαν αρχική θεραπεία σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C. Στους ασθενείς που αντενδείκνυται η θεραπεία με ριμπαβιρίνη , πρέπει να υποβάλλονται σε θεραπεία με ιντερφερόνη-α (3 ή 9 MU χ3 εβδ.) για διάστημα 12 μηνών.

Η ιστολογική βελτίωση στους ασθενείς που ανταποκρίνονται στην φαρμακευτική αγωγή σε σχέση με τους μη ανταποκριθέντες είναι στατιστικά σημαντική (Spearman Rank Order Correlations, $p=0.04$).

Η μακροχρόνια ιολογική ανταπόκριση (απουσία ανίχνευσης του HCV-RNA στον ορό 6 μήνες μετά τη διακοπή της θεραπείας) είναι το μόνο θεραπευτικό αποτέλεσμα που επιφέρει θετική για τους ασθενείς τροποποίηση της φυσικής ιστορίας και βελτίωση της πρόγνωσης της χρόνιας ηπατίτιδας C($p<0.001$).

Για τις δύο μορφές ηπατίτιδας Β και C



Η ιντερφερόνη-α είναι σχετικά καλά ανεκτή από την πλειονότητα των ασθενών.

Στους ασθενείς που παρουσιάζουν παρατεταμένη ανταπόκριση στη θεραπεία φαίνεται ότι περιορίζεται η εξέλιξη σε ηπατική ίνωση και επίσης βελτώνεται η ιστολογική εικόνα συγκριτικά με αυτούς που δεν ανταποκρίνονται στη θεραπεία.

Με τα υπάρχοντα δεδομένα παραμένει άγνωστο αν μια μακροχρόνια αντι-ική θεραπεία, ακόμα και αν αναστείλει την εξελικτική πορεία της χρόνιας ηπατίτιδας Β και C σε κίρρωση, μπορεί να ελαττώσει και τον κίνδυνο ανάπτυξης ηπατο-κυτταρικού καρκίνου.



Ζ. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η ιντερφερόνη-α (IFN-α) που είναι πρωτεΐνη με αντιϊκή και ανοσοτροποποιητική δράση αποτελεί ακόμη και σήμερα το πλέον αναγνωρισμένο και καθιερωμένο φάρμακο για την χρόνια ηπατίτιδα Β και C.

Σκοπός: Η εκτίμηση της ανταπόκρισης στη θεραπεία της τεκμηριωμένης χρόνιας ηπατίτιδας Β και C με ιντερφερόνη-α και η επίδραση στην φυσική ιστορία και εξέλιξη των δύο αυτών νοσημάτων.

Υλικό και μέθοδος: Στη μελέτη έλαβαν μέρος 79 ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα Β [52 άνδρες(65.8%) και 27(34.2%) γυναίκες] με μέση ηλικία (mean±sd) 48.70±15.43. Από τους ασθενείς οι 7(8.9%) είχαν στο παρελθόν μεταγγιστεί και οι 17(21.5%) κατανάλωναν αλκοόλ(>60gr/day). Επίσης 9 (11.4%) ασθενείς ήταν HBeAg+ και 6(7.5%) είχαν και συλλοίμωξη με τον ατελή ιό HDV. Η βιοψία ήπατος πριν τη θεραπεία όπως εκτιμήθηκε με τη βοήθεια του ηπατικού δείκτη ενεργότητας(HAI) παρουσίαζε την ακόλουθη διακύμανση [1=3(3.8%), 2=15(19.0%), 3=42(53.2%), 4=19(24.0%)]. Το υπερηχογράφημα ήταν φυσιολογικό στην πλειονότητα των ασθενών(67(84.8%). Ένας ασθενής έπασχε και από HCV λοίμωξη. Η μέση τιμή της AST κατά την εισαγωγή στη μελέτη ήταν 126.68±95.7, ενώ η μέση τιμή της ALT ήταν 173.15±143.15(p=0.018). Επίσης η μέση τιμή του HBV-DNA ήταν 1258910.7595± 4987797.4308(copies/ml). Έγινε ποσοτικός προσδιορισμός του HBV-DNA με τη μέθοδο του υβριδισμού στα αρχικά περιστατικά της μελέτης(Genostics;Abbott Laboratories, North Chicago ,IL) επίσης αρκετά περιστατικά με τη μέθοδο του διακλαδιζόμενου DNA(bDNA, Versant, Bayer Diagnostics, Emeryville, CA) και πρόσφατα με την τεχνική PCR (Amplicor-Monitor HBV;Roche Diagnostics , Pleasanton, CA) και προσδιορισμός του HCV-RNA με την τεχνική PCR (Amplicore Roche Diagnostics) πραγματοποιήθηκε σε χρόνο 0, 6, 12, 18, 24 μηνών.

Επίσης έλαβαν μέρος 49 ασθενείς με χρόνια λοίμωξη HCV, 29 εκ των οποίων ήταν άνδρες 48.5 ± 15 ετών και 20 γυναίκες 54.9 ± 14 ετών (p = 0.149). Εκ των ασθενών οι 17 (34.7%) είχαν υποβληθεί σε μετάγγιση και οι 13 (26.5%) κατανάλωναν αλκοόλ(>60gr/day), κατά δήλωσή τους. Η μέση τιμή του AST κατά την εισαγωγή των ασθενών στη μελέτη ήταν 110.71 ± 31.6, ενώ η μέση τιμή της ALT ήταν 123.69 ± 49.11. Η μέση τιμή του RNA ήταν 2686977.5510 ± 1827729.7473. Η βιοψία ήπατος πριν τη θεραπεία όπως εκτιμήθηκε με τη βοήθεια του ηπατικού δείκτη ενεργότητας(HAI) παρουσίαζε την ακόλουθη διακύμανση(1=3(6.12%), 2=8(16.32%), 3=29(59.18%), 4=9(18.38%)).

Ο προσδιορισμός των γονοτύπων στην HCV έγινε με την μέθοδο μοριακής βιολογίας INNO-LiPA, Innogenetics, Gent, Belgium. Οι γονότυποι είχαν την ακόλουθη κατανομή[1a=6(12.24%), 1β=37(75.52%), 2=5(10.21%), 3=1(2.03%)].

Στην ομάδα των ασθενών με χρόνια ενεργό ηπατίτιδα Β χορηγήθηκε Ιντερφερόνη α-2α σε δόση 4,5 MU τρεις φορές την εβδομάδα, υποδορίως για χρονικό διάστημα 12 μηνών (Ομάδα Α). Στην ομάδα των ασθενών με χρόνια ενεργό ηπατίτιδα C χορηγήθηκε Ιντερφερόνη α-2α σε δόση 3 MU τρεις φορές την εβδομάδα, υποδορίως για διάστημα 12 μηνών (Ομάδα Β). Επίσης στην ομάδα των ασθενών με χρόνια ενεργό ηπατίτιδα Β και D χορηγήθηκε ιντερφερόνη α-2α σε δόση 9 MU τρεις φορές την εβδομάδα υποδορίως για χρονικό διάστημα 12 μηνών (Ομάδα Γ) και τέλος στην ομάδα των ασθενών



με χρόνια ενεργό ηπατίτιδα Β και C χορηγήθηκε ιντερφερόνη α-2α σε δόση 9 ΜU τρεις φορές την εβδομάδα υποδορίως για χρονικό διάστημα 12 μηνών (Ομάδα Δ).

Αποτελέσματα: Η πλήρης ανταπόκριση των ασθενών με χρόνια HBV λοίμωξη (Φυσιολογικές τρανσαμινάσες και HBV-DNA μη ανιχνεύσιμο) στη θεραπεία, στους 6 μήνες ήταν 30%, στους 12 μήνες 44% ($p=0.05$) και η παρατεταμένη ανταπόκριση στους 18 και 24 μήνες ήταν 35% και 32% αντίστοιχα. Η βελτίωση της ιστολογικής εικόνας ήταν στατιστικά σημαντική ιδιαίτερα στους ασθενείς που ανταποκρίθηκαν πλήρως στην αγωγή(Spearman Rank Order Correlations, $p<0.001$). Η εξαετής επιβίωση των ατόμων της μελέτης ήταν $84\pm 4\%$. Σημαντική ήταν η διαφορά στην επιβίωση των ασθενών που ανταποκρίθηκαν πλήρως στη θεραπεία στους 12 μήνες συγκριτικά με τους μη ανταποκριθέντες(Chi-square test , $p=0.0020$).

Εξάλλου πλήρης ανταπόκριση των ασθενών με χρόνια HCV λοίμωξη (Φυσιολογικές τρανσαμινάσες και HCV-RNA μη ανιχνεύσιμο) στη θεραπεία, στους 6 μήνες ήταν 31%, στους 12 μήνες 71% ($p=0.005$) και η παρατεταμένη ανταπόκριση στους 18 και 24 μήνες ήταν 69% και 59% αντίστοιχα. Η βελτίωση της ιστολογικής εικόνας ήταν στατιστικά σημαντική ιδιαίτερα στους ασθενείς που ανταποκρίθηκαν πλήρως στην αγωγή(Spearman Rank Order Correlations, $p=0.04$). Η εξαετής επιβίωση των ατόμων της μελέτης ήταν $92\pm 4\%$. Πολύ σημαντική ήταν η διαφορά στην επιβίωση των ασθενών που ανταποκρίθηκαν πλήρως στη θεραπεία στους 12 μήνες συγκριτικά με τους μη ανταποκριθέντες(Chi-square test , $p=0.0000$).

Οι παρενέργειες από την χρήση της ιντερφερόνης ήταν ήπιες με κυρίαρχο το σύνδρομο γρίπης(Flu like syndrome) (40%) , αλλά κανείς ασθενής δεν διέκοψε τη θεραπεία λόγω σοβαρής παρενέργειας.

Συμπεράσματα: Η ιντερφερόνη-α είναι σχετικά καλά ανεκτή από την πλειοψηφία των ασθενών με χρόνια HBV και HCV λοίμωξη. Η παρατεταμένη ανταπόκριση είναι, στους 6 και 12 μήνες μετά την ολοκλήρωση της θεραπείας, 35% και 32% για την HBV λοίμωξη και 69% και 59% για την HCV λοίμωξη. Η επιβίωση των ασθενών είναι στατιστικά πολύ σημαντική μεταξύ αυτών που ανταποκρίνονται πλήρως στην ιντερφερόνη συγκριτικά με τους μη ανταποκρινόμενους(Chi-square test $p=0.0020$ & $p=0.0000$ στην HBV και HCV αντίστοιχα).





**UNIVERSITY OF IOANNINA
MEDICAL SCHOOL
DIVISION OF MEDICINE
DEPT.OF INTERNAL MEDICINE
(HEPATO-GASTROENTEROLOGY UNIT)
DIRECTOR: PROFESSOR E.V.TSIANOS MD**

**NATURAL HISTORY OF CHRONIC ACTIVE HEPATITIS B (HBV),
C(HCV) AND D(HDV) AFTER TREATMENT WITH INTERFERON
A-2A(IFN-A-2A) IN NORTH WESTERN GREECE**

**GERASIMOS E. BALTAGIANNIS
GASTROENTEROLOGIST**

IOANNINA 2002



H.SUMMARY

Interferon-alpha (IFN-a) is a widely applied therapy of chronic HBV and HCV infection.

The aim of the study was to evaluate the effect of interferon-a therapy on the long-term outcome(natural history) of chronic hepatitis B and C in north-western Greece.

Patients-Methods: 79 patients [52 male (65.8%) and 27 female (34.2%), mean±sd=48.70±15.43] with chronic hepatitis B(HBV) and 49 patients[29 male(59.2%) and 20 female(40.8%) mean±sd=51.18±15.12] with chronic hepatitis C(HCV) ,who underwent IFN-a therapy (patients with HBV received 4.5 MU three times weekly and those with HCV received 3 MU three times weekly, sc) were followed up for serological status, biochemical evidence of liver disease, and liver complications or mortality through 6 years after start of treatment.

Complete responders are defined as patients who had sustained normal ALT levels with clearance of HBV-DNA and HCV-RNA for more than 6 months after cessation of IFN-a therapy.

Patients with decompensated liver disease and /or hepatocellular carcinoma at presentation were excluded. Pretreatment liver biopsies were performed and all patients had histological evidence of chronic hepatitis B and C. A lot of patients underwent a second liver biopsy. Liver biopsy histology was graded using the histology activity index(HAI).

Results: The biochemical and virological responses for the patients with chronic active hepatitis B, at the end of treatment were 30% and 44% (for 6 and the 12 months regimen, respectively) ,(p=0.05). At the end of 6 –12 months after stop of therapy biochemical and virological sustained response was observed in 35% and 32%. Histological improvement of activity observed in patients with sustained virological response(p<0.001). Overall survival and survival without clinical complications were significantly longer in patients who were sustained virological response after therapy with IFN-a than in those who observed without sustained virological response (p=0.002).

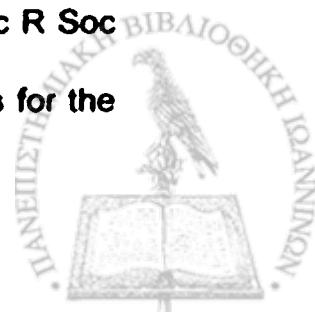
The biochemical and virological responses for the patients with chronic active hepatitis C, at the end of treatment were 31% and 71% (for 6 and the 12 months regimen, respectively) ,(p=0.005). At the end of 6 –12 months after stop of therapy biochemical and virological sustained response was observed in 69% and 59%. Histological improvement of activity observed in patients with sustained virological response(p=0.04). Overall survival and survival without clinical complications were significantly longer in patients who were sustained virological response after therapy with IFN-a than in those who observed without sustained virological response (p=0.0000).

Conclusions: In patients with chronic active hepatitis B and C (HBV and HCV) , sustained biochemical remission induced by interferon-a is associated with improved long-term outcome. The results suggest that IFN-a has long-term beneficial effects in histological improvement ,reduction of HCC, and prolonging survival.

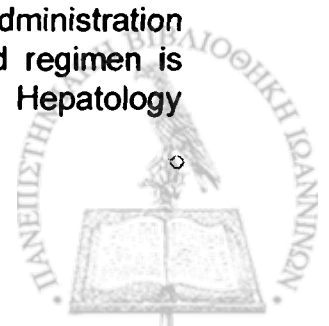


Θ.ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

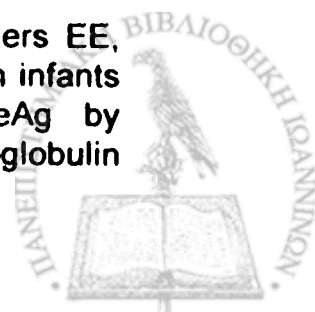
1. Nalphas B, Driss F, Pol S, et al. Association between HCV and HBV infection in hepatocellular carcinoma and alcoholic liver disease. *J. Hepatology* 1991;12:70-74.
2. Perrillo RP, Mason AL. Therapy for hepatitis B virus infection. *Gastroenterology Clin North Am* 1994;23:581-601
3. Παπαθεοδωρίδης Γ.Β, Τασσόπουλος Ν, Ιογενείς ηπατίτιδες: Εθνικό και παγκόσμιο πρόβλημα. Στο Καρβουντζής Γ.(Συντ) Ιογενείς ηπατίτιδες. Νεώτερα δεδομένα .Συμπόσια 20ου Ετήσιου Πανελληνίου Ιατρικού συνεδρίου, Αθήνα, 1994:9-43.
4. Purcell RH. The discovery of the hepatitis viruses. *Gastroenterology* 1993;104:955-63.
5. Kane M .Progress on the control of Hepatitis B infection through immunisation. *Gut* 1993;34(Suppl):S10-S12.
6. Choo Q-L, Kuo G, Weiner AJ, et al. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science* 1989, 244:s359-362.
7. Alter HJ, Margolis HS, Krawczynki K et al. The natural history of community-acquired hepatitis in the United States. *N Engl J Med* 1992 , 327:1899-1905.
8. Tremolada F, Casarin C, Alberti A , et al .Long-term follow-up of non-A, non-B (type C) postransfusion hepatitis. *J Hepatol* 1992;16: 273-281.
9. Tong MJ, El-Farra NS, Reikes AR, Co RL: Clinical outcomes after transfusion-associated hepatitis C. *N Engl J Med* 1995; 332:1463-1466.
10. Dhumeaux D, Doffoel M, Galmiche J-P. A French consensus conference on hepatitis C: screening and treatment. *J Hepatology* 1997;27:941-944.
11. Tassopoulos NC ;Papaevangelou G et al. Natural history of acute hepatitis B surface antigen positive hepatitis in greek adults. *Gastroenterology* 1987, 92:1844- 1850.
12. Hatziyannis SJ: Delta antigen positive chronic liver disease in Greece: Clinical aspects and natural course. *Prog Clin Biol Res* 1983, 143:209-217.
13. Rizzetto M, Verme G, Recchia S et al : Chronic hepatitis in carriers of hepatitis B surface antigen, with intrahepatic expression of delta antigen. An active and progressive disease unresponsive to immunosuppressive treatment. *Ann Intern Med* 1983,98:437-441.
14. Tassopoulos NC, Krawczynski K, Hatzakis A et al: Role of hepatitis E virus in the etiology of community-acquired non-A , non-B hepatitis in Greece. *J Med Virol* 1994,42:124-128.
15. Dalekos GN, Zervou E, Karabini F , Tsianos EV. Prevalence of viral markers among refugees from Southern Albania: increased incidence of infection with hepatitis A and D viruses. *Eur J Gastroenterology Hepatol* 1995; 7: 553-558.
16. Dalekos et al. *Eur J Gastroenterology Hepatol* 1995.
17. Isaac A, Lindenmann J. Virus interference: I. The interferon *Proc R Soc Lond (Biol)* 1957;147:258-273.
18. Dianzani F , Antonelli G, Capobianchi MR. The biological basis for the clinical use of interferon. *J Hepatol* 1990;11 (Suppl) :S5-S10.



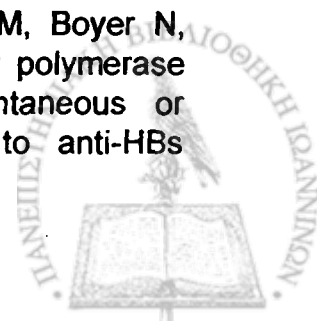
19. Wong DKH, Cheung AM, O'Rourke K, et al. Effect of alpha-interferon treatment in patients with hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B: a meta-analysis. *Ann Intern Med* 1993;119:312-323.
20. Niederau C, Heintges T, Lange S, et al. Long-term follow-up of HBeAg-positive patients treated with interferon alpha for chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 1996; 334:1422-1427.
21. Lau GKK, Lim W, Lok ASF. Nine years follow-up after interferon (IFN) treatment for chronic hepatitis B (CHB) in Chinese patients. *Hepatology* 1997;26:259A
22. Hadziyannis SJ. Hepatitis B e antigen negative chronic hepatitis B: From clinical recognition to pathogenesis and treatment. *Viral Hepatitis Rev* 1995;1:7-15.
23. Perrillo RP. Interferon therapy of chronic hepatitis B. In : *Treatments in Hepatology* (Arroyo V, Bosch J and Rhodes J,eds), Masson SA, Barcelona, 1995, pp 141-153.
24. Korenman J, Backer B, Waggoner J, et al. Long-term remission of chronic hepatitis B after alpha-interferon therapy. *Ann Intern Med* 1991;114:629-634.
25. Hoofnagle JH , Di Bisceglie AM. The treatment of chronic viral hepatitis. *N Engl J Med* 1997;336:347-356.
26. Fattovich G, Giustina G , Favarato S, Ruol A. A survey of adverse events in 11.241 patients with chronic viral hepatitis treated with alpha interferon. *J Hepatol* 1996;24:38-47.
27. Lampertico P, del Ninno E, Manzin A, et al. A randomized controlled trial of a 24-month course of interferon alpha 2b in patients with chronic hepatitis B who had hepatitis B virus DNA without hepatitis B e antigen in serum. *Hepatology* 1997;26:1621-1625.
28. Farci P, Mandaw A , Coiana A ,et al . Treatment of chronic hepatitis D with interferon alpha-2a. *N Engl J Med* 1994;330:88-94.
29. Hadziyannis SJ. Hepatitis delta. *J Gastroenterol hepatol* 1997;12:289-298.
30. Lindsay KL. Therapy of hepatitis C: Overview *Hepatology* 1997; 267(Suppl 1):71S-77S.
31. Marcellin P, Boyer N, Gervais A ,et al .Long-term histologic improvement and loss of detectable intrahepatic HCV RNA in patients with chronic hepatitis C and sustained response to interferon-a therapy. *Ann Intern Med* 1997; 127:875-881.
32. Manesis EK, Papaioannou C , Gioustozi A , et al. Biochemical and virological outcome of patients with chronic hepatitis C treated with interferon alpha-2b for 6 or 12 months: a 4-year follow-up of 211 patients. *Hepatology* 1997;26:734-739.
33. Sokal EM , Conjeevaram HS, Roberts EA, Alvarez F , Bern EM, Goyens P, Rosenthal P, Lachaux A, Shelton M, Sarles J, Hoofnagle JH: Interferon-alpha therapy for chronic hepatitis B in children : A multinational randomized controlled trial. *Gastroenterology* 1998;114:988-995.
34. Hadziyiannis AS , Papaioannou C, Spanoy E, et al. Daily administration of interferon-alpha for 1 month followed by a tiw standard regimen is associated with response rates in chronic hepatitis C[Abstr]. *Hepatology* 1997;26:420A



35. Tassopoulos NC et al :Epidemiology of hepatitis B virus infection. *Hell J Gastroenterol* 1993;11:73-83.
36. Hoofnagle JH , di Bisceglie AM. Serological diagnosis of acute and chronic viral hepatitis.*Semin Liver Dis* 1991;11:73-83.
37. Tassopoulos NC, Papaevangelou G, Sjogren MH, Roumeliotou - Karayannis A, Gerin JL , Purcell RH. Natural history of acute hepatitis B surface antigen positive hepatitis in Greek adults. *Gastroenterology* 1987; 92:1844-1850.
38. Tassopoulos NC, Sjogren MH, Ticehurst JR, Engle RE, Roumeliotou - Karayannis A, Gerin LA et al. Significance of IgM antibody to hepatitis core antigen in a Greek population with chronic hepatitis B virus infection. *Liver* 1986, 6:275-280.
39. Αγγελοπούλου Β, Παπαθεοδωρίδης Γ, Κουτέλου Μ ,Καπάτσης Α, Γεωργιάλας Β, Κουτσούνόπουλος Γ και συν. Επανεκτίμηση της φυσικής εξέλιξης της οξείας τύπου Β ηπατίτιδα. Πρακτικά 3ου Πανελληνίου Ηπατολογικού Συνεδρίου, Αθήνα , 1993:48.
40. Krugman S, Overby LR, Mushahwar IK, Ling C-M, Frosner GG, Deinhardt F.Viral hepatitis type B. Studies on the natural history and prevention reexamined: *N Engl J Med* 1979; 300:101-105.
41. Τασσόπουλος Ν. Εξέλιξη της οξείας λοίμωξης από τον ιό της ηπατίτιδας - Β. *Ιατρική* 1988,53:491-492.
42. Papaevangelou G, Tassopoulos N, Roumeliotou -Karayannis A, Richardson SC. Etiology of fulminant viral hepatitis in Greece. *Hepatology* 1984;4:369-372.
43. Trey C, Davidson CS. The management of fulminant hepatic failure. In: popper H, Schaffer F(eds) *Progress in Liver Diseases*. Grune &Stratton, New York 1970;3:282-298.
44. Gimson AE, O'Grady J, Ede RJ, Portmann B, Williams R. Late onset hepatic failure: Clinical , serological and histological features. *Hepatology* 1986; 6:288-294.
45. Bernau J, Rueff B, Benhamou J-P. Fulminant and subfulminant liver failure : Definition and causes. *Semin liver Dis* 1986;6:97-106.
46. Carman WF, Fagan EA, Hadziyannis S, Karayannis P, Tassopoulos NC, Williams R et al. Association of a precore genomic variant of hepatitis B virus with fulminant hepatitis. *Hepatology* 1991;14:219-222.
47. Παπαθεοδωρίδης ΓΒ, Μεταλλαγές του DNA του HBV σε θανατηφόρο ηπατίτιδα. *Ελλην Γαστρεντερολ* 1991; 4:332-334.
48. Liang TJ, Hasgawa K, Munoz SJ, Shapiro CN, Yoffe B, McMahon BJ et al. Hepatitis B virus precore mutation and fulminant hepatitis in the United States, A polymerase chain reaction-based assay for the detection of specific mutation. *J Clin Invest* 1994;93:550-555.
49. Xu Zy, Liu CB, Francis DP, Purcell RH, Gun ZL, Duan SC et al. Prevention of perinatal acquisition of hepatitis B carriage using vaccine: preliminary report of a randomized, double-blind placebo-controlled and comparative trial. *Pediatrics* 1985;76:713-718.
50. Wong VCW, IP HMH, Rweesing HW, Lelie P, Reering-Brongers EE, Yeung CV et al. Prevention of the HBsAg carrier state in newborn infants of mothers who are chronic carriers of HBsAg and HBeAg by administration of hepatitis B vaccine and hepatitis b immunoglobulin



- .double-blind randomized, placebo-controlled study. *Lancet* 1984;i:921-926.
51. Seeff LB, Beebe GW, Hoofnagle JH, Norman JE, Bales JB, Waggoner JG et al. A serologic follow-up of the 1942 epidemic of post-vaccination hepatitis in the United States army. *N Engl J Med* 1987; 316:965-970.
 52. Kondo Y, Tsukada K, Takeuchi T, Mitsui T, Iwano K, Masuko K et al. High carrier rate after hepatitis B virus infection in the elderly. *Hepatology* 1993; 18:768-774.
 53. London WT, DiFiglia M, Sutnick AI, Blumberg BS. An epidemic of hepatitis in a chronic -hemodialysis unit: Australia antigen and differences in host response. *N Engl J Med* 1969, 281:571-578.
 54. Szmuness W, Harley EJ, Ikram H, Stevens CE. Sociodemographic aspects of the epidemiology of hepatitis B. In: Vyas GN, Cohen SM, Schmid R (eds) *Viral hepatitis* Franklin Institute Press, Philadelphia, 1987:297-320.
 55. Milich DR. Immune response to hepatitis B virus proteins: relevance of the murine models. *Semin Liver Dis* 1991;11:93-112.
 56. Brunetto MR, Giarin M, Oliveri F, Saracco G, Barbera C, Parrella T et al. "e" antigen defective hepatitis B virus and course of chronic infection. *J Hepatol* 1991, 13(Suppl 4):S82-S86.
 57. Hoofnagle JH, Dusheiko GM, Seeff LB, Jones A, Waggoner JG, Bales ZB. Seroconversion from hepatitis B e antigen to antibody in chronic type B hepatitis. *Ann Intern Med* 1981;94:744-748.
 58. Liaw YF, Chu CM, Su IJ, Huang MJ, Lin DY, Chien CS. Clinical and histological events preceding hepatitis B e antigen seroconversion in chronic type B hepatitis. *Gastroenterology* 1983;84:216-219.
 59. Tassopoulos NC, Papatheodoridis GV, Kalantzakis Y, Tzala E, Delladetsika SK, Koutelou MG et al. Differential diagnosis of acute HBsAg positive hepatitis using IgM anti-HBc by a rapid fully automated microparticle enzyme immunoassay. *J Hepatol* 1997; 26:14-19.
 60. Παπαθεοδωρίδης ΓΒ, Δελλαδέσιμα Ι, Χατζάκης Α, Τασσόπουλος ΝΚ. Ιστολογικά ευρήματα οξείας ηπατίτιδας επιπροσθιθεμένης σε χρόνια ΗΒsΑγαίμία. *Ελλην Ιατρ* 1995;61:267.
 61. Liaw YF, Huang MJ, Chu CM, Sheen IS, Lin Dy. The window period between hepatitis B e antigen and antibody in chronic type B hepatitis. *Hepatology* 1984;4:619-621.
 62. Papatheodoridis GV, Delladetsima JK, Hatzakis A, Tassopoulos NC. Etiology and natural history of acute hepatitis superimposed on chronic HBsAg carriage. *Hepatology* 1994; 20:297A.
 63. Lok ASF, Lai C-L. Acute exacerbations in Chinese patients with chronic hepatitis B virus (HBV) infection. Incidence, predisposing factors and etiology. *J Hepatol* 1990; 10:29-34.
 64. Liaw YF, Tai DI, Chu CM, Chen TJ. The development of cirrhosis in patients with chronic type B hepatitis: a prospective study. *Hepatology* 1988; 8:493-496.
 65. Lorient M-A, Marcellin P, Bismuth E, Martinot-Peignoux M, Boyer N, Degott C et al. Demonstration of hepatitis B virus DNA by polymerase chain reaction in the serum and the liver after spontaneous or therapeutically induced HBeAg to anti-HBe or HBsAg to anti-HBs



- seroconversion in patients with chronic hepatitis B. *Hepatology* 1992; 15:32-36.
66. Hoofnagle JH, Alter HJ. Chronic viral hepatitis. In: Vyas GN, Dienstag JL, Hoofnagle JH (eds) *Viral Hepatitis and Liver Disease*. Grune & Stratton, Orlando, Florida, 1984:97-113.
 67. Davis GL, Hoofnagle JH, Waggoner JG. Spontaneous reactivation of chronic hepatitis B virus infection. *Gastroenterology* 1984; 86:230-235.
 68. Hoofnagle JH, Dusheiko GM, Schafer DF, Jones EA, Micetich KC, Young RC et al. Reactivation of chronic hepatitis B virus infection by cancer chemotherapy. *Ann Intern Med* 1982; 96:447-449.
 69. De Franchis R, Meucci G, Vecchi M, Tatarella M, Colombo M, Del Ninno E et al. The natural history of asymptomatic hepatitis B surface antigen carriers. *Ann Intern Med* 1993; 118:191-194.
 70. Brunetto MR, Cerenzia MR, Oliveri F, Piantino P, Randone A, Calvo P-L et al. Monitoring the natural course and response to therapy of chronic hepatitis B with an automated semi-quantitative assay for IgM anti-Hbc. *J Hepatol* 1993; 19:431-436.
 71. Hadziyannis SJ, Hadziyannis AS, Dourakis S, Alexopoulou A, Horsch A, Hess G. Clinical significance of quantitative anti-HBc IgM assay in acute and chronic HBV infection. *Hepatogastroenterology* 1993; 40:588-592.
 72. Alward WLM, McMahon BJ, Hall DB, Heyward WL, Francis DB, Bender TR. The long-term serological course of asymptomatic hepatitis B virus carriers and the development of primary hepatocellular carcinoma. *J Infect Dis* 1985; 151:604-609.
 73. Hsu H-Y, Chang M-h, Lee C-Y, Chen J-S, Hsu H-C, Chen D-S. Spontaneous loss of HBsAg in children with chronic hepatitis B virus infection. *Hepatology* 1992; 15:382-386.
 74. Adachi H, Kaneko S, Matsushita E, Inagaki Y, Unoura M, Kobayashi K. Clearance of HBsAg in seven patients with chronic hepatitis B. *Hepatology* 1992; 16:1334-1337.
 75. Carman WF, Lacyna MR, Hadziyannis S, McGarvey M, Karayannis P, Thomas HC. Mutation preventing formation of hepatitis B e antigen in patients with chronic hepatitis B infection. *Lancet* 1989; ii:588-590.
 76. Chuang W-L, Omata M, Ehata T, Yokosuka O, Hosoda K, Imazeki F, et al. Coinfection study of precore mutant and wild-type hepatitis B-like virus in ducklings. *Hepatology* 1994; 19:569-576.
 77. Hamasaki K, Nakata K, Nagayama Y, Ohtsuru A, Daikoku M, Taniguchi K et al. Changes in the prevalence of HBeAg-negative mutant hepatitis B virus during the course of chronic hepatitis B. *Hepatology* 1994; 20:8-14.
 78. Naoumov NV, Schneider R, Grotzinger T, Jung MC, Miska S, Pape GR et al. Precore mutant hepatitis B virus infection and liver disease. *Gastroenterology* 1992; 102:538-543.
 79. Lai ME, Solinas A, Mazzoleni EP, Deplano A, Farci P, Lisci V et al. The role of precore hepatitis B virus mutants on the long-term outcome of chronic hepatitis B virus hepatitis. A longitudinal study. *J Hepatol* 1994; 20:773-781.
 80. Ehata T, Omata M, Yokosuka O, Hosoda K, Ohto M. Variations in codons 84-101 in the core nucleotide sequence correlate with



- hepatocellular injury in chronic hepatitis B virus infection .J Clin Invest 1992; 89:332-338.
81. Carman WF, McIntyre G, Hadziyiannis S, Fattowich G, Thomas HC. Mutations of HBcAg after loss of HBeAg .J Hepatol 1992; 16:S25
 82. Hess G. Virological and serological aspects of hepatitis B and delta agent. Gut 1993; 34(Suppl 2) :S1-S5.
 83. Taylor JM, Chao M, Hieh SY, Luo G, Ryo WS. Structure and replication of hepatitis delta virus. In : Hollinger FB, Lemon SM, Margolis HS, eds. Viral Hepatitis and Liver Disease. Baltimore:Williams & Wilkins,1991:460-463.
 84. Rizzeto M, Caneze MG, Arico S et al. Immunofluorescence detection of a new antigen- antibody system (delta-antidelta) associated with the hepatitis B virus in the liver and serum of HBsAG carriers .Gut 1977; 18:997-1003.
 85. Lai MMC, Hwang SB, Chao M. Significance of HD antigen in HDV replication. (abstr). International Symposium on Viral Hepatitis and Liver Disease. Tokyo 1993; p.25.
 86. Chao M, Hieh SY, Taylor Z. Role of two forms of HDV antigen: evidence for a mechanism of self limiting genome replication. J Virol 1990; 64:5066-5069.
 87. Rizzeto M. The delta agent. Hepatology 1981, 1:127-131.
 88. Rizzeto N, Ottobrelli A, Smedile A. Hepatitis delta infection and liver transplantation. Progreww in Hepatology, J P Mignet and D Dhumeaux, eds John Libbey Eurotext, Paris 1993; 121-125.
 89. Rizzeto M, Ponzetto A, Forzan I. The HDV as a global health problem. Vaccine 1990,; 8:10-14.
 90. Παπαευαγγέλου Γ, Ρουμελιώτου-Καραγιάννη Α, Τασσόπουλος Ν. και συν.Κύρια επιδημιολογικά χαρακτηριστικά της δ-λοιμώξεως στην Ελλάδα. Ιατρική 1983; 44:390-394.
 91. Rizzeto M, Hadziyiannis S, Hansson BG, Toukan A, Gust I.Hepatitis delta virus infection in the world. Epidemiological patterns and clinical expression. Gastroenterol Intern 1992; 5: 18-32.
 92. Rosina F, Saracco G, Rizzeto M et al. Risk of posttransfusion infection with the hepatitis delta virus .A multicenter study. N Engl J Med 1985; 312:1488-1491.
 93. Τασσόπουλος Ν, Ρουμελιώτου-Καραγιάννη Α, Κολαίτης Ν, Παπαευαγγέλου Γ. Κύρια χαρακτηριστικά και μορφές κεραυνοβόλου ιογενούς ηπατίτιδας στην Ελλάδα. Ιατρική 1983; 44:233-239.
 94. Τασσόπουλος Ν, Παπαευαγγέλου Γ. Κεραυνοβόλος ιογενής ηπατίτις .Ιατρική 1982; 42:95-104.
 95. Hoofnagle JH, Di Bisceglie AM. Serologic diagnosis of acute and chronic viral hepatitis . Semin Liver Dis 1991, 11:73-83.
 96. Smedile A, Rosina G, saracco E et al. HDV replication modulates pathogenesis of HDV in chronic hepatitis D. Hepatology 1991 ; 13:413-416.
 97. Rizzeto M, Verme G. Delta hepatitiw .present status. J Hepatol 1985; 1:187-193.
 98. Hadziyiannis SJ. Delta antigen positive chronic liver disease in Greece: clinical aspects and natural course. Prog Clin Biol Res 1983; 143:209-217.



99. Ottobrelli A, Marzonano A, Smedile A et al. Patterns of hepatitis delta virus reinfection and disease. *Gastroenterology* 1991, 101: 1649-1655.
100. Housset C, Pol S, Carnot F, Dubois F, Nalpas B, Housset B, Berth-Elot P, Brechot C: Interactions between human immunodeficiency virus-1 hepatitis delta virus and hepatitis B virus infections in 260 chronic carriers of hepatitis B virus. *Hepatology* 1992; 15:578-583.
101. Choo Q-L, Kuo G, Weiner AJ, et al. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science* 1989, 244:s359-362.
102. Van der Poel CL, Cuypers HT, Reesink HW. Hepatitis C virus six years on. *Lancet* 1994; 344:1475-1479.
103. Tabor E, Kobayashi K. Hepatitis C virus , a causative infectious agent of non-A, non-B hepatitis: Prevalence and structure-summary of a conference on hepatitis C virus as a cause of hepatocellular carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 1992; 84:86-90.
104. Dusheiko G, Schmilovitz-Weiss H, Brown D, et al. Hepatitis C virus genotypes: an investigation of type -specific differences in geographic origin and disease. *Hepatology* 1994; 19:13-18.
105. Bukh J, Purcell RH, Miller RH. At least 12 genotypes of hepatitis C virus predicted by sequence analysis of the putative E1 gene of isolates collected worldwide. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90:8234-8238.
106. Simmonds P, Alberti A, Alter HJ, et al. A proposed system for the nomenclature of hepatitis C viral genotypes. *Hepatology* 1994;20:1321-1324.
107. Garson JA, Clewley JP, Simmonds P, Zhang LQ, et al. Hepatitis C viraemia in United kingdom blood donors. A multicenter study. *Vox Sang* 1992; 62:218-223.
108. Bassily S, Hyams KC, Fouad RA, Samaan MD, Hibbs RG, A high risk of hepatic C infection among Egyptian blood donors: The role of parenteral drug abuse. *Amer J Trop med* 1995; 52:503-505.
109. Ζερβού Ε, Νταλέκος Γ, Γερολυμάτου Α, Μπούμπα Δ, Τσιάνος Ε. Δείκτες ηπατίτιδας Β και C σε αιμοδοτικό πληθυσμό της Ηπείρου (προς δημοσίευση).
110. Tsianos EV, Dalekos GN, Elisaf M, Zervou E, Siamopoulos KC, High frequency of antibodies to hantaan virus and hepatitis C virus in chronic haemodialysis patients . Coincidence or cross-reaction? *J Intern med* 1993; 234: 607-610.
111. Dalekos GN, Zervou E, Karabini F, Tsianos EV. Prevalence of viral markers among refugees from Southern Albania: increased incidence of infection with hepatitis A and D viruses. *Eur J Gastroent Hepat* 1995; 7:553-558.
112. Alter MJ. Epidemiology of hepatitis C in the West. *Semin Liver Dis* 1995;15:5-14.
113. Pawlotsky JM, Ben Yahia M, Andre C, Voisin MC, Intrator L, Roudot-Thoraval F et al. Immunological disorders in C virus chronic active hepatitis: a prospective case-control study. *Hepatology* 1994; 19: 841-848.
114. Gumber SC, Chopra s: Hepatitis C: A multifaceted disease. *Ann Intern Med* 1995; 123: 615-620.



115. Ντουράκης ΣΠ. Λοίμωξη με τον ιό ηπατίτιδας C και αυτοάνοσες εκδηλώσεις. Ιατρική 1977; 71:334-345.
116. Ντουράκης ΣΠ. Εξωηπατικές εκδηλώσεις και σύνδρομα στην HCV λοίμωξη. Το επεκτεινόμενο σκηνικό. Ηπατίτιδα C . Σ Χατζηγιάννης. Ιατρικές εκδόσεις ΠΧ Πασχαλίδη 1995:58-82.
117. Hadziyannis SJ. Nonhepatic manifestations and combined diseases in HCV infection. Dig Dis Sci 1996; 41:63S-74S.
118. Hadziyannis SJ. The spectrum of extrahepatic manifestations in HCV infection. J Viral Hepat 1997; 4:9-28.
119. Dienstag JL. Non-A , non-B hepatitis . Recognition , epidemiology and clinical features. Gastroenterology 1983; 85:439-462.
120. Koretz RL, Stone O, Gitnick GL. The long-term course of non-A, non-B post-transfusion hepatitis . Gastroenterology 1980; 79:893-898.
121. Koretz RL, Stone O, Mousa M. Non-A , non-B post transfusion hepatitis: a decade later. Gastroenterology 1985; 88:1251-1254.
122. Francis DP, Hadler SC, Prendergast TI et al. Occurrence of hepatitis A, B and Non-A/Non-B in the USA. Am J Med 1984; 76:69-74.
123. Δημητριάδου Ε, Ντουράκης ΣΠ, Χατζηγιάννης ΣΙ. Σημασία του HCV ως αιτιολογικού παράγοντα οξείας ικτερικής ηπατίτιδας . Ηπατίτιδα C .ΣΙ Χατζηγιάννης. Ιατρικές εκδόσεις ΠΧ Πασχαλίδη 1997. Σελ 203-212.
124. Tassopoulos NC. Epidemiology of hepatitis B virus infection. Gastroenterol Hepatol 1993; 16:376-381.
125. Bortolotti F, Cadrobbi P, Armigliato M et al. Acute non-A, non-B hepatitis in childhood. J Pediatr Gastroenterol Nutr 1988; 7:22-26.
126. Barrera JM, Bruguera m, Arcilla MG et al. Persistent hepatitis C viremia after acute selflimiting post-transfusion hepatitis C. Hepatology 1995; 21:639-644.
127. Alter HJ, Purcell RH, shih JW, et al. Detection of antibody to hepatitis C virus in prospectively followed transfusion recipients with acute and chronic non-A, non-B hepatitis. N Engl J Med 1989; 321: 1494-1500.
128. Alter MJ, Hadler SC, Judson FN, et al. Risk factors for acute non-A, non-B hepatitis in the United States and association with hepatitis C virus infection. JAMA 1990; 264:2231-2235.
129. Farci P, Alter HJ, Wong D, Miller RH, Shih JW, Jett B, Purcell RH. A long term study of hepatitis C virus replication in non-A, non-B hepatitis .N Engl J Med 1991; 325:98-104.
130. Alter HJ, Sanchez-Pescador R, Urdea MS et al. Evaluation of branched DNA signal amplification for the detection of hepatitis C virus RNA: J Viral Hepatitis 1995; 2:121-132.
131. Aach RD, Stevens CE, Hollinger FB et al. Hepatitis C virus infection in post-transfusion hepatitis. An analysis with first- and second-generation assays. N Engl J Med 1991; 325:1325-1329.
132. Mattson L, Grillner L, Weiland O. Seroconversion to hepatitis C virus antibodies in patients with acute post-transfusion non-A, non-B hepatitis in Sweden with a second-generation test. Scand J Infect Dis 1992; 24:15-20.
133. Lee S-D, Hwang S-J Lu R-H, Lai K-H, Tsai Y-T, Lo K-J. Antibodies to hepatitis C virus in prospectively followed patients with post-transfusion hepatitis. J Infect Dis 1991; 163:1354-1357.



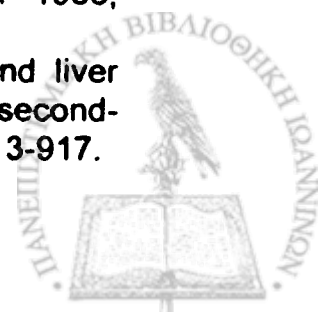
134. Dickson RC. Clinical manifestations of hepatitis C. *Clinics in Liver Diseases* . 1997; 1:569-585.
135. Mattsson L, Sonnerborg A, Weiland O. Outcome of acute symptomatic non-A, non-B hepatitis: a 13 -year follow-up study of hepatitis C virus markers . *Liver* 1993; 13:274-278.
136. Puoti M, Zonaro A, Ravaggi A, Marin MG, Castelnuovo F, Cariani E. Hepatitis C virus RNA and antibody response in the clinical course of acute hepatitis C infection. *Hepatology* 1992; 16:877-881.
137. Hino K, Sainokami S, Shimoda K, Niwa H, Lino S. Clinical course of acute hepatitis C and changes in HCV markers. *Dig Dis Sci* 1994; 39: 19-27.
138. Yano M, Yatsunami H, Inoue O, Inokuchi K, Koga M. Epidemiology and long-term prognosis of hepatitis C virus infection in Japan. *Gut* 1993; suppl: S13-S16.
139. Parana R, Cotrim H, Andrade Z et al. Natural history of acute sporadic hepatitis C in Bahia Brazil: 4 years follow up study. *Hepatology* 1997; 26:434A.
140. Patel A, Sherlock S, Dusheiko G, Scheuer PJ, Ellis LA, Asrafzadeh P. Clinical course and histologic correlations in post-transfusion hepatitis C: the Royal free hospital experience. *Eur J Gastroenterol* 1991; 3: 491-495.
141. Genesca J, Esteban JI, Alter HJ, blood-borne non-A, non-B hepatitis : hepatitis C. *Semin Liver Dis* 1991; 11:147-164.
142. Dittmann S, Roggendorf M, Durkop J, Wiese M, Lorbeer B, Deinhardt. Long term persistence of HCV antibodies in a single source outbreak. *J hepatol* 1991; 13: 323-327.
143. Hwang SJ, Lee SD, Chan CY et al. A randomized controlled trial of recombinant interferon- α 2b in the treatment of Chinese patient with acute post- transfusion hepatitis. *J Hepatol* 1994; 21:835-836.
144. Lampertico P, Rumi MG, Romeo R et al. A multicenter randomized controlled trial of recombinant interferon-alpha 2b in patients with acute transfusion-associated hepatitis C. *Hepatology* 1994; 19: 19-22.
145. Omata M, Yokosuka O, Takamo S et al. Resolution of acute hepatitis C after therapy with natural beta interferon. *Lancet* 1991; 338:914-915.
146. Diepolder HM, Zachoval RZ, Hoffmann RM, Wierenga EA, Santantonio T, Jung MC, Eichenlaub D, Pape GR. Possible mechanism involving T-lymphocyte response to non-structural protein 3 in viral clearance in acute hepatitis C virus infection. *Lancet* 1995;346:1006-1007.
147. Okamoto H, Kojima M, Okada SI. Genetic drift hepatitis C virus during a 8,2-year infection in a chimpanzee: variability and stability. *Virology* 1992; 190:894-899.
148. Weiner AJ, Geysen HM, Christopherson C, Hall JE, Mason TJ, Saracco G, Bonino F, Crawford K, Marion CD, Crawford KA, Brunetto M, Barr PJ , Miyamura T. Evidence for immune chronic HCV infection. *Proc Natl Aca Sci USA* 1992; 89:3468-3472.
149. Lesniewski RR, Boardway KM, Casey JM, Desai SM, Devare SG; Leung TK, Mushahwar IK. Hypervariable 5'-terminus of hepatitis C virus E2/NS1 encodes antigenically distinct variants. *J Med Virol* 1993; 40:150-156.



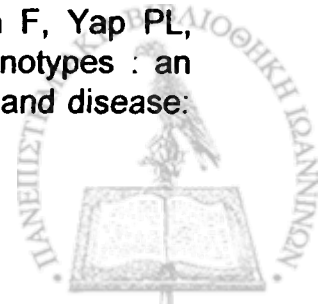
150. Wyke RJ, Tsiquaye KN, Thornton A et al. Transmission of NANB hepatitis to chimpanzees by factor IX concentrates after fatal complications in patients with chronic liver disease. *Lancet* 1979;1:520-524.
151. Norkrans G. Clinical epidemiological and prognostic aspects of hepatitis A, B and NANB. *Scand J Infect Dis* 1978; 17:1-44.
152. LaQuaglia MP, Tolkoff-Rubin NE; Dienstag JL et al. The impact of hepatitis on renal transplantation. *Transplantation* 1981; 32:504-507.
153. Ware AJ, Luby JP, Hollinger FB et al. Etiology of liver disease in renal-transplant patients. *Ann Intern Med* 1979; 91:364-371.
154. Dienstag JL, Alaama A, Mosley JW et al. Etiology of sporadic hepatitis B surface antigen-negative hepatitis. *Ann Intern med* 1977; 87:1-6.
155. Alter H. The hepatitis c virus and its relationship to the clinical spectrum of NANB hepatitis. *J Gastroenterol Hepatol* 1990; Suppl 1: 78-94.
156. Honda M, Kaneko S, Sakai A et al. Degree of diversity of hepatitis C quasispecies and progression of liver disease. *Hepatology* 1994; 20: 1144-1151.
157. Farci P, Melpolder JC, Shimoda A et al. Studies of HCV quasispecies in patients with acute resolving hepatitis compares with those who progress to chronic hepatitis. *Hepatology* 1996; 24:350A.
158. Santantonio T, Casalino C, Guastadisegni A et al. Clinical and serological characteristics of patients with self-limiting or chronic evolving hepatitis C: a prospective study. *Hepatology* 1997; 26:303A.
159. Alter M, Margolis H, Krawczynski K, Judson F, Mares A, Alexander J, Hu P, Miller J, Gerber M, Sampliner R, Meeks E, Beach M. The natural history of community-acquired hepatitis C in the United States. *N Engl J med* 1992; 327: 1899-1905.
160. Alter MJ, Sampliner RE. Hepatitis C and miles to go before we sleep. *N Engl J Med* 1989; 321:1538-1539.
161. Bortolotti F, Jara P, Diaz C et al. Post-transfusion and community-acquired hepatitis C in childhood. *J Pediatric Gastroenterologic Nutrition* 1994; 18:279-283.
162. Koziel MJ, Dudley D, Afdhal N, Choo QL, Houghton M, Ralston R, Walker BD. Hepatitis C virus specific cytotoxic lymphocytes recognize epitopes in the core and envelop proteins of HCV. *J Virol* 1993; 67:7522-7532.
163. Norkrans G, Frosner G, Herdmodsson S et al. Clinical, epidemiological and prognostic aspects of hepatitis NANB. A comparison with hepatitis A and B. *Scand J Infect Dis* 1979; 11:259-264.
164. Hoofnagle JH, Carithers RL, Shapiro C, Ascher N. Fulminant hepatic failure: summary of a workshop. *Hepatology* 1995; 21:240-252.
165. Liang TJ, Jeffers L, Reddy RK, et al. Fulminant or subfulminant non-A, non-B viral hepatitis: the role of hepatitis C and E viruses. *Gastroenterology* 1993; 19:829-835.
166. Farci P, Alter HJ, Shimoda A et al. Hepatitis C virus associated fulminant hepatic failure. *N Engl J Med* 1996; 335:631-634.
167. Wu JC, Chen CL, Hou MC et al. Multiple viral infection as the most common cause of fulminant and subfulminant viral hepatitis in an area endemic for hepatitis B: application and limitation of the polymerase chain reaction. *Hepatology* 1994; 19:836-840.



168. Chu CM, Sheen IS, Liaw YF. The role of hepatitis C virus in fulminant viral hepatitis in an endemic area of hepatitis A and B. *Gastroenterology* 1994; 107:189-195.
169. Lim HL, Davis GL, Dolson DJ, Lau JYN. Progressive cholestatic hepatitis leading to subfulminant hepatic failure in an immunosuppressed patient with organ transmitted hepatitis C virus infection. *Gastroenterology* 1994; 106: 248-251.
170. Fagan AE. Acute liver failure of unknown pathogenesis: the hidden agenda. *Hepatology* 1994; 19:1307-1312.
171. Finicky M, Kato K, Komatsu M et al. Fulminant hepatitis caused by hepatitis C virus during treatment for multiple sclerosis. *J Gastroenterol* 1996; 31:119-122.
172. Gruber A, Lundberg LG, Bjorkholm M. Reactivation of chronic hepatitis C after withdrawal of immunosuppressive therapy. *J Int Med* 1993; 234:225-233.
173. Lok AS, Liang RH, Chiu EKW, Wong KL, Chan TK, Todd D. Reactivation of hepatitis B virus replication in patients receiving cytotoxic therapy. Report of a prospective study. *Gastroenterology* 1991; 100:182-188.
174. Thomas HC. Acute liver decompensation on withdrawal of cytotoxic chemotherapy and immunosuppressive therapy in hepatitis B carriers : implications for the treatment of chronic HBV carriers. *Q J Med* 1989; 270:8873-8874.
175. Galbraith RM, Eddleston AL, Williams R, Zuckerman AJ, Bagshawe KD. Fulminant hepatic failure in leukemia and choriocarcinoma related to withdrawal of cytotoxic drug therapy. *Lancet* 1975; ii:528-530.
176. Prieto M, Olaso V, Verdu C et al. Does the healthy hepatitis C virus carrier state really exist? An analysis using polymerase chain reaction. *Hepatology* 1995; 22:413-417.
177. Shindo E, Arai K, Sokowa Y, Okuno T. The virological and histological states of anti-hepatitis C virus -positive subjects with normal liver biochemical values. *Hepatology* 1995; 22:418-425.
178. Kodama T, Tamaki T, Katabami S, Katamuma A, Yamashita K, Azuma N, Kamijo K, Kinoshita H, Yachi A. Histological findings in asymptomatic hepatitis C virus carriers : *J Gastroenterol Hepatol* 1993; 8:403-405.
179. Rumi MG, Colombo M, Gringeri A et al. High prevalence of antibody to hepatitis C virus in multitransfused haemophiliacs with normal transaminase levels. *Ann Intern Med* 1990; 112: 379-380.
180. Alberti A, Chemello L, Cavalletto D, Tagger A, Dal Canton A, Bizzaro N, Tagariello G, Ruol A. Antibody to hepatitis C virus and liver disease to volunteer blood donors. *Ann Intern med* 1991; 11:1010-1024.
181. Berman M, Alter HJ, Ishak KJ, Purcell RH. The chronic sequelae of non-A, non-B hepatitis. *Ann Intern Med* 1979; 91:1-6.
182. Mattson L, Weiland O, Glaumman H. Long-term follow-up of chronic post-transfusion NANB: clinical and histological outcome. *Liver* 1988; 8:184-188.
183. Zanella a, Conte D, Prati D et al. Hepatitis c virus RNA and liver histology in blood donors reactive to a single antigen by-second-generation recombinant immynoblot assay. *Hepatology* 1995; 21:913-917.



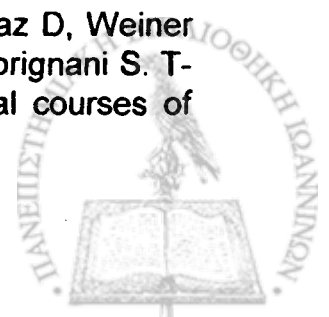
184. Schmilovitz-Weiss H, Levy M, Thompson N, Dusheiko G. Viral markers in the treatment of hepatitis B and C. *Gut* 1993; suppl: S26-S35.
185. Brillanti S, Foli M, Gaiani S, Masci C, Miglioli M, Barbara L. Persistent hepatitis C viraemia without liver disease. *Lancet* 1993; 341:464-465.
186. Bellentani S, Tiribelli C, Saccoccio G, Sodde M, Fratti n, De Martin C et al. Prevalence of chronic liver disease in the general population of northern Italy : The Dionysos study. *Hepatology* 1994; 20:1442-1449.
187. Feray C, Gigou M, Samuel D, Paradis V, Wilber J, David MF et al. The course of hepatitis c virus infection after liver transplantation. *Hepatology* 1994; 20:1137-1143.
188. Takahashi M, Yamada g, Miyamoto R, Doi t, Endo H, Tsuji T. Natural course of chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol* 1993; 88:240-243.
189. Roberts JM, searle JW, Cooksley WGE. Histological patterns of prolonged hepatitis C virus infection. *Gastroenterol JPN* 1993; 28:901-905.
190. Poynard T, Bedossa P, Opolon P et al. Natural history of liver fibrosis in patient with chronic hepatitis C. *Lancet* 1997; 349:825-832.
191. Fattovich G, Giustina G, Degos F et al. Morbidity and mortality in compensated cirrhosis type C: A retrospective follow -up study of 384 patients. *Gastroenterology* 1997; 112:463-472.
192. Tanaka E, Kiyasawa K, Sodeyama T. Significance of antibodies to hepatitis C virus in Japanese patients with viral hepatitis: relationship between anti-HCV antibodies and the prognosis of non-A, non-B post-transfusion hepatitis. *J Med Virol* 1991; 33:117-122.
193. Calvo PL, Manzini P, Oliveri F, Abate ML, Saracco G, Rosina F, Callea F, Abrignani S, Verme G, Bonino F, Brunetto MR. Natural history of chronic HCV infection: transition from disease to asymptomatic carriage and recovery. *J Hepatol* 1993; Suppl 1:S10.
194. Sherlock S. European livers. 1993; 342: 1127-1128.
195. Garcia-monzon C, P Jara , L Hierro, C Diaz, A Delavega, E Frauca , C Camarena , J Larrauri, L Garcia-Buey and R Moreno-Otero. Clinical aspects and histological-immunohistochemical analysis of chronic hepatitis C in children. *Hepatology* 1996; 24:392A.
196. Kato N, Yokosuka O, Hosoda K, Ito Y, Ohto M, Omata M. Quantification of hepatitis C virus by competitive reverse transcription-polymerase chain reaction: increase of the virus in advanced liver disease. *Hepatology* 1993; 18:16-20.
197. Gretch D, Corey I, Wilson J et al. Assessment of hepatitis C virus RNA levels by quantitative competitive RNA polymerase chain reaction: High-titer viremia correlates with advanced stage of disease. *J Infect Dis* 1994; 169:1219-1225.
198. Yosioka K, Kakumu S, Wakita T, Ishikawa T, Itoh Y, Takayanagi M, Higashi Y, Shibata M, morishima T. Detection of hepatitis C virus by polymerase chain reaction and response to interferon-alpha therapy: relationship to genotypes of hepatitis C virus. *Hepatology* 1992; 16:293-299.
199. Dusheiko G, Schmilovitz-Weiss H, Brown D, McOmish F, Yap PL, Sherlock S, McIntyre N, Simmonds P. Hepatitis C virus genotypes : an investigation of type specific differences in geographic origin and disease. *Hepatology* 1994; 19:13-18.



200. Lau JY, Davis GL, Kniffen J, Qian K-P, Urdea MS, Chan CS, Mizokami M, Neuwald PD, Wilber JC. Significance of serum hepatitis C virus RNA levels in chronic hepatitis C. *Lancet* 1993; 341:1501-1504.
201. Nousbaum JB, Pol S, Nalpas B et al. Hepatitis C virus type 1b infection in France and Italy. *Ann Intern Med* 1995; 122:161-168.
202. Colombo M. Hepatocellular carcinoma in cirrhotics. *Seminars in Liver Dis* 1993; 13:374-383.
203. Cha TA, Beall E, Irvine B, Kolberg J, Chien D, Kuo G, Urdea MS. At least five related but distinct hepatitis C viral genotypes exist. *Proc Natl Aca Sci USA* 1992; 89:7144-7148.
204. Takada N, Takase S, Enomoto N, Takada A, Date TT. Clinical backgrounds of the patients having different types of hepatitis C virus genomes. *J Hepatol* 1992;14:35-40.
205. Kobayashi M, Tanaka E, Sodeyama T et al. The natural course of chronic hepatitis C: A comparison between patients with genotypes 1 and 2 hepatitis C viruses. *Hepatology* 1996;23:695-699.
206. Tanaka E, Kiyosawa T, Ishikawa K et al. Epidemiology of genotypes of hepatitis C virus in Japanese patients with type C chronic liver disease: a multiinstitution analysis. *J Gastroenterol Hepatol* 1995; 10:538-545.
207. Ichimura H, Tamura I, Kurimura O et al. Hepatitis C virus genotypes , reactivity to recombinant immunoblot assay-2 antigens and liver disease. *J Med Virol* 1994; 43:212-215.
208. Rozzatto G, Morretti M, Franzin F, Croce LS, Tribelli C, Masayu T, Kaneko S et al. Severity of liver disease with different hepatitis C viral clones. *Lancet* 1991; 338:509.
209. Silini E, Bono F, Cividini A, Cerino A, Bruno S, Rossi S et al. Differential distribution of hepatitis C virus genotypes in patients with and without liver function abnormalities. *Hepatology* 1995;21:285-290.
210. Romeo R, Tommasini MA, Rumi MG et al. Genotypes in the progression of hepatitis C related cirrhosis and development of hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 1996; 24:153.
211. Zhou S, Terrault NA, Ferrell L et al. Severity of liver disease in liver transplant recipients with hepatitis C virus infection: relationship to genotypes and level of viremia. *Hepatology* 1996; 24:1041-1046.
212. Lau JYN, Davis GL, Prescott LE et al. Distribution of hepatitis C virus genotypes determined by line probe assay in patients with chronic hepatitis C seen in tertiary referral centers in the United States. *Ann Intern med* 1996; 124:868-876.
213. Naito M, Hayashi N, Moribe T et al. Hepatitis C viral quasispecies in hepatitis C virus carriers with normal liver enzymes and patients with type C chronic liver disease. *Hepatology* 1995; 22:407-412.
214. Takano S, Yokosuka O, Imazeki F. Incidence of hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis B and C: a prospective study of 251 patients *Hepatology* 1995;21:650-655.
215. Preston FE, Jarvis LM, Makris M et al. Heterogeneity of hepatitis C virus genotypes in hemophilia: relationship with chronic liver disease. *Blood* 1995; 85:1259-1262.



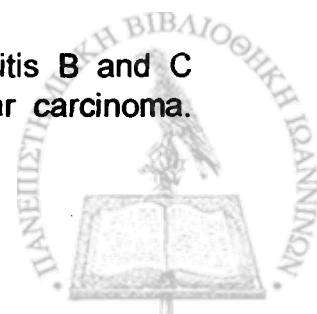
216. Pol S, Thiers V, Noursbaum JB et al. The changing relative prevalence of hepatitis C virus genotypes : evidence in hemodialyzed patients and kidney recipients. *Gastroenterology* 1995; 108:581-583.
217. Li JS , Tong SP, Vitviski L, Lepot D, Trepo C. Evidence of two major genotypes of hepatitis C virus in France and close relatedness of the predominant one with prototype virus. *J Hepatol* 1991; 13:S33-S37.
218. Martell LM, Esteban JL, Qyer J, Genesca J, Weiner A, Esteban R, Guardia J, Gomez J. Hepatitis C virus circulates as a population different but closely related genomes quasispecies nature of HCV genome distribution. *J Virol* 1992; 66:3225-3229.
219. Honda M, Kaneko S, Sakai A et al. Degree of diversity of hepatitis C virus Quasispecies and progression of liver disease. *Hepatology* 1994;20:1144-1151.
220. Shindo M, Arai K, Sokawa Y, Okuno T. The virological and histological states of antihepatitis C virus -positive subjects with normal liver biochemical values. *Hepatology* 1995;22:418-425.
221. Muller R. The natural history of hepatitis C. Clinical experiences. *J Hepatol* 1996;24(Suppl): 52-54.
222. Conry-Cantilena C, Van Raden M, Gible J et al. Routes of infection , viremia and liver disease in blood donors found to have hepatitis C virus. *N Engl J Med* 1996;334:1691-1696.
223. Alter HJ, Conry-Cantilena C, Melpolder J et al. Hepatitis C in asymptomatic blood donors. *Hepatology* 1997; 26: 8Suppl 1): 29S-33S.
224. Pontisso P, Ruvoletto MG, Fattovich G et al. Clinical and virological profiles in patients with multiple hepatitis virus infections. *Gastroenterology* 1993;105: 1529-1533.
225. Hagiwara H, Hayashi N, Mita E, Naito M, Kasahara A, Fusamoto H, Kamada T. Quantification of hepatitis C virus RNA in serum of asymptomatic blood donors and patients with type C chronic liver disease. *Hepatology* 1993; 17:545-550.
226. Seeff LB, Buskell-bales Z, Wright EC, Durako SJ, Alter HJ, Iber FL, Hollinger B, Gitnick G, Knodell RG, Perrillo RP, Stevens CE, Hollingsworth CG. Long-term mortality after transfusion-associated non-A , non-B hepatitis. *N Engl J Med* 1992;327:1906-1911.
227. Yano M, Kumada H, Kage M, Ikeda K et al. The long term pathological evolution of chronic hepatitis C. *Hepatology* 1996; 23:1334-1340.
228. Weise M. Natural course of hepatitis C: 15-year analysis in an unselected group with an identical parenteral infection. *J Hepatol* 1995; 23:89.
229. Esteban-Mur JL. Viral hepatitis C: progression to chronicity. *Second International Symposium on HCV* 1990; 30.
230. Lai ME, De Virgillis S, Argioli F et al. Evaluation of antibodies to hepatitis c virus in a long-term prospective study of post-transfusion hepatitis among thalasemic children :comparison between first-and second-generation assay. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1993; 16:458-464.
231. Botarelli P, Brunetto MR, Minutello MA, Calvo P, Unutmaz D, Weiner AJ, Choo Q-L, Shuster JR, Kuo G, Bonino F, Houghton M, Abrignani S. T-lymphocyte response to hepatitis C virus in different clinical courses of infection. *Gastroenterology* 1993, 104:580-587.



232. Ferrari C, Valli A, Galati L et al. T-cell response to structural and nonstructural hepatitis C virus antigens in persistent and self-limited hepatitis C infections. *Hepatology* 1994; 19:286-295.
233. Aikawa T, Kojima M, Onishi H et al. HLA DRB1 and DQB1 alleles and haplotypes influencing the progression of hepatitis C. *J Med Virol* 1996; 49: 274-278.
234. Haruna Y, Miyamoto T, Kanda T, Yasunami R, Yoshihara R, Fushimi H, Koto K. Histological findings in livers of chronic hepatitis C are associated with human leukocyte antigen DR. *Hepatology* 1996; 24:383A.
235. Kuzushita N, Katayama K, Moribe T, Kaneshige T, Nakatani S, Kanto T, Mochizuki K, Ito A, Sasaki Y, Kasahara A, Hayashi N. HLA DRB1*1302 and HLA B54 are associated with maintenance of asymptomatic of hepatitis C virus-carriers in Japan. *Hepatology* 1996;24:378A.
236. Zavaglia C, Bortolon C, Ferrioli G et al. HLA typing in chronic hepatitis B, D and C. *J Hepatol* 1996; 24:658-665.
237. Peano G, Menardi G, Ponzetto A, Fenoglio LM. HLA-DR5 antigen. A genetic factor influencing the outcome of hepatitis C virus infection? *Arch Intern Med* 1994; 154:2733-2736.
238. Kuzushita N, Hayashi N, Katayama K et al. Increased frequency of HLA DR 13 in hepatitis C virus carriers with persistently normal ALT levels. *J Med Virol* 1996; 48:1-7.
239. Czaja AJ, Carpenter H, Santrach PJ, Moore SB. DR human leukocyte antigens and disease severity in chronic hepatitis C. *J Hepatol* 1996; 24:666-673.
240. Blair CS, Haydon GH, McColl M, Yap PL, Hayes PC. HLA status and severity and progression of chronic hepatitis C virus infection. *Hepatology* 1996; 24: 143A.
241. Zavaglia C, Martinetti M, Silini E et al. Association between HLA class II alleles and protection from or susceptibility to chronic hepatitis C. *J Hepatol* 1998; 28:1-7.
242. Gane EJ, Carucci P, Rossol SR, Portmann BC, Hussain M, Naoumov NV, Williams R. Are immune mechanisms involved in liver graft damage following HCV recurrence? *Hepatology* 1996; 24: 294A.
243. Lau JYN, Davies SE, Bain VG et al. High level expression of hepatitis B viral antigen in fibrosing cholestatic hepatitis: Evidence that HBV may be cytopathic in liver grafts. *Gastroenterology* 1992; 102:956-958.
244. Rosen HR, Friedman LS, Martin P. Hepatitis C in renal dialysis and transplant patients. *J Virol Hepatitis* 1996; 2: 97-110.
245. Pol S, Legendre C, Saltiel C, Carnot F, Brechot C, Berthelot P, Mattlinger B, Kreis H. Hepatitis C virus in Kidney recipients. Epidemiology and impact on renal transplantation. *J Hepatol* 1992; 15:202-206.
246. Hanafusa T, Ichikawa Y, Kyo M et al. Long-term impact of hepatitis virus infection on kidney transplant recipient and a pilot study of the effects of interferon alpha on chronic hepatitis C. *Transplantation Proceed* 1995; 27:956-957.
247. Fong T, Valinkluck B, Govindarajan S, et al. Short-term prednisone therapy affects aminotransferase activity and hepatitis C virus RNA levels in chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 1994; 107:196-199.



248. Eyster ME, Diamondstone LS, Lien J-M, Ehmann WC, Quan S, Goedert JJ. Natural history of hepatitis C virus infection in multitransfused hemophiliacs: effect of coinfection with human immunodeficiency virus. *J AIDS* 1993; 6:602-610.
249. Areias J, Pedroto J, Freitas T et al. Interferon -a 2b treatment of chronic active hepatitis C in patients co-infected with the human immunodeficiency (HIV): HCV viremia quantified by B-DNA and genotyping analysis. *Hepatology* 1995;22:115A.
250. Webster ADB, Spickett GP, Thomson BJ, Farrant J. Viruses and antibody deficiency syndromes. *Immunol Invest* 1988; 17:93-105.
251. Bjoro K, Froland S, Yun Z et al. Hepatitis C infection in patients with primary hypogammaglobulinemia after treatment with contaminated immune globulin. *N Engl J Med* 1994; 331:1607-1611.
252. Kumar U, Monjardino J, Thomas HC. Hypervariable region of hepatitis C virus envelope glycoprotein (E2/NS1) in an agammaglobulinemic patient. *Gastroenterology* 1994; 106: 1072-1076.
253. Inui A, Fujisawa T, Miyagawa Y et al. Histologic Activity of the liver in children with transfusion-associated chronic hepatitis C. *J Hepatol* 1994;21:748-753.
254. Kanamori H, Fukawa H, Maruta A et al. Case report: fulminant hepatitis C viral infection after allogeneic bone marrow transplantation. *Am J Med Sci* 1992;303:109-111.
255. Gaeta GB, Rapicetta M, Sardaro C et al. High prevalence of co-occurrence of anti-HCV and anti-HBc antibodies in chronic hepatitis from southern Italy. *Ital J Gastroenterol* 1990;22:350-351.
256. Pontisso P, Ruvoletto MG, Fattovich g et al. Clinical and virological profiles in patients with multiple hepatitis virus infection. *Gastroenterology* 1993; 105:1529-1533.
257. Sato S, Fujiyama S, Tanaka M et al. Co-infection of hepatitis C virus in patients with chronic hepatitis B infection. *J Hepatol* 1994; 21:159-166.
258. Ohkawa K, Hayashi N, Yuki N et al. Hepatitis C virus antibody and hepatitis C virus replication in chronic hepatitis B patients. *J Hepatol* 1994; 21:509-514.
259. Liaw YF, Tsai JJ, Sheen IS et al. Displacement of hepatitis B virus by hepatitis C virus as the cause of continuing chronic hepatitis. *Gastroenterology* 1994; 106:1048-1053.
260. Villari D, Pernice M, Spinella S et al. Chronic Hepatitis with active hepatitis B virus and hepatitis C virus combined infections: a histological study. *Am J Gastroenterol* 1995;90:955-958.
261. Liaw YF. Role of hepatitis C virus in dual and triple hepatitis virus infection. *Hepatology* 1995;22:1101-1108.
262. Zarski JP, Bohn B, Bastie A et al. Characteristics of patients with dual infection by hepatitis B and C viruses. *J Hepatol* 1998; 28:27-33.
263. Chen DS, Kuo G, Sung JL et al. Hepatitis C virus infection in an area hyperendemic for hepatitis B and chronic liver disease: the Taiwan experience. *J Infect Dis* 1990;162:817-822.
264. Kaklamani E, Trichopoulos D, Tzonou A et al. Hepatitis B and C viruses and their interaction in the origin of hepatocellular carcinoma. *JAMA* 1991; 265:1974-1976.



265. Benvegna L, Fattovich G, Noventa F et al. Concurrent hepatitis B and C viruses infection and risk of hepatocellular carcinoma in cirrhosis. A prospective study. *Cancer* 1994; 74:2442-2448.
266. Chiba T, Matsuzaki Y, Abei M et al. The role of previous hepatitis B virus infection and heavy smoking in hepatitis C virus-related hepatocellular carcinoma. *Am J Gastroenterology* 1996;91:119-203.
267. Vento S, Garofano T, Renzini C et al. Fulminant hepatitis associated with hepatitis A virus superinfection in patients with chronic hepatitis C. *N Engl J Med* 1998;338:286-290.
268. Pawlotsky JM, Roudot-Thoraval F, Pellerin M, Germanidis G, Desai S, Muerhoff AS, Bastie A et al. GBV-C infection in HCV-infected patients: epidemiological characteristics, influence on HCV infection and response to interferon alpha therapy. *Hepatology* 1996;24:226.
269. Alter MJ, Gallagher M, Morris TT, Moyer LA, Meeks EL, Krawczynski K, Kim JP et al. Acute non-A-E hepatitis in the United states and the role of hepatitis G virus infection. *N Engl J Med* 1997;363:741-746.
270. Alter HJ, Nakatsuji Y, Melpolder J, Wages J, Weelay R, Shih JW, Kim JP. The incidence of transfusion-associated hepatitis G virus infection and its relation to liver disease. *N Engl J Med* 1997;336:747-754.
271. Oshita M, Mita E, Ito K, Ueda K, Ishida H, Sasaki Y, Kasahara A et al. Hepatitis G virus infection in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 1996;24:227.
272. Nakatsuji Y, Shih JWK, Kobayashi M, Tanaka E, Kiyosawa K, Kim JP, Alter HJ. Hepatitis G virus infection in Japanese patients with hepatitis C virus. *Hepatology* 1996;24:227.
273. Bralet MP, Roudot-Thoraval F, Pawlotsky JM, Bastie A, Tran Van Nhieu J, Duval J et al. Histopathologic impact of GB virus C infection on chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 1997; 112:188-192.
274. Tzonou A, Trichopoulos D, Kaklamani E, Kakhani E, Zavitsanos X, Koukmantaki Y, Hsieh CL. Epidemiologic assessment of interactions of hepatitis -C virus with seromarkers of hepatitis -B and -C viruses cirrhosis and tobacco smoking in hepatocellular carcinoma. *Int J Cancer* 1991;49:377-380.
275. Nomura A, Stemmermann GN, Chyou PH, Tabor E. Hepatitis B and C serologies among Japanese Americans with hepatocellular carcinoma. *J Infect Dis* 1996; 173:1474-1476.
276. Brillanti S, Barbara L, Miglioli M et al. Hepatitis C virus : a possible cause of chronic active hepatitis in alcoholics. *Lancet* 1989;ii:1390-1391.
277. Esteban JI, Esteban R, Viladomiu L et al. Hepatitis C virus antibodies among risk groups in Spain. *Lancet* 1989;ii:294-296.
278. Nalpas B, Freitelsohl M, Brechot C et al. Alcohol hepatotropic viruses and hepatocellular carcinoma. *Alcohol Clin Exp Res* 1995;19:1089-1095.
279. Miyakawa H, Sato C, Izumi N, et al. Hepatitis C virus infection in alcoholic liver cirrhosis in Japan: its contribution to the development of hepatocellular carcinoma. *Alcohol Alcoholism Suppl* 1993; 1A: 85-90.
280. Sata M, Fukuizumi K, Uchimura Y, Nakano H, Ishi K, Kumashiro R, Mizokami M et al. Hepatitis c virus infection in patients with clinically diagnosed alcoholic liver disease. *J Viral Hepatitis* 1996; 3:143-148.



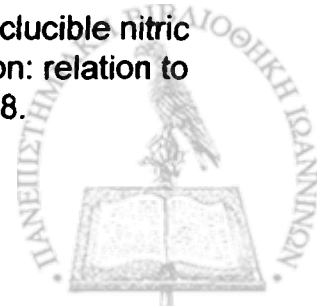
281. Befrits R, Hedman M, Blomquist L, Allander T, Grillner L, Kinnman N, Rubio C et al. Chronic hepatitis c in alcoholic patients: prevalence, genotypes and correlation to liver disease. *Scand J Gastroenterol* 1995; 30:1113-1118.
282. Takase S, Takada N, Enomoto N, Yasuhara M, Takada A. Different types of chronic hepatitis in alcohol patients: does chronic hepatitis induced by alcohol exist? *Hepatology* 1991;13:876-881.
283. Mendenhall C L, Moritz T, Rouster S, Roselle G, Polito A, Quan S, Kinelle R et al. Epidemiology of hepatitis C among veterans with alcoholic liver disease. *Am J Gastroenterol* 1993; 88:1022-1026.
284. Yamauchi M, Nakahara M, Maexawa Y et al. Prevalence of hepatocellular carcinoma in patients with alcoholic cirrhosis and prior exposure to hepatitis C. *Am J Gastroenterol* 1993;88:39-43.
285. Sato Y, Okabe K. Studies on the incidence of hepatocellular carcinoma in heavy drinkers with liver cirrhosis. *Alcohol Alcoholism Suppl* 1993; 1B: 109-114.
286. Oshita M, Hayashi N, Kasahara A et al. Increased serum hepatitis C virus RNA levels among alcoholic patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 1994;20:1115-1120.
287. Serfaty L, Chazouilleres O, Poujol-Robert A et al. Risk factors for cirrhosis in patients with chronic hepatitis C virus infection : results of a case-control study. *Hepatology* 1997;26:776-779.
288. Schiff ER. Hepatitis C and alcohol. *Hepatology* 1997;26(suppl 1): 39S-42S.
289. Cromie SL, Jenkins PJ, Bowden DS et al. Chronic hepatitis C: effect of alcohol on hepatic activity and viral titre. *J Hepatol* 1996; 25:821-826.
290. Mendenhall CL, Seeff L, Diehl AM, Ghosn SJ, French SW, Gartside PS, Rouster SD, Buskel-Bales Z, Grossman CJ et al. Antibodies to HBV and HCV in alcoholic hepatitis and cirrhosis: Their prevalence and clinical relevance. *Hepatology* 1991; 14: 581-589.
291. Shiomi S, Kuroki T, Minomitano S, Ueda T, Nishiguchi S, Nakajima S, Seki S et al. Effect of drinking on the outcome of cirrhosis in patients with hepatitis B and C. *J Gastroenterol Hepatol* 1992; 7:274-276.
292. Caldwell SH, Li X, Rourk RM, Millar A, Sosnowski KM, Sue M, Barritt AS et al. Hepatitis C infection by polymerase chain reaction in alcoholics: false positive ELISA results and the influence of infection on a clinical prognostic score. *Am J Gastroenterol* 1993; 88:1016-1021.
293. Nishiguchi S, Kuroki T, Yabusako T, Seki S, Koboyashi K, Monna T, Otani S et al. Detection of hepatitis c virus RNA in patients with alcoholic liver disease. *Hepatology* 1991;14:985-989.
294. Uchimura Y, Sata M, Kage M, Abe H, Tanikawa K. A histopathological study of alcoholics with chronic HCV infection: comparison with chronic hepatitis C and alcoholic liver disease. *Liver* 1995; 15:300-306.
295. Γ.Μπαλταγιάννης , Χ. Μηλιώνης , Αθ.Βλαχόπουλος , Ν.Τζαμπούρας , Α.Τσατσούλης , Ε. Τσιάνος. Υποξεία κοκκιωματώδης ή γιγαντοκυτταρική θυρεοειδίτιδα του De Quervain σε ασθενή με αντισώματα κατά του ιού ηπατίτιδας C (αντι-HCV θετικά). 15' Πανελλήνιο Συνέδριο Γαστρεντερολογίας Θεσσαλονίκη 1995.



296. Misiiani R, Bellavita P, Fenili D, Borelli G, Marchesi D, Massazza M et al. Hepatitis C virus infection in patients with essential mixed cryoglobulinemia. *Ann Intern Med* 1992; 117:573-577.
297. Durand JM, Lefevre Harle JR. Cutaneous vasculitis and cryoglobulinemia type II associated with hepatitis C virus infection. *Lancet* 1991;i:499-500.
298. Chung RT, Angello V, Weiner NJ, Dienstag JL, Kaplan LM. A role for hepatitis C virus infection in the pathogenesis of essential mixed cryoglobulinemia: Selective concentration of HCV antigen and RNA in cryoprecipitates. *Gastroenterology* 1992; 102:794A.
299. Angello V, Chung R, Kaplan L. A role for hepatitis C virus infection in type II cryoglobulinemia. *N Engl J Med* 1992 ;327:1490-1495.
300. Alberti A, Pontisso P. Hepatitis viruses as etiological agents of hepatocellular carcinoma. *Ital J Gastroenterol* 1991;23:452-456.
301. Okuda K, Okuda H. Primary liver cell carcinoma . In McIntyre N, Benhamou J-P, Bircher J, Rizzetto M, Rodes J, Eds. *Oxford Textbook of Clinical Hepatology*. New York: Oxford University Press, 1991;pp 1019-1053.
302. Lee S-D , Lee F-Y, Wu J-C et al. The prevalence of anti-hepatitis C virus among Chinese patients with hepatocellular carcinoma. *Cancer* 1992; . 69:342-345.
303. Kew MC, Yu MC, Kedda MA, et al. The relative roles of hepatitis B and C viruses in the etiology of hepatocellular carcinoma in Southern African blacks: *Gastroenterology* 1997; 112:184-187.
304. Kew MC. Hepatic tumours and cysts. In : Sleisenger and Fordtran's (eds) *Gastrointestinal and liver disease*, 6th ed , Philadelphia, W.B. Saunders Co, 1998;pp 1364-1387.
305. Sherlock S, and Dooley J. Hepatic tumors . In: *Diseases of the liver and biliary system* 9th ed. Oxford Blackwell Scientific Publications 1993; pp 503-531.
306. Hadziyannis S. Hepatocellular carcinoma and type B hepatitis. *Clin. Gastroenterol.* 1980;9:117-134.
307. Okuda K, Kondo Y. Primary carcinoma of the liver. In : Berk (eds) *Bochus Gastroenterology*, W.B. Saunders Co, Philadelphia 1995; pp 2444-2487.
308. Brichot C. Hepatitis B and C viruses and primary liver cancer. *Bailliere's clinical Gastroenterol Viral Hepatitis* 1996; 10:335-373.
309. Johnson RC. Hepatocellular carcinoma. *Hepato-Gastroenterol.* 1997; 44:307-312.
310. Kew MC. Hepatitis B virus -induced hepatocellular carcinoma. *GI Cancer* 1996; 1:143-148.
311. Brichot C. Hepatitis B virus (HBV) and hepatocellular carcinoma. HBV DNA status and its implications. *Jour of Hepatology* 1987;4:269-279.
312. Oguey D, Dumenco LL, Pierce RH, et al. Analysis of the tumorigenicity of the gene of hepatitis B virus in a nontransformed hepatocyte cell line and the effects of contransfection with a murine p53 mutant equivalent to human codon 249. *Hepatology* 1996;24:1024-1033.
313. Manns MP, Kubicka S. Hepatocellular carcinoma . *Digestion* 1997; 58(Suppl1):69-75.



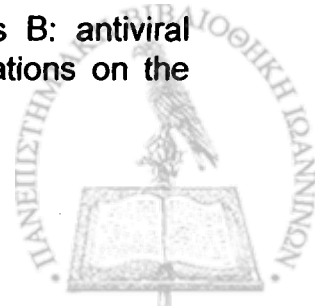
314. Di Bisceglie AM. Hepatitis C and hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 1997; 26(suppl 1) :34S-38S.
315. Di Bisceglie AM, Simpson LH, Lotze MT, Hoofnagle JH. Development of hepatocellular carcinoma among patients with chronic liver disease due to hepatitis C viral infection. *J Clin Gastroenterology* 1994;19:222-226.
316. Shiratori Y, Shina S, Imamura M, Kato N, Kanai F, Okudaira T, Teratani T, et al. Characteristic difference of hepatocellular carcinoma between hepatitis B- and C-viral infection in Japan. *Hepatology* 1995;22:1027-1033.
317. Okuda K. Hepatocellular carcinoma associated with hepatitis B and C virus infections: Are they any different? *Hepatology* 1995;22:1883-1885.
318. Tanaka K, Hirohata T, Ikematsu H, Kashiwagi S. Hepatitis C virus infection and risk of hepatocellular carcinoma among Japanese: possible role of type 1b (II) infection. *J Natl Cancer Inst* 1996;88:742-746.
319. Silini E, Botteli R, Asti M, Bruno S, Candusso ME, Brambilla S, Bono F, et al. Hepatitis C virus genotypes and risk of hepatocellular carcinoma in cirrhosis: a case-control study. *Gastroenterology* 1996; 111:199-205.
320. Hatzakis A, Katsoulidou A, Kaklamani E, Touloumi G, Koumantaki Y, Tassopoulos NC, Karvountzis G et al. Hepatitis C virus 1b is the dominant genotype in HCV-related carcinogenesis: a case-control study. *Int J Cancer* 1996;68:51-53.
321. Benvegna L, Pontisso P, Cavalletto D, Noventa F, Chemello L, Alberti A. Lack of correlation between hepatitis C virus genotypes and clinical course of hepatitis C virus-related cirrhosis. *Hepatology* 1997; 25:211-215.
322. Kew MC, Yu MC, Kedda M, Coppin A, Sarkin A, Hodgkinson J. The relative roles of hepatitis B and C viruses in the etiology of hepatocellular carcinoma in southern African Blacks. *Gastroenterology* 1997;112:184-187.
323. Hadziyannis SJ, Giannoulis G, Hadziyannis E, Kaklamani E, Alexopoulou A, Dourakis S, Trichopoulos D. Hepatitis C virus infection in Greece and role in chronic liver disease and hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 1993;17(Suppl 3):S72-S77.
324. Yamauchi M, Nakahara M, Maezawa Y, Satoh S, Nishikawa F, Ohata M. Prevalence of hepatocellular carcinoma in patients with alcoholic cirrhosis and prior exposure to hepatitis C. *Am J Gastroenterol* 1993; 88:39-43.
325. Tabor E. Hepatocarcinogenesis: Hepatitis viruses and altered tumor suppressor gene function. *Princess Takamatsu Symp* 1995;25:151-161.
326. Butel JS, Lee T-H, Slagle BL. Viral co-factors in liver cancer: Lessons from hepatitis B virus. *Princess Takamatsu Sump* 1995; 25:185-198.
327. Kane JM 3rd, Shears LL 2nd, Hierholzer C, Ambs S, Billiar TR, Posner MC. Chronic hepatitis C virus infection in humans: Induction of hepatic nitric oxide synthase and proposed mechanisms for carcinogenesis. *J Surg Res* 1997; 321-324.
328. Mihm S, Fayyazi A, Ramadori G. Hepatic expression of inducible nitric oxide synthase transcripts in chronic hepatitis C virus infection: relation to hepatic viral load and liver injury. *Hepatology* 1997; 26:451-458.



329. Calmels S, Hainaut P, Ohshima H. Nitric oxide induces conformational and functional modifications of wild-type p53 tumor suppressor protein. *Cancer Res* 1997;57:3365-3369.
330. Ray RB, Lagging LM, Meyer K, Steele R, Ray R. Transcriptional regulation of cellular and viral promoters by the hepatitis C virus core protein. *Virus Res* 1995;37:209-220.
331. Ray RB, Lagging LM, Meyer K, Ray R. Hepatitis C virus core protein cooperates with ras and transforms primary rat embryo fibroblasts to tumorigenic phenotype. *J Virol* 1996;70:4438-4443.
332. Ray RB, Meyer K, Ray R. Suppression of apoptotic cell death by hepatitis C virus core protein. *Virology* 1996;226:176-182.
333. Ray RB, Steele R, Meyer K, Ray R. Transcriptional repression of p53 promoter by hepatitis C virus core protein. *J Biol Chem* 1997; 272:10983-10986.
334. Okuda K. Hepatocellular carcinoma: Recent progress. *Hepatology* 1992; 15:948-963.
335. Hytioglou P, Theise ND, Schwartz M, Mor E, Miller C, Thung SN. Macroregenerative nodules in a series of adult cirrhotic liver explants: Issues of classification and nomenclature. *Hepatology* 1995; 21:703-708.
336. Okuda K, Nakashima T, Obata H, Kubo Y. Clinicopathological studies of minute hepatocellular carcinoma. Analysis of 20 cases, including 4 with hepatic resection. *Gastroenterology* 1977; 73: 109-115.
337. International Working Party. Terminology of nodular hepatocellular lesions. *Hepatology* 1995; 22: 983-993.
338. Saxena R, Suriawinata A, Schwartz M, Min AD, Thung SN. An analysis of incidental multifocal and in-situ hepatocellular carcinoma in liver explant [Abstract]. *Hepatology* 1997; 26:240A.
339. Nishiguchi S, Kuroki T, Nakatani S, Morimoto H, Takeda T, Nakajima S, Shiomi S et al. Randomised trial of effects of interferon-alpha on incidence of hepatocellular carcinoma in chronic active hepatitis C with cirrhosis. *Lancet* 1995; 346: 1051-1055.
340. Mazzella G, Accogli E, Sottili S, Festi D, Orsini M, Salzetta A, Novelli V, et al. Alpha interferon treatment may prevent hepatocellular carcinoma in HCV-related liver cirrhosis. *J Hepatol* 1996; 24:141-147.
341. Ebara M, Hatano R, Fukuda H, et al. Natural course of small hepatocellular carcinoma with underlying cirrhosis. A study of 30 patients. *Hepato-Gastroenterology* 1998; 45:1214-1220.
342. Okusada T, Okada S, Ishii H, et al. Prognosis of hepatocellular carcinoma patients with extrahepatic metastases. *Hepato-Gastroenterology* 1997; 44: 251-257.
343. Ebara M, Ohto M, Shinagawa T, et al. Natural history of minute hepatocellular carcinoma smaller than three centimeters complicating cirrhosis. *Gastroenterology* 1986; 90: 289-298.
344. Cottone M, Virdone R, Fusco G et al. Asymptomatic hepatocellular carcinoma in Child's A cirrhosis. *Gastroenterology* 1989; 96: 1566-1571.
345. Colombo M. The natural history of hepatocellular carcinoma in Western Countries. *Hepato-Gastroenterology* 1998; 45:1221-1225.



346. Primack A, Vogel C, Kyalwazi S, et al. A staging system for hepatocellular carcinoma. Prognostic factors in Ugandan patients. *Cancer* 1975; 35: 1357-1364.
347. Okuda K, Ohtsuki T, Obata H et al. Natural history of hepatocellular carcinoma and prognosis in relation to treatment. *Cancer* 1985; 56:918-928.
348. Γ. Μπαλταγιάννης, Κ. Κίστης, Γ. Φαμηλιάς, Ν. Τζαμπούρας, Ε. Β. Τσιάνος. Η ανταπόκριση στην ιντερφερόνη -α σε ΗΒεΑg(-)/ΑΝΤΙ ΗΒε(+) ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα Β συσχετίζεται με το επίπεδο της ALT στον ορό των ασθενών. *Νοσοκομειακά Χρονικά* 1998 (Συμπλήρωμα); 60:51.
349. Alexander GJM, Brahm J, Fagan EA, Smith HM, Daniels HM, Eddleston ALWF, Williams R. Loss of HBsAg with interferon therapy in chronic hepatitis B virus infection. *Lancet* 1987; i:66-68.
350. Hoofnagle JH, Peters MG, Mullen KD, Jones DB, Rustgi V, DiBisceglie A, Hallahan C, Park Y, Meschievitz C, Jones EA. Randomized controlled trial of recombinant human α-interferon in patients with chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 1988;95:1318-1325.
351. Perrillo RP, Schiff E, Davis GL, Bodenheimer HC Jr, Lindsay K, Payne J, Dienstag JL, O'Brien C, Tamburro C, Jacobson IM, Sampliner R, Feit D, Lefkowitz J, Kuhns M, Meschievitz C, Sanghvi B, Albrecht J, Gibas A, and Hepatitis Interventional Therapy Group: A randomized controlled trial of interferon alpha-2b alone and after prednisone withdrawal for the treatment of chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 1990;323:295-301.
352. Lok ASF, «Wu P-C, Lai C-L, Lau JYN, Leung EKY, Wong LSK, Ma OCK, Lauder IJ, Ng CPL, Chung H-T. A controlled trial of interferon with or without prednisone priming for chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 1992; 102:2091-2097.
353. Di Bisceglie AM, Bergasa N, Fong T-L, Swain MG, Baker B, Korenman J, Bergasa NV, Wagoner JG, Park Y, Hoofnagle JH. A randomized controlled trial of recombinant alpha interferon therapy for chronic hepatitis B. *Am J Gastroenterol* 1993; 88:1887-1892.
354. Brunetto MR, Giarin M, Saracco G, Oliveri F, Calvo P, Capra G, Randone A, Abate ML, Manzini P, Capalbo M, Piantino P, Verme G, Bonino F. Hepatitis B virus unable to secrete e antigen and response to interferon in chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 1993;105:845-850.
355. Lau D T-Y, Comanor L, Minor JM, Everhart JE, Wuestehube LJ, Hoofnagle JH. Statistical models for predicting a beneficial response to interferon-α in patients with chronic hepatitis B. *J Viral Hepatitis* 1998;5:105-114.
356. Dienstag JL, Perrillo RP, Schiff ER, et al. A preliminary trial of lamivudine for chronic hepatitis B infection. *N Engl J Med* 1995; 333:1657-1661.
357. Lai C-L, Chien R-N, Leung NWY, et al. A one -year trial of lamivudine for chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 1998; 339:61-68.
358. Zoulim F, Trepo C. Drug therapy for chronic hepatitis B: antiviral efficacy and influence of hepatitis B virus polymerase mutations on the outcome of therapy. *J Hepatol* 1998; 29:151-168.



359. Lai CL, Ching CK, Tung AK, Li E, Young J, Hill A et al. Lamivudine is effective in suppressing hepatitis B virus DNA in Chinese hepatitis B surface antigen carriers: a placebo-controlled trial. *Hepatology* 1997; 25:241-244.
360. Dienstag JL, Perrillo RP, Schiff ER, Bartholomew M, Vicary C, Rubin M. A preliminary trial of lamivudine for chronic hepatitis B infection. *N Engl J Med* 1995; 333:1657-1661.
361. Nevens F, Main J, Honkoop P, Tyrrell DL, Barber J, Sullivan MT, Fevery J, DE Man RA, Thomas HC. Lamivudine therapy for chronic hepatitis B: A six-month randomized dose-ranging study. *Gastroenterology* 1997; 113:1258-1263.
362. Ling R, Multimer D, Ahmed M, Boxall EH, Elias E, Dusheiko GM, Harrison TJ: Selection of mutations in the hepatitis B virus polymerase during therapy of transplant recipients with lamivudine. *Hepatology* 1996;24:711-713.
363. Tipples GA, Ma MM, Fischer KP, Bain VG, Kneteman NM, Tyrell DL. Mutation in HBV RNA-dependent DNA polymerase confers resistance to lamivudine in vivo. *Hepatology* 1996;24:714-717.
364. Bartholomew MM, Jansen RW, Jeffers LJ, Reddy KR, Johnson LC, Bunzendahl H, Condreay LD, Tzakis AG, Schiff ER, Brown NA. Hepatitis B virus resistance to lamivudine given for recurrent infection after orthotopic liver transplantation. *Lancet* 1997; 349: 20-22.
365. Marinou G, Naoumov N, Williams R. Impact of complete inhibition of viral replication on the cellular immune response in chronic hepatitis B virus infection. *Hepatology* 1996;24:991-995.
366. Alexopoulou A, Zafiropoulou R, Papakonstandinou A, Hadziyannis SJ. Randomized trial in HBeAg negative patients with replicating virus with ganciclovir vs lamivudine in combination with interferon. Evaluation of long-term efficacy [Abstr]. Accepted for presentation 49th Annual Meeting AASLD, Chicago, Ill, 1998.
367. Marcellin P, Martinot M, Pouteau M et al. HCV genotype and pretreatment serum HCVRNA level are the main and independent prognosis factors of sustained response to interferon in chronic hepatitis C (Abst 445). *Hepatology* 1994; 20: 208A.
368. Tsubota A, Chayama K, Ikeda K et al. Factors predictive of response to interferon- α therapy in hepatitis C virus infection. *Hepatology* 1994; 19:1088-1094.
369. Pagliaro L, Craxe A, Camma C et al. Interferon- α for chronic hepatitis C. An analysis of pretreatment clinical predictors of response. *Hepatology* 1994; 19:820-828.
370. Brillanti S, Foli M, Gramantieri L, et al. Triple antiviral therapy for chronic hepatitis C in interferon alpha non-responders: a pilot randomized controlled study [Abstr]. *Hepatology* 1997; 26:367A.
371. Gutterman JU. Cytokine therapeutics: Lessons from interferon alpha. *Proc Natl Acad Sci* 1994;91:1198-1205.
372. Isaacs A, Lindenmann J. Virus Interference . The interferon. *Proc Royal Soc London [Biol]* 1957;147:258-267.



373. Tilg H. New insights into the mechanisms of interferon alpha: an immunoregulatory and anti-inflammatory cytokine. *Gastroenterology* 1997;112:1017-1021.
374. Carithers RL, Emerson SS. Therapy of hepatitis C: meta-analysis of interferon alpha-2b trials. *Hepatology* 1997;26(Suppl 1): 83S-88S.
375. Lindsay KL. Therapy of hepatitis C: overview. *Hepatology* 1997;26(Suppl 1): 71S-77S.
376. Lee WM. Therapy of hepatitis C: interferon alpha-2a trials. *Hepatology* 1997;26(Suppl 1):89S-95S.
377. Farrell GC. Therapy of hepatitis C: interferon alpha-n1 trials. *Hepatology* 1997;26(Suppl 1):96S-100S.
378. Hoofnagle JH, Di Bisceglie AM: Treatment of chronic viral hepatitis. *N Engl J Med* 1997; 336:347-356.
379. Hoofnagle JH, Di Bisceglie AM, Waggoner JG, Park Y: Interferon alpha for patients with clinically apparent cirrhosis due to chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 1993;104:1116-1121
380. Smedley H, Katrak M, Sikora M et al. Neurological effects of recombinant human interferon. *Br Med J* 1983;286:262-264.
381. Renault PF, Hoofnagle JH, Park Y et al. Psychiatric complications of long-term interferon alpha therapy. *Arch Intern Med* 1987;147:1577-1580.
382. Janssen HLA, Berk L, Vermeulen M, Schalm SW. Seizures associated with low-dose alpha interferon. *Lancet* 1990;336:1580.
383. Averbuch SD, Austin HA, Sherwin SA, et al. Acute interstitial nephritis with the nephrotic syndrome following recombinant leukocyte interferon therapy for mycosis fungoides. *N Engl J Med* 1984;310:32-35.
384. Deyton LR, Walker RE, Kovacs JA, et al. Reversible cardiac dysfunction associated with interferon alpha therapy in AIDS patients with Kaposi's sarcoma. *N Engl J Med* 1989; 321:1246-1249.
385. Mayet W-J, Hess G, Gerken G et al. Treatment of chronic type B hepatitis with recombinant alpha-interferon induces autoantibodies not specific for autoimmune chronic hepatitis. *Hepatology* 1989; 10:24-28.
386. Lisker-Melman M, Di Bisceglie AM, Usala SJ et al. Development of thyroid disease during therapy of chronic viral hepatitis with alpha interferon. *Gastroenterology* 1992;102:2155-2160.
387. Watanabe V, Hashimoto E, Hishamitsu T, et al. The risk factor for development of thyroid disease during interferon-a therapy for chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol* 1994;89:399-403.
388. Mclaughlin P, Talpaz m, Quesada JR: Immune thrombocytopenia following alpha interferon therapy in patients with cancer. *JAMA* 1985;254:1353-1354.
389. Akard LP, Hoffman R, Elias L, Saiers JH: Alpha interferon and immune hemolytic anemia. *Ann Intern Med* 1986;105:306.
390. Chazerain P, Meyer O, Kahn MR. Rheumatoid arthritis-like disease after alpha-interferon therapy. *Ann Intern med* 1992;116:427.
391. Diodati G, Bonetti P, Noventa F, et al. Treatment of chronic hepatitis C with recombinant human interferon-alpha 2a: Results of a randomized controlled trial. *Hepatology* 1994;19:1-5.



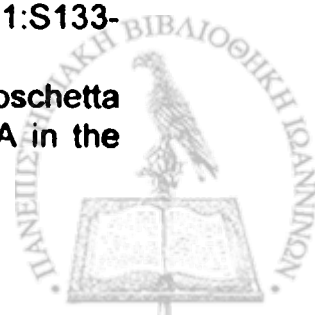
392. Bonetti P, Diodati G, Drago C, et al. Interferon antibodies in patients with chronic hepatitis C infection treated with recombinant interferon alpha-2a. *J Hepatology* 1994;20:416-420.
393. Hadziyannis S, Bramou T, Makris A, Moussoulis G, Zignego L, Papaioannou C. Interferon alpha-2b treatment of HBeAg negative/serum positive chronic active hepatitis type B. *J Hepatol* 1990;11:S133-S136.
394. Fattovich G, McIntyre G, Thursz M, Colman K, Giuliano G, Alberti A, Thomas HC, Carman WF. Hepatitis B precore/core variation and interferon therapy. *Hepatology* 1995;22:1355-1362.
395. Naoumov NV, Thomas MG, Mason AL, Chokshi S, Bodicky CJ, Farzaneh F, Williams R, Perrillo RP. Genomic variations in the hepatitis B core gene: A possible factor influencing response to interferon alpha treatment. *Gastroenterology* 1995;108:505-514.
396. Bozkaya H, Ayola B and Lok ASF. High rate of mutations in the hepatitis B core gene during the immune clearance phase of chronic hepatitis B virus infection. *Hepatology* 1996;24:32-37.
397. Wood AJ. Ganciclovir (review). *N Engl J Med* 1996;335:721-729.
398. Summers J, Mason WS. Replication of the genome of a hepatitis B-like virus by reverse transcription of an RNA intermediate. *Cell* 1982;29:403-415.
399. Di Bisceglie AM, Conjeevaram HS, Fried MW et al. Ribavirin as therapy for chronic hepatitis C. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Ann Intern Med* 1995;123:897-903.
400. Levy G. Hepatitis C. Diagnosis and treatment. Peters MG, Lake JR. In: *Recurrent Liver disease after liver Transplantation*. 47th AASLD meeting. Chicago 1996. pp 37-41.
401. Reherrmann B, Chang KM, McHutchinson J et al. Differential cytotoxic T-lymphocyte responsiveness to hepatitis B and C viruses in chronically infected patients. *J Virol* 1996;70:7092-7102.
402. Bertoletti A, D'Ellos MM, Boni C, et al. Different cytokine profiles of intrahepatic T cells in chronic hepatitis B and Hepatitis C virus infections. *Gastroenterology* 1997;112:193-199.
403. Chisari FV. Hepatitis B virus transgenic mice: insights into the virus and the disease. *Hepatology* 1995;22:1316-1325.
404. Sherlock S. Classifying chronic hepatitis. *Lancet*: 1989;2:1168-1170.
405. Gerber MA: Chronic Hepatitis C: The beginning of the end of a time-honored nomenclature? *Hepatology* 1992;15:733-734.
406. Ludwig J: The nomenclature of chronic active hepatitis: An Obituary. *Gastroenterology* 1993;105:274-278.
407. Ishak K et al. Histological grading and staging of chronic hepatitis. *J of Hepatology* 1995;22:696-699.
408. Desmet JV et al. Classification of chronic hepatitis: Diagnosis, Grading and Staging. *Hepatology* 1994;19:1513-1520.
409. Lai CL, Ching CK, Tung AK, Li E, Young J, Hill A et al. Lamivudine is effective in suppressing hepatitis B virus DNA in Chinese hepatitis B surface antigen carriers: a placebo-controlled trial. *Hepatology* 1997; 25:241-244.



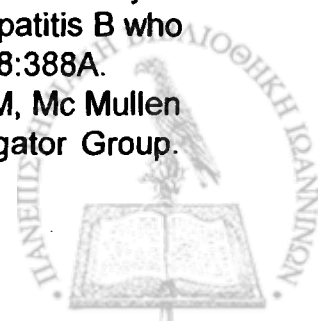
410. Dienstag JL, Perrillo RP, Schiff ER, et al. A preliminary trial of lamivudine for chronic hepatitis B infection. *N Engl J Med* 1995; 333:1657-1661.
411. Perrillo R, Rakela J, Martin P et al. Long-term lamivudine therapy of patients with recurrent hepatitis B post liver transplantation (Abstract). *Hepatology* 1997;26:196.
412. Honkoop P, Niesters HGM, de Man RAM, et al. Lamivudine resistance in immunocompetent chronic hepatitis B. Incidence and patterns. *J Hepatol* 1997;26:1393-1395.
413. Chayama K, Suzuki Y, Kobayashi M et al. Emergence and take over of YMDD motif mutant hepatitis B virus during long-term lamivudine therapy and re-take over by wild type after cessation of therapy. *Hepatology* 1998; 27:1711-1716.
414. Enomoto N, Sakuma I, Asahina Y et al. Comparison of full-length sequences of interferon sensitive and resistant hepatitis C virus 1b. Sensitivity to interferon is conferred by amino acid substitutions in the NS5A region, *J Clin Invest* 1995;96:224-230.
415. Enomoto N, Sakuma I, Wakita T et al. Mutations in the nonstructural protein 5A gene and response to interferon in patients with chronic hepatitis C virus 1b infection. *N Engl J Med* 1996;334:77-81.
416. Chayama K, Tsubota A, Kobayashi M et al. Pretreatment virus load and multiple amino acid substitutions in the interferon sensitivity determining region predict the outcome of interferon treatment in patients with chronic genotype 1b hepatitis C virus infection. *Hepatology* 1997;25:745-749.
417. Rosina F, Rizzetto M: Treatment of chronic type D (delta) hepatitis with alpha interferon. *Semin Liver Dis* 1989; 9:264-266.
418. Rosina F, Pintus C, Meschivitz C, Rizzetto M: A randomized controlled trial of a 12-month course of recombinant human interferon-a in chronic delta (type D) hepatitis: a multicenter Italian study. *Hepatology* 1991;13:1052-1056.
419. Hoofnagle JH, Mullen KD, Jones DB, Rustgi V, Di Bisceglie A, Peters M, Waggoner JG, Park Y, Jones EA: Treatment of chronic non-A, non-B, hepatitis with recombinant human alpha interferon *N Engl J Med* 1986;315:1575-1578.
420. Causse X, Godinot H, Chevallier M, Chossegros P, Zoulim F, Ouzan D, Heyraud JP, Fontanges T, Albrecht J, Meschivitz C, Trepo C: Comparison of 1 or 3 MU of interferon alpha -2b and placebo in patients with chronic non-A, non-B hepatitis. *Gastroenterology* 1991;101:497-502.
421. Perrillo RP. Treatment of chronic hepatitis B with interferon : Experience in Western countries. *Sem Liver Dis* 1989; 9:240-248.
422. Bonino F, Brunetto MR. Management of anti-HBe positive chronic hepatitis. In: Miquet JP, Dhumeaux D, eds. *Progress in Hepatology* 1993. Paris John Libbey Eurotext 1993; 55-61.
423. Hadzijannis SJ, Papaioannou C, Savvas S, Manassis E, Avgidis C. Long -term alpha-interferon therapy in anti-Hbe positive chronic hepatitis B increases significantly the frequency of sustained response. *Hepatology* 1994; 19:701(Abstract).



424. Τσαντούλας Δ. Ηπατίτιδα Β: Φυσική ιστορία και θεραπεία. Εισ: Καρβουντζής Γ, συντονιστής. Ιογενείς Ηπατίτιδες. Νεότερα δεδομένα. Αθήνα: Ιατρική Εταιρεία Αθηνών, Συμπόσιο 5, 1994;86-100.
425. Hoofnagle JH, Lau D. Chronic viral hepatitis-Benefits of current therapies. *N Engl J Med* 1996;334:1470-1(editorial).
426. Ακριβιάδης ΕΑ, Γουλής Ι, Ξανθάκης Ι, Παναγιωτόπουλος Σ. Αντιική θεραπεία σε ασθενείς με μη αντιρροπούμενη ΗΒV-θετική κίρρωση. *Ελληνική Γαστρεντερολογία* 1994;7(Supplement):36(Abstract).
427. Fong T-L, Akriviadis E, Govindarajan S, Redeker AG. Serum HBV-DNA in acute hepatitis b ifection. *Ann Intern med* 1989;110:936-7.
428. Koretz RL, Abbey H, Coleman E, Gitnick G. Non-A, non-B post - transfusion hepatitis. Looking back in the second decade. *Ann Intern Med* 1993;119:110-5.
429. Seeff L.B. Natural history of viral hepatitis , type C. *Semin Gastrointestinal Dis* 1995;6:20-27.
430. Dienstag JL. The natural history of chronic hepatitis C and what we shoud do about it (editorial). *Gastroenterology* 1997;112:651-655.
431. Kaple GF, Watson G, Sheffler S, HuntD, Frederick C. Comparison of the Chiron Quantiplex branched DNA(b DNA) assay and the Abbott Genostics solution hybridization assay for quantification of hepatitis B viral · DNA. *J Viral Hepat* 1997;4:67-75.
432. Zaaijer HL, Ter Borg F, Cuyppers HTM, et al. Comparison of methods for detection of hepatitis B virus DNA. *J Clin Microbiol* 1994;32:2088-2091.
433. Anna S. Lok , E. Jenny Heathcote, and Jay H. Hoofnagle. Management of hepatitis B: 2000-Summary of a Workshop. *Gastroenterology* 2001;120:1828-1853.
434. Gretch DR, Delta Rosa C, Corey , et al. Assessment of hepatitis C Viremia using molecular amplification technologies. *Viral Hepat Reviews* 1996; 2:85-96.
435. Navas S, Carreno V. Semi-quantification by amplicor assay of hepatitis C viruw genome during therapy. *J Hepatol* 1995;22:115-7.
436. Wong DKH , Ceung AM, O'Rourke K, Naylor CD, Detsky AS, Heathcote J. Effect of alpha-interferon in patients with hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B. *Ann Intern Med* 1993;119:312-323.
437. Janssen HL, Gerken G, Carreno V, Marcellin P, Naoumov NV, Craxi A, Ring-Larsen H, Kitis G, Van Hattum J, de Vries RA, Michielsen PP, ten Kate FJ, Hop WC, Heijtkink RA, Honkoop P, Schalm SW. Interferon alfa for chronic hepatitis B infection: Increased efficacy of prolonged treatment . The European Concerted Action on Viral Hepatitis (EUROHEP). *Hepatology* 1999;30:238-243.
438. Ντουράκης Σ. Νεότερα φάρμακα στη θεραπεία της χρόνιας ηπατίτιδας Β. *Ιατρική* 1999;76:21-31.
439. Hadziyiannis S, Bramou T, Makris A, Moussoulis G, Zignego L, Papaioannou C. Interferon alfa-2b treatment of HbeAg negative/serum HBV DNA positive chronic active hepatitis B. *J Hepatol* 1990;11:S133-S136.
440. Pastore G, Santantonio T, Milella A, Monno L, Mariano N, Moschetta R, Pollice L. Anti-HBe-positive Chronic Hepatitis B with HBV-DNA in the



- serum:response to a 6-month course of lymphoblastoid interferon . J Hepatol 1992;20:221-225.
441. Fattovich G, Farci P, Rugge M, Brollo L, Mandas A, Pontisso P, Giustina G, Lai ME, Belussi F, Busatto G, Balestrieri A, Ryo A, Alberti A. A randomized controlled trial of lymphoblastoid interferon-alfa in patients with chronic hepatitis B lacking HBeAg . Hepatology 1992; 15:584-589.
442. Lampertico P, Del Ninno E, Manzin A, Donato MF, Rumi MG, Lunghi G, Morabito A, Clementi M, Colombo M. A randomized , controlled trial of a 24-month course of interferon alfa 2b in patients with chronic hepatitis B who had hepatitis B virus DNA without hepatitis B e antigen in serum. Hepatology 1997;26:1621-1625.
443. Manesis E, Savas S, Petraki F, Papaioannou C, Tsiopou M, Hadziyiannis S. Interferon treatment of HBeAg negative chronic hepatitis B:twelve years follow-up of 209 patients(abstr). Hepatology 1999;30:349A.
444. Papatheodoridis GV, Manesis E, Hadziyiannis SJ. Long-term follow – up after initial response to interferon therapy in patients with HBeAg negative chronic hepatitis B(abstr). Hepatology 2000;32:378A.
445. Papatheodoridis GV, Manesis E, Tsiopou M, Papadimitropoulos V, Hadziyiannis SJ. Long-term outcome of interferon –alfa treated and untreated patients with HBeAg negative chronic hepatitis B(abstr). Hepatology 1999;30:343A.
446. Μπαλταγιάννης Γ, Τσιάνος Ε.Β. Άλφα ιντερφερόνη –θεραπευτικό πρωτόκολλο 12μηνης χορήγησης σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα Β στη Βορειοδυτική Ελλάδα :19^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Γαστρεντερολογίας Θεσσαλονίκη 1999,AA194.
447. Claus Nederav et al. Long-term follow-up of HBeAg-positive patients treated with interferon-alfa for chronic hepatitis B.
448. Lin SM, Sheen IS, Chien RN, Chu CM, Liaw YF. Long-term beneficial effect of interferon therapy in patients with chronic hepatitis B virus infection. Hepatology 1999;29:971-975.
449. Lai C-L, Chien R-N, Leung NWY, Chang T-T, Guan R, Tai D-I, Ng K-Y, Wu P-C, Dent JC, Barber J, Stephenson SL, Gray DF, Asia Hepatitis Lamivudine Study Group. A one –year trial of lamivudine for chronic hepatitis B. N Engl J Med 1998;339:61-68.
450. Dienstag JL, Sciff ER, Wright TL, Perillo RP, Hann HWL, Goodman Z, Crowther L, Condreay LD, Woessner M, Rubin M, Brown N. Lamivudine as as initial treatment for chronic hepatitis B in the United States. N. Engl J MEd 1999;341:1256-1263.
451. Scalm SW, Heathcote J, Cianciara J, Farrell G, Sheman M, Willems B, Dhillon A, Moorat A, Barber J, Gray DF, International Lamivudine Study Group. Lamivudine and alpha interferon combination treatment of patients with chronic hepatitis B infection: a randomized trial. Gut 2000;46:562-568.
452. Sciff ER, Karayalcin S, Grimm I, Perillo R, Dienstag J, Husa P, Schalm S, Crowther L, Sullivan M, Woessner M, Mc Phillips P, Brown N, and the International Lamivudine Investigator Group. A placebo controlled study of lamivudine and interferon alpha-2b in patients with chronic hepatitis B who previously failed interferon therapy (abstr). Hepatology 1998;28:388A.
453. Sciff E, Cianciara J, Karayalcin S, Kowdley K, Woessner M, Mc Mullen S, Pearce M, Brown N, the International Lamivudine Investigator Group.



- Dourable HBeAg and HBsAg seroconversion after lamivudine for chronic hepatitis B (abstr). *J Hepatol* 2000; 32 (suppl 2):99.
454. Liaw Y-F, Leung MWY, Chang TT, Guan R, Tai DI, Ng KY, Chien R-N, Dent J, Roman L, Edmundson S, Lai CL. Effects of extended lamivudine therapy in Asian patients with chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 2000;119:172-180.
455. Tassopoulos NC, Volpes R, Pastore G, Heathcote J, Buti M, Goldin RD, Hawley S, Barber J, Condreay L, Gray F, Lamivudine Precore Mutant Study Group. Efficacy of Lamivudine in patients with hepatitis B e antigen-negative hepatitis B virus DNA-positive (precore mutant) chronic hepatitis B. *Hepatology* 1999; 29:889-896.
456. Tassopoulos NC, Anagnostopoulos GD, Delladestima JK, Barbati C, Angelopoulou P, Sipsa V. Extended lamivudine treatment in patients with HBeAg negative/HBV DNA positive chronic hepatitis B (abstr). *Hepatology* 2000; 32:456A.
457. HAdziyiannis S, Papatheodoridis GV, Dimou E, Laras A, Papaioannou C. Efficacy of long-term lamivudine monotherapy in patients with hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B. *Hepatology* 2000; 32:847-851.
458. Φίλης Σ, Τσιάνος Ε.Β. Θεραπεία με λαμβουδίνη σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα Β. 21^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Γαστρεντερολογίας Ιωάννινα 2001.
459. Dienstag JL, Perillo RP, Schiff ER, Bartholomew M, Vicary C, Rubin M. A preliminary trial of lamivudine for chronic hepatitis B infection. *N Engl J Med* 1995;333:1657-1661.
460. Ling R, Mutimer D, Ahmed M, Boxall EH, Elias E, Dushieco GM, Harrison TJ. Selection of mutations in the hepatitis B virus polymerase during therapy of transplants recipients with lamivudine. *Hepatology* 1996;24:711-713.
461. Tipples GA, Ma MM, Fiscer KP, Bain VG, Kneteman NM, Tyrrell DL. Mutation in the HBV RNA dependent DNA polymerase confers resistance of lamivudine in vivo. *Hepatology* 1996;24:714-717.
462. Bartholomew MM, Jansen RW, Jeffers LI, Johnson LC, Bunzendahl H, Condreay LD, Tzakis AG, Schiff ER, Brown NA. Hepatitis B virus resistance to lamivudine given for recurrent infection after orthotopic liver transplantation. *Lancet* 1997; 349: 20-22.
463. Ono-Nita SK, Kato N, Shiratori Y, Yoshida H, Carriho FJ, Omata M. Susceptibility of lamivudine-resistant hepatitis B virus to other reverse transcriptase inhibitors. *J Clin Invest* 1999; 103:1635-1640.
464. Main J, Brown JL, Howells C, Galassini R, Crossey M, Karayiannis P et al. A double blind, placebo-controlled study to assess the effect of famciclovir on virus replication in patients with chronic hepatitis B virus infection. *J Viral Hepat* 1996;3:211-215.
465. Lai CL, Yuen MF, Cheng CC, et al. An open comparative study of lamivudine and famciclovir in the treatment of chronic hepatitis B infection. *Hepatology* 1998.
466. Wood AJJ. Ganciclovir. *N Engl J Med* 1996;335:721-729.
467. Perrillo R, Schiff E, Yoshida E, Statler A, Hirsch K, Wright T, Gutfreund K, Lamy P, Murray A. Adefovir dipivoxil for the treatment of lamivudine-resistant hepatitis B mutants. *Hepatology* 2000; 32:129-134.



168. Benhamou Y, Bochet M, Thibault V, Calvez V, Fievet MH, Brosgart C, Fry J, Gibbs CS, Opolon P, Poynard T. An open label pilot study of the safety and efficacy of adefovir dipivoxil in HIV/HBV co-infected patients with lamivudine resistant HBV (abstr). *Hepatology* 2000; 32:459A.
169. Gish RG, Wright TL, Corey L, Leung NWY, Chan FKL, Fried M, Sacks S, Fang L, Wang L, Rousseau F, Delehanty J. Emtricitabine (FTC): results from a 24-week dose-selection trial in patients with chronic HBV infection (abstr). *Hepatology* 2000;32:378A.
470. Peek SF, Cote PJ, Jacob JR, Toshkov IA, Hombuckle WE, Baldwin BH, Wells FV, Chu CK, Gerin JL, Tennant BC, Korba BE. Antiviral activity of clevudine {L-FMAU, (1-(2-fluoro-5-methyl-beta, l-arabinofuranocyl))} against woodchuck hepatitis virus replication and gene expression in chronically infected woodchucks (*Marmota monax*). *Hepatology* 2001; 33:254-266.
471. Lau GKK, Tsiang M, Hou J, Yuen ST, Carmen WF, Zhang L, Gibbs CS, Lam S. Combination therapy with lamivudine and famciclovir for chronic hepatitis B infected Chinese: viral dynamics study. *Hepatology* 2000; 32:394-399.
472. Bryant ML, Bridges EG, Placidi L, Faraj A, Loi A-G, Pierra C, Dukhan D, Gosselin G, Imbach J-L, Hernandez B, Joudawkis A, Tenant B, Korba B, Cote P, Marion P, Cretton-Scout E, Schinazi RF, Sommadossi J-P. Antiviral L-nucleosides specific for hepatitis B virus infection. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45: 229-235.
473. Carreno V, Zeuzem S, Hopf U, Marcellin P, Cooksley WG, Fevery J, Diago M, Reddy R, Peters M, Rittweger K, Rakhit A, Pardo M. A phase I/II study of recombinant human interleukin-12 in patients with chronic hepatitis B. *J Hepatol* 2000;32:317-324.
474. Chien RN, Liaw YF, Chen TC, Yeh CT, Sheen IS,. Efficacy of thymocyn alpha 1 patients with chronic hepatitis B: a randomized controlled trial. *Hepatology* 1998;27:1383-1387.
475. Mc Dermott AB, Madrigal JA, Sabin Zuckerman JN, Cohen SB. The influence of host factors and immunogenetics on lymphocyte responses to Hepagene vaccination. *Vaccine* 1999;17:1329-1337.
476. Davis HL. Use of CpG for enhancing specific immune responses. *Curr Top Microbiol Immunol* 2000; 247:171-183.
477. Grey H, Chesnut RW, Sette A. The hepatitis B virus-specific CTL responses induced in humans by lipopeptide vaccination are comparable to those elicited by acute viral infection. *J Immunol* 1997;159:1383-1392.
478. Blum HE, Galun E, von Weizsacker F, Wands JR. Inhibition of hepatitis B virus by anti-sense oligodeoxynucleotides. *Lancet* 1991;337:1230.
479. Zu Putlitz J, Yu Q, Burke JM, Wands JR. Combinatorial screening and intracellular antiviral activity of hairpin ribozymes directed against hepatitis B virus. *J Virol* 1999; 73: 5381-5387.
480. Arshad H, Malik, MD, and William M. Lee, MD Chronic Hepatitis B Virus Infection: Treatment Strategies for the Next Millenium: *Annals of Int. Medicine*, Vol 132, No 9 May 2000, 723-731.
481. Rizzeto M, Verme G, Recchia S et al. Chronic hepatitis in carriers of Hepatitis B surface antigen, with intrahepatic expression of the delta



antigen: an active and progressive disease unresponsive to immunopressive treatment. *Ann Intern Med* 1983;98:437-441.

482. Poynard T, Lerry V, Cohard M et al. Meta-analysis of interferon randomized trials in the treatment of viral hepatitis C: effects of dose and duration. *Hepatology* 1996, 24:778-789.
483. Mc Hutchison J G, Gordon S C, Shiff E R, Shiffman M L, Lee W M, Rustgi V K, et al. Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin as initial treatment for chronic hepatitis C. *N Engl J Med* 1998, 339:1485-1491.
484. Poynard T, Marcellin P, Lee S, Niederau C, Minuk G S, Ideo G, et al. Randomized trial of interferon a2b plus ribavirin for 48 weeks versus interferon a-2b plus placebo for 48 weeks for treatment of chronic infection with hepatitis C virus. *Lancet* 1998, 352(9138):1426-1432.
485. Alberti A, Chemello L, Benvegno L. Natural history of hepatitis C. *J Hepatol* 1999, 31 (Suppl. 1):17-24.
486. Kasahara A, Hayashi N, Moschizuki K et al. Risk factors for hepatocellular carcinoma and its incidence after interferon treatment in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 1998, 27:1394-1402.
487. Ryder SD, Beckingham L, *BMJ*, Jan 2001;322:219-221.
488. Dalekos GN, Zervou E, Merkouropoulos MH, Tsianos EV. Prevalence of hepatitis B and C viruses infection in chronic alcoholics with or without liver disease in Ioannina, Greece: low incidence of HCV infection. *Eur J Epidemiol* 1996 Feb;12(1):21-5.

