



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**

**ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ
Β' ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ**

**ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΕΝΕΡΓΟΤΗΤΑΣ ΤΟΥ ΙΟΥ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ Β
ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΕΝΑΝΤΙ
ΤΟΥ ΠΥΡΗΝΙΚΟΥ ΑΝΤΙΓΟΝΟΥ (ΑΝΤΙ ΗΒcAg)
ΩΣ ΜΟΝΑΔΙΚΟΣ ΔΕΙΚΤΗΣ ΕΠΑΦΗΣ ΜΕ ΤΟΝ ΙΟ**

**ΜΑΡΙΑ ΛΕΟΝΤΑΡΗ
ΝΟΣΗΛΕΥΤΡΙΑ**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2024



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**

**ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ
Β' ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ**

**ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΕΝΕΡΓΟΤΗΤΑΣ ΤΟΥ ΙΟΥ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ Β
ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΕΝΑΝΤΙ
ΤΟΥ ΠΥΡΗΝΙΚΟΥ ΑΝΤΙΓΟΝΟΥ (ΑΝΤΙ ΗΒcAg)
ΣΑΝ ΜΟΝΑΔΙΚΟΣ ΔΕΙΚΤΗΣ ΕΠΑΦΗΣ ΜΕ ΤΟΝ ΙΟ**

**ΜΑΡΙΑ ΛΕΟΝΤΑΡΗ
ΝΟΣΗΛΕΥΤΡΙΑ**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2024

«Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από το Τμήμα Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα Ν. 5343/32, άρθρο 202, παράγραφος 2 (νομική κατοχύρωση του Ιατρικού Τμήματος)»

Ημερομηνία αίτησης της κ. Λεοντάρη Μαρίας: 26-10-2009

Ημερομηνία ορισμού Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: Γ.Σ. αριθμ. 674α/12-01-2010

Μέλη Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:

Επιβλέπων:

Χρήστου Λεωνίδας, Αναπληρωτής Καθηγητής Παθολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Μέλη:

Τσιάνος Επαμεινώνδας, Καθηγητής Παθολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Μπαλταγιάννης Γεράσιμος, Λέκτορας Γαστρεντερολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Ημερομηνία ορισμού θέματος: 14-04-2010

«Ανίχνευση ενεργότητας του ιού ηπατίτιδας Β σε ασθενείς με αντισώματα έναντι του πυρηνικού αντιγόνου (ANTI-HBcAg) σαν μοναδικός δείκτης επαφής με τον ιό»

Ανασυγκρότηση Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:

Επιβλέπων:

Χρήστου Λεωνίδας, Ομότιμος Καθηγητής Παθολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Μέλη:

Καλαμπόκης Γεώργιος, Αναπληρωτής Καθηγητής Παθολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Μπαλταγιάννης Γεράσιμος, Αναπληρωτής Καθηγητής Γαστρεντερολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

ΟΡΙΣΜΟΣ ΕΠΤΑΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ 1121α/26-09-2024

1. Χρήστου Λεωνίδας, τ. Καθηγητής Παθολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
2. Μπαλταγιάννης Γεράσιμος, Αναπληρωτής Καθηγητής Γαστρεντερολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
3. Καλαμπόκης Γεώργιος, Αναπληρωτής Καθηγητής Παθολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
4. Τσιάρα Σταυρούλα, Καθηγήτρια Παθολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
5. Λιάμης Γεώργιος, Καθηγητής Παθολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
6. Χριστάκη Ειρήνη, Επίκουρη Καθηγήτρια Παθολογίας-Λοιμωξιολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
7. Χριστοδούλου Δημήτριος, Καθηγητής Γαστρεντερολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Έγκριση Διδακτορικής Διατριβής με βαθμό «ΑΡΙΣΤΑ» στις 30-10-2024

Ιωάννινα 11-11-2024

ΠΡΟΕΔΡΟΣ ΤΟΥ ΤΜΗΜΑΤΟΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

Σπυρίδων Κονιτσιώτης

Καθηγητής Νευρολογίας



ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η Ηπατίτιδα Β ακόμα και σήμερα με την τεράστια πρόοδο και εξέλιξη στη διάγνωση, πρόληψη και θεραπεία εξακολουθεί να προκαλεί παγκόσμιο ενδιαφέρον λόγω της μεγάλης νοσηρότητας και θνητότητας που προκαλεί. Η ηπατίτιδα Β μέχρι την ανακάλυψη του Αυστραλιανού αντιγόνου το 1963 και στη συνέχεια έλεγχο αιμοδοτών από τις αρχές της δεκαετίας του 1970, ήταν κυρίως μεταδιδόμενη με τη μετάγγιση. Τη δεκαετία του 1990, έγινε δυνατή η πρόληψη της μετάδοσης της ηπατίτιδας C με τη μετάγγιση, μετά τη δυνατότητα εφαρμογής υποχρεωτικού ελέγχου αίματος.

Όμως και σήμερα παρά τη χρήση από τις Αιμοδοσίες του ανεπτυγμένου κόσμου ευαίσθητων μεθόδων για τη διάγνωση των ηπατίτιδων Β και C, η με τη μετάγγιση μετάδοση αν και έχει μειωθεί, δυστυχώς εξακολουθεί να υπάρχει.

Η πρόκληση σήμερα στην Ιατρική των μεταγγίσεων με την εφαρμογή περισσότερο ευαίσθητων και ειδικών μεθόδων όπως είναι οι μοριακές τεχνικές ανίχνευσης των νουκλεϊνικών οξέων των μολυσματικών παραγόντων είναι πολύ μεγάλη.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Ομότιμο Καθηγητή της Παθολογίας κ. Α. Χρήστου γιατί μου έδωσε πριν κάποια χρόνια την ευκαιρία να εισαχθώ στο Μεταπτυχιακό και να ασχοληθώ αναλυτικότερα με το τομέα της Παθολογίας που τόσο με ενδιαφέρει και ειδικότερα με την Ηπατίτιδα Β που έχει για εμένα ιδιαίτερο ενδιαφέρον καθώς εργαζόμουν στο τμήμα Αιμοδοσίας τα τελευταία 22 χρόνια. Χωρίς την έγκρισή του δεν θα ήταν δυνατό να πραγματοποιηθεί η μελέτη.

Επίσης, ευχαριστώ ιδιαίτερα τον εισηγητή μου κ. Αναπληρωτή Καθηγητή Γαστρεντερολογίας τον κ. Γ. Μπαλταγιάννη για τη στήριξη του, τις επισημάνσεις του και για την ανιδιοτελή προσφορά του στις γνώσεις του.

Την διευθύντρια μου του τμήματος Αιμοδοσίας την κ. Ε. Ζερβού για την έγκρισή της να χρησιμοποιηθούν τεχνικές μηχανημάτων του χώρου Αιμοδοσίας για το πέρας της εργασίας

Θα ήταν παράλειψή μου να μην αναγνωρίσω την βοήθεια του συναδέλφου μου αλλά και συζύγου μου κ. Ε. Μπρίτσα σε όλη τη διάρκεια της Μεταπτυχιακής μου εργασίας και της Διπλωματικής.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	7
ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	9
1. ΙΟΓΕΝΕΙΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΕΣ	9
1.1. ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ	9
1.2. ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ.....	10
2. Η ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ Β	12
2.1. ΙΟΛΟΓΙΑ.....	12
2.1.1. Ταξινόμηση και Δομή του ιού.....	12
2.2. Η ΟΡΓΑΝΩΣΗ ΤΟΥ ΓΕΝΕΤΙΚΟΥ ΥΛΙΚΟΥ HBV	14
2.2.1. Περιοχές κωδικοποίησης πρωτεϊνών.....	16
2.2.1.1. HBeAg αντιγόνο	16
2.2.2. Επιφανειακά αντιγόνα.....	17
2.2.3. Πρωτεΐνη πυρήνα.....	20
2.2.4. Πολυμεράση/αντίστροφη μεταγραφάση.....	20
2.2.5. Πρωτεΐνη Χ.....	22
3. ΚΥΚΛΟΣ ΖΩΗΣ HBV	26
3.1. ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΗ ΑΝΤΑΠΟΚΡΙΣΗ ΙΟΥ	26
4. ΠΡΟΤΥΠΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΟΥΝΤΑΙ ΣΤΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ HBV	33
5. ΦΥΣΙΚΗ ΙΣΤΟΡΙΑ ΤΟΥ HBV	41
6. ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΜΕΤΑΔΟΣΗΣ HBV ΛΟΙΜΩΞΗΣ	42
7. ΠΑΘΟΓΟΝΟΣ ΔΡΑΣΗ HBV	43
7.1. ΟΞΕΙΑ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ Β.....	43
7.2. ΧΡΟΝΙΑ HBV ΛΟΙΜΩΞΗ.....	44
8. ΠΑΓΚΟΣΜΙΑ ΕΠΙΠΤΩΣΗ ΚΑΙ ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ Β	50
9. ΓΟΝΟΤΥΠΟΙ ΤΟΥ ΙΟΥ ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ Β.....	56
10. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΓΟΝΟΤΥΠΩΝ/ ΥΠΟΓΟΝΟΤΥΠΩΝ ΣΤΗ ΦΥΣΙΚΗ ΙΣΤΟΡΙΑ ΤΗΣ ΜΟΛΥΝΣΗΣ ΑΠΟ ΤΟΝ HBV ΚΑΙ ΤΗΣ ΑΠΟΚΡΙΣΗΣ ΣΤΗΝ ΑΝΤΙΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ.....	61
11. ΚΛΙΝΙΚΗ ΣΥΝΑΦΕΙΑ ΤΩΝ ΓΟΝΟΤΥΠΩΝ/ΥΠΟΓΟΝΟΤΥΠΩΝ ΤΟΥ HB	65
12. ΑΝΤΙΓΟΝΑ ΚΑΙ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΤΟΥ HBV	68
12.1. ΑΝΤΙΓΟΝΑ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ Β	68
12.1.1. Το αντιγόνο επιφανείας του HBV(HBsAg).....	68

12.1.2.	Το Αντιγόνο X(HBxAg).....	74
12.1.3.	Το αντιγόνο Core (HBcAg).....	75
12.1.4.	Το αντιγόνο E(HBeAg).....	77
13.	ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΕΝΑΝΤΙ ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ Β.....	84
13.1.	Anti-HBc.....	84
13.2.	Anti-HBe.....	87
13.3.	Anti-HBs.....	92
14.	HBV-DNA (Μοριακές Τεχνικές).....	94
15.	ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ ΤΟΥ HBV.....	95
15.1.	ΠΑΘΟΓΟΝΟΣ ΔΡΑΣΗ ΤΟΥ HBV.....	95
15.1.1.	Οξεία Ηπατίτιδα Β.....	95
15.1.1.1.	Πρόδρομη φάση.....	103
15.1.1.2.	Ικτερική φάση.....	103
15.1.1.3.	Κεραυνοβόλος ηπατίτιδα Β.....	104
15.1.1.4.	Χρόνια HBV λοίμωξη(Χρόνια ηπατίτιδα Β).....	106
16.	ΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΚΡΥΦΗΣ ΛΟΙΜΩΞΗΣ HBV(OBI).....	112
16.1.	ΕΠΙΠΟΛΑΣΜΟΣ ΚΡΥΦΗΣ ΛΟΙΜΩΞΗΣ HBV.....	115
16.1.2.	Βιολογία του OBI.....	116
16.1.3.	Διάγνωση OBI.....	118
17.	ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ OBI.....	120
18.	ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΕΠΙΠΤΩΣΕΙΣ OBI.....	121
19.	ΚΙΝΔΥΝΟΣ ΜΕΤΑΓΓΙΣΗΣ OBI.....	122
19.1.	ΜΕΤΑΜΟΣΧΕΥΣΗ ΗΠΑΤΟΣ.....	122
19.2.	ΕΠΑΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ OBI.....	123
20.	ΟΡΟΛΟΓΙΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ ΤΗΣ HBV ΛΟΙΜΩΞΗΣ.....	125
20.1.	ΟΡΟΛΟΓΙΚΟΙ ΚΑΙ ΙΟΛΟΓΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΙΟΥ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ Β.....	127
21.	Η ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ HBV.....	130
	ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	131
1.	ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ.....	133
2.	ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	134
2.1.	ΠΛΗΘΥΣΜΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ.....	134
2.2.	ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ.....	134
2.3.	ΟΡΟΛΟΓΙΚΕΣ ΕΞΕΤΑΣΕΙΣ (ΔΕΙΚΤΕΣ HBV ΛΟΙΜΩΞΗΣ).....	135
2.4.	ΒΑΣΙΚΕΣ ΑΡΧΕΣ ΤΗΣ ΑΛΥΣΙΔΩΤΗΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗΣ ΠΟΛΥΜΕΡΑΣΗΣ.....	136
2.5.	ΒΑΣΙΚΕΣ ΑΡΧΕΣ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ.....	138
2.6.	ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΑΝΤΙ-HBc ΚΑΙ HBV ΙΑΙΜΙΑΣ.....	143
2.7.	ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ.....	145

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	146
4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ	168
5. ΠΕΡΙΛΗΨΗ	171
6. ABSTRACT	173
7. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	175

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1. ΙΟΓΕΝΕΙΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΕΣ

Ο όρος ιογενής ηπατίτιδα χρησιμοποιείται στην Ιατρική ιολογία για να περιγράψει μια φλεγμονώδη νόσο του ήπατος, που προκαλείται από λοίμωξη με κάποιον από τους μέχρι τώρα γνωστούς ιούς ηπατίτιδας Α,Β,С, D, E και G. Όλοι αυτοί οι ιοί ανήκουν σε διάφορες ομάδες ταξινόμησης. Υπάρχει ευρεία διαφοροποίηση στην επιδημιολογία και τα κλινικά χαρακτηριστικά τους. Το μόνο κοινό χαρακτηριστικό των παραγόντων των ηπατίτιδων είναι ότι το ήπαρ είναι το όργανο στόχος και συγχρόνως η κύρια θέση πολλαπλασιασμού.

Άλλοι ιοί (ηπατιτιδομιμητικοί), όπως ο κυτταρομελοϊός (CMV), ο Epstein-Barr, ιοί αιμορραγικών πυρετών (π.χ κίτρινου πυρετού), της ερυθράς, του απλού έρπητα, ιοί coxsackie, αδενοϊοί και εντεροϊοί μπορούν να προκαλέσουν ηπατίτιδα, αλλά συνήθως οι κλινικές τους εκδηλώσεις οφείλονται στη συμμετοχή άλλων οργάνων και είναι περισσότερο προεξάρχοντα τα συμπτώματα από αυτά παρά από το ήπαρ.

Οι τέσσερις αυτοί αιτιολογικοί παράγοντες ιογενών ηπατίτιδων (HBV, HCV, HDV, HGV) αναφέρονται μαζί επειδή μοιράζονται πολλά επιδημιολογικά και κλινικά χαρακτηριστικά.

1.1. ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ

Ο Lorman το 1885, εμφανίζεται να είναι ένας από τους πρώτους που υπέθεσε τη σχέση μεταξύ παρεντερικής μετάδοσης και εμφάνισης ίκτερου. Αναγνώρισε στη Γερμανία 200 άτομα που παρουσίασαν ίκτερο μετά από εμβολιασμό για ευλογιά με ιό από ανθρώπινη λέμφο. Την ίδια περίοδο συνδέθηκε και στην Ευρώπη και τις ΗΠΑ η εμφάνιση ίκτερου μετά μακρά περίοδο επώασης με την χρησιμοποίηση συρίγγων από το ένα άτομο στο άλλο καθώς και με τη χρήση ανθρώπινου αίματος ή παραγώγων του.

Η ανακάλυψη από τον Baruch Blumberg και τους συναδέλφους, του αντιγόνου της Αυστραλίας, το οποίο αργότερα θα αναγνωριζόταν ως επιφανειακό αντιγόνο του ιού της ηπατίτιδας Β (HBV), ήταν μια σημαντική ανακάλυψη για τη βελτίωση της παγκόσμιας υγείας.^[1, 2] Για δεκαετίες πριν από την ανακάλυψη του Blumberg, ένας άγνωστος ιός σε δείγματα αίματος και πλάσματος ήταν η υποψία αιτίας ηπατίτιδας μετά τη μετάγγιση.^[3]

Η αναγνώριση ότι το αντιγόνο της Αυστραλίας ήταν δείκτης ιογενούς ηπατίτιδας διευκόλυνε τη δημιουργία πρωτοκόλλου εξέτασης αίματος που οδήγησε σε διπλάσια έως

τριπλάσια συχνότητα εμφάνισης ηπατίτιδας μετά τη μετάγγιση,^[4] με τα υπόλοιπα περιστατικά πιθανώς να οφείλονται στον ιό της ηπατίτιδας C (HCV), τα οποία δεν θα μπορούσαν να εντοπιστούν για άλλα 23 χρόνια.^[5]

Αναδρομικές μελέτες συνέδεσαν επίσης την παρουσία του αντιγόνου της Αυστραλίας με χρόνιες παθήσεις του ήπατος όπως κίρρωση και ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα (HCC).^[6, 7] Τέλος, η ανακάλυψη του αντιγόνου Αυστραλία διευκόλυνε επίσης την ενδεχόμενη ανάπτυξη ενός εμβολίου που έχει μειώσει σε μεγάλο βαθμό την παγκόσμια βάρος της HBV λοίμωξη,^[8-10] και Baruch Blumberg τιμήθηκε με το βραβείο 1976 Νόμπελ Ιατρικής για του ανακάλυψη του HBV.

Παρά τις δεκαετίες εργασίας μεταξύ της ανακάλυψης του HBV και της τρέχουσας κατανόησης του ιού, πολλές πτυχές του κύκλου ζωής και της παθογένειας του HBV παραμένουν ασαφείς. Το γεγονός ότι εκτιμάται ότι περίπου το ένα τρίτο του παγκόσμιου πληθυσμού έχει μολυνθεί με HBV κάποια στιγμή, ότι περίπου το 5% του πληθυσμού (350-500 εκατομμύρια άνθρωποι) είναι χρόνια μολυσμένα με τον ιό και ότι περίπου 800.000 άνθρωποι πεθαίνουν ετησίως από οξείες ή χρόνιες συνέπειες που σχετίζονται με τον HBV υπογραμμίζει τη σημασία μιας πληρέστερης κατανόησης της βιολογίας και της παθογένειας του HBV.^[11, 12 13]

Ωστόσο, τα περισσότερα άτομα με χρόνια λοίμωξη από HBV δεν γνωρίζουν τον οροστάτη τους. Η καθυστερημένη διάγνωση σημαίνει ότι πολλοί μπορεί να εξελιχθούν σε μακροπρόθεσμες επιπλοκές και να εμφανιστούν μόνο με προχωρημένη νόσο.^[14] Η διευρυμένη πρόσβαση σε δοκιμές για τον HBV είναι εξαιρετικά σημαντική προκειμένου να αυξηθεί ο αριθμός των μολυσμένων ατόμων που γνωρίζουν την κατάστασή τους για σύνδεση με τη φροντίδα, καθώς και ο εντοπισμός υποψηφίων για εμβολιασμό κατά του HBV και η διευκόλυνση των προσπαθειών πρόληψης και ελέγχου.

1.2. ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ

Ο κίνδυνος ανάπτυξης χρόνιας λοίμωξης από HBV μετά από οξεία έκθεση κυμαίνεται από 90% στα νεογέννητα μητέρων θετικών σε HBeAg έως 25% έως 30% σε βρέφη και παιδιά κάτω των 5 ετών και σε λιγότερο από 5% στους ενήλικες.^[16-20] Επιπλέον, τα ανοσοκατασταλμένα άτομα είναι πιο πιθανό να αναπτύξουν χρόνια λοίμωξη από HBV μετά από οξεία λοίμωξη.^[22, 23]

Σε χώρες όπως οι Ηνωμένες Πολιτείες όπου τα περισσότερα βρέφη, παιδιά και έφηβοι έχουν εμβολιαστεί κατά του HBV, ο κίνδυνος μετάδοσης του HBV σε παιδικούς σταθμούς ή σχολεία είναι εξαιρετικά χαμηλός και τα παιδιά με θετικά HBsAg δεν πρέπει να απομονώνονται ή να αποτρέπονται από τη συμμετοχή τους δραστηριότητες συμπεριλαμβανομένου του αθλητισμού.

Τον Μάρτιο του 2015, ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (ΠΟΥ) δημοσίευσε τις πρώτες παγκόσμιες οδηγίες για την πρόληψη, τη φροντίδα και τη θεραπεία ατόμων με χρόνια λοίμωξη από HBV.^[15]

Αυτές οι κατευθυντήριες γραμμές επικεντρώθηκαν στην αξιολόγηση της καταλληλότητας θεραπείας, στην έναρξη θεραπειών πρώτης και δεύτερης γραμμής και στην παρακολούθηση. Αυτές οι αρχικές οδηγίες δεν περιλάμβαναν συστάσεις δοκιμών, και συγκεκριμένα ποιες δοκιμές θα χρησιμοποιηθούν. Δεδομένης της μεγάλης επιβάρυνσης του HBV σε περιβάλλον χαμηλού και μεσαίου εισοδήματος όπου υπάρχουν περιορισμένες ή καθόλου υφιστάμενες κατευθυντήριες γραμμές δοκιμών HBV, η ανάπτυξη κατευθυντήριων γραμμών δοκιμών HBV αποτελεί προτεραιότητα.

Τον Μάιο του 2016, η Παγκόσμια Συνέλευση Υγείας ενέκρινε την *Παγκόσμια Στρατηγική του Τομέα Υγείας (GHSS) για την ιική ηπατίτιδα 2016-2021*. Το GHSS ζητά την εξάλειψη της ιογενούς ηπατίτιδας ως απειλή για τη δημόσια υγεία έως το 2030 (μείωση νέων μολύνσεων κατά 90% και θνησιμότητα κατά 65%). Αυτή η έκθεση της *Παγκόσμιας ηπατίτιδας του ΠΟΥ* περιγράφει, για πρώτη φορά, τις παγκόσμιες και περιφερειακές εκτιμήσεις για την ιική ηπατίτιδα το 2015, θέτοντας τη βάση για την παρακολούθηση της προόδου στην εφαρμογή της νέας παγκόσμιας στρατηγικής.

2. Η ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ Β

2.1. ΙΟΛΟΓΙΑ

2.1.1. Ταξινόμηση και Δομή του ιού

Ενώ η ανακάλυψη του ανθρώπινου HBV που στη συνέχεια ονομάζεται HBV, συνέβη στη δεκαετία του 1960, πρόσφατη έρευνα έδειξε ότι οι ιοί της ηπατίτιδας Β υπήρχαν στην πραγματικότητα από την εποχή των δεινοσαύρων. Στην πραγματικότητα, ο πρώτος γνωστός ιός της ηπατίτιδας Β είναι περίπου 82 εκατομμύρια ετών και εντοπίστηκε από το DNA των μολυσμένων πτηνών από τη μεσοζωική περίοδο.^[23]

Αν και υπάρχουν πολλές θεωρίες για την προέλευση του HBV, φαίνεται ότι η μόλυνση των θηλαστικών είναι ένα πολύ πιο πρόσφατο γεγονός. Το άλμα στους ανθρώπους, συγκεκριμένα, μπορεί να ήταν μόλις 40.000 χρόνια πριν.^[24] Παρά το εξελικτικό χρονοδιάγραμμα, ο σύγχρονος HBV είναι εντυπωσιακά παρόμοιος με αυτούς τους αρχαίους ιούς ηπατίτιδας Β.^[25]

Ο HBV μπορεί να επιβιώσει όταν φυλάσσεται για 15 χρόνια στους -20°C , για 24 μήνες στους -80°C , για 6 μήνες σε θερμοκρασία δωματίου και για 7 ημέρες στους 44°C . Πράγματι, τα περίπου 400 ετών μουμιοποιημένα υπολείμματα ενός παιδιού που βρέθηκαν στην κορυφή ενός βουνού στην Κορέα είχαν HBV στο ήπαρ που μπορούσε να προσδιοριστεί με αλληλουχία και εντοπίστηκε ένας ιικός γονότυπος C.

Η σημερινή οικογένεια *Hepadnaviridae* είναι μια ομάδα μικρών, ηπατοτροπικών, ιών DNA που χωρίζονται σε δύο διαφορετικά γένη με βάση τις αποκλίνουσες γονιδιωματικές αλληλουχίες τους και το μικρό εύρος μόλυνσης του ξενιστή. Οι ιοί του αεροπορικού ιού, όπως ο πάπιος HBV (DHBV) και ο ερωδιός HBV, μολύνουν τα πτηνά.

Αντίθετα, οι ορθοεπαδναϊοί μολύνουν θηλαστικά και περιλαμβάνουν μεταξύ άλλων τον HBV και τον ιό της ηπατίτιδας Woodchuck (WHV). Κάθε μέλος της οικογένειας *Hepadnaviridae* είναι κυρίως είδος συγκεκριμένο. Για παράδειγμα, οι μόνοι μη ανθρώπινοι ξενιστές του HBV είναι οι χιμπατζήδες και οι τρίχρωμοι, καθένας από τους οποίους μπορεί να μολυνθεί πειραματικά.^[26,] Επιπλέον, ένας ιός πρωτευόντων παρόμοιος με τον HBV, που ονομάζεται μάλλινος μαϊμού HBV, έχει ταυτοποιηθεί σε μάλλινους πιθήκους και έχει οριστεί ως το πρωτότυπο ενός νέου είδους ιών που μοιάζουν με ηπατίτιδα Β.

Υπάρχει μέγιστη απόκλιση αλληλουχίας 40% μεταξύ των ορθοεπαδναϊών, ενώ μόνο 20% της απόκλισης αλληλουχίας υπάρχει μεταξύ των ιών των αεροηπαπανναϊών. Ωστόσο, υπάρχει ελάχιστη έως καθόλου ομολογία μεταξύ των δύο γενών. Όλα τα HBV θηλαστικών κωδικοποιούν μια πρωτεΐνη X, η οποία έχει αποδειχθεί ότι απαιτείται για αντιγραφή του ιού και έχει ογκογονικές ιδιότητες (συζητείται παρακάτω).

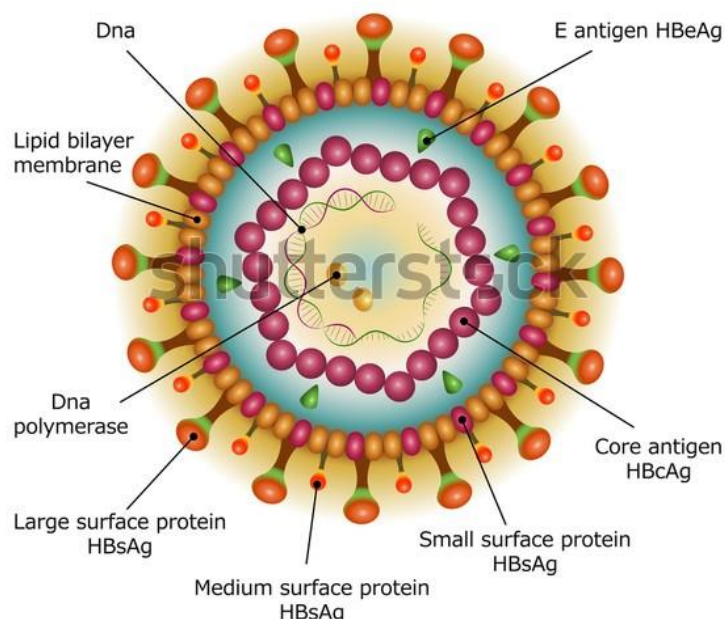
Αυτή η πρωτεΐνη X είτε λείπει είτε είναι πολύ αποκλίνουσα στους ιούς των πτηνών, και η απόκτηση αυτής της πρωτεΐνης X θα μπορούσε να ήταν ένας ουσιαστικός παράγοντας για την εξέλιξη των ιών του ηπαπανναϊού από ξενιστές πτηνών.^[27] Η γονιδιωματική ποικιλομορφία μεταξύ των ειδών των ηπαδναϊών εξετάζεται λεπτομερώς στη βιβλιογραφία.^[28]

Ενώ υπάρχει σημαντική γονιδιωματική ποικιλομορφία μεταξύ των ικών ειδών και ιδιαίτερα μεταξύ των *hepadnaviridae* γένη, όλοι οι ιοί *hepadnavirus* έχουν μεγάλο αριθμό κοινών χαρακτηριστικών. Μεταξύ αυτών, όλα τα μέλη έχουν ένα εξαιρετικά μικρό (3,0-3,3 kb) και συμπαγές γονιδίωμα DNA που κωδικοποιεί επικαλυπτόμενα ανοιχτά πλαίσια ανάγνωσης (ORF). Επιπλέον, όλοι οι ιοί *hepadnavirus* χρησιμοποιούν μια στρατηγική αντιγραφής γονιδιώματος στην οποία ο ιός αναπαράγει το γονιδιώμα του DNA με αντίστροφη μεταγραφή ενός ενδιάμεσου RNA χρησιμοποιώντας τη δραστηριότητα αντίστροφης-μεταγραφάσης της ιικής πολυμεράσης

Οι ιοί *hepadnavirus* διακρίνονται επίσης από σχεδόν όλους τους άλλους ιούς που χρησιμοποιούν αντίστροφη μεταγραφή για αντιγραφή του ιού από μια σειρά μοναδικών χαρακτηριστικών, συμπεριλαμβανομένου του περιβλήματος ενός γονιδιώματος DNA, αντί του RNA, και το γεγονός ότι η ενσωμάτωση του γονιδιώματος του *hepadnavirus* DNA στο γονιδίωμα του κυττάρου ξενιστή είναι δεν απαιτείται για αντιγραφή ιού. Αυτά τα χαρακτηριστικά, κοινά για όλα τα μέλη της οικογένειας του ιού *hepadnavirus*, *Hepadnaviridae* ως ξεχωριστή οικογένεια ιών.^[29]

Hepatitis B Virus

Baltimore Group VII (dsDNA-RT)



www.shutterstock.com · 173727872

2

Εικόνα 1. Ηλεκτρονική μικρογραφία των κυκλοφορούντων μορφών σωματιδίων HBV στο αίμα φαίνεται στην κορυφή και σχηματικό σχέδιο του σωματιδίου Dane, του μολυσματικού σωματιδίου HBV, στο κάτω μέρος με διάφορα δομικά χαρακτηριστικά.

2.2. Η ΟΡΓΑΝΩΣΗ ΤΟΥ ΓΕΝΕΤΙΚΟΥ ΥΛΙΚΟΥ HBV

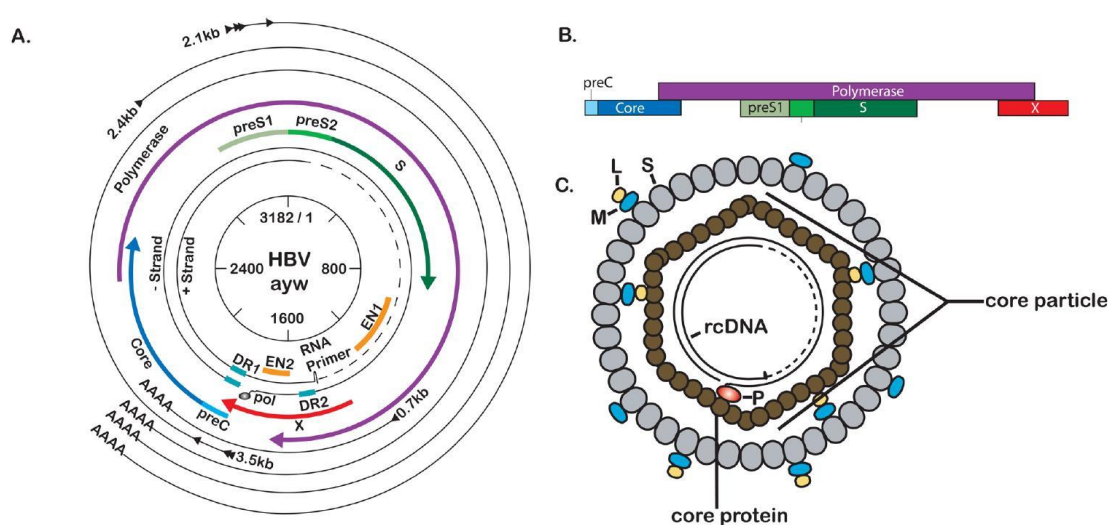
Το HBV έχει ένα μικρό (3,2 kb), μερικώς δίκλωνο, χαλαρό-κυκλικό γονιδίωμα DNA που κωδικοποιεί τέσσερα αλληλεπικαλυπτόμενα ORFs [Εικόνα 1α]. Το μεγαλύτερο ORF κωδικοποιεί την ιική πολυμεράση, η οποία έχει επίσης δραστηριότητα αντίστροφης μεταγραφάσης (RT) που παράγει τον πρώτο κλώνο του γονιδιώματος DNA από ένα ενδιάμεσο RNA. Το δεύτερο μεγαλύτερο ORF κωδικοποιεί τις τρεις πρωτεΐνες ιικού περιβλήματος: μεγάλο (L-), μεσαίο (M-) και μικρό (S-) αντιγόνο επιφάνειας (HBsAg).

Ένα άλλο ORF κωδικοποιεί precore, επίσης αναφέρεται ως HBV E αντιγόνο (HBeAg), και την πρωτεΐνη πυρήνα, η οποία αποτελεί το ιικό καψίδιο. Τέλος, το μικρότερο ORF κωδικοποιεί την πρωτεΐνη HBV X (HBx), μια μικρή ρυθμιστική πρωτεΐνη που έχει αποδειχθεί ότι απαιτείται για την αντιγραφή του HBV τόσο *in vitro* όσο και *in vivo*.^[30-33] Τα ORFs του ιού κωδικοποιούνται σε διακριτά καπάκια και πολυαδενυλιωμένα RNA που μπορούν να χωριστούν σε γονιδιωματικά και υπογονιδιωματικά αντίγραφα.

Οι υπογονιδιωματικές μεταγραφές λειτουργούν μόνο ως πρότυπα για πρωτεΐνες HBV και αποτελούνται από τη μεταγραφή 0,7 kb, η οποία κωδικοποιεί HBx, και τις μεταγραφές HBsAg 2,1 kb και 2,4 kb που κωδικοποιούν M- και S-HBsAg, και L-HBsAg, αντίστοιχα. Οι γονιδιωματικές μεταγραφές δρουν ως mRNAs για προ-πυρήνα, πυρήνα και πολυμεράση. Η γονιδιωματική μεταγραφή που κωδικοποιεί τόσο τον πυρήνα όσο και την πολυμεράση είναι πολυλειτουργική και αναφέρεται ως προγεννητικό RNA (pgRNA).

Το pgRNA είναι το πρότυπο για την αντιγραφή του HBV και μεταγράφεται αντίστροφα για να δημιουργήσει το γονιδίωμα του HBV DNA. Καθώς το γονιδίωμα του ιού είναι μόνο 3,2 kb και το pgRNA είναι 3,5 kb, το pgRNA είναι μεγαλύτερο από τη μονάδα μήκους, τελικώς περιττό αντίγραφο του γονιδιώματος του ιού.

Όλες οι μεταγραφές HBV RNA μοιράζονται την ίδια θέση πολυαδενυλίωσης, και κάθε μία από τις μικρότερες μεταγραφές αποτελεί το 3' άκρο κάθε μιας από τις μεγαλύτερες μεταγραφές. Αυτό σημαίνει ότι η αλληλουχία της μεταγραφής HBx περιέχεται στο 3' άκρο όλων των μεταγραφών HBV mRNA, ενώ η μεγαλύτερη μεταγραφή είναι η μόνη ιική μεταγραφή που περιέχει αλληλουχία που δεν μοιράζεται με τις άλλες μεταγραφές.^[34.35]



Εικόνα 2. Μοριακή βιολογία του ιού της ηπατίτιδας Β (HBV). (Α) Κλιμακοποιημένη απεικόνιση του γονιδιώματος HBV (γονότυπος ayw). Ο εσωτερικός κύκλος δείχνει τη γονιδιωματική θέση σε σχέση με τη θέση EcoRI στη θέση 1. Το μερικώς δίκλωνο γονιδίωμα απεικονίζεται με προσαρτημένο εκκινητή RNA και πρωτεΐνη πολυμεράσης. Τα ανοιχτά πλαίσια ανάγνωσης (ORF) υποδεικνύονται από τις παχύτερες, χρωματιστές γραμμές. Οι εξωτερικοί μαύροι κύκλοι αντιπροσωπεύουν τις μεταγραφές του ιού με την κοινή θέση πολυαδενυλίωσης. (Β) σχηματική αναπαράσταση της αλληλεπικαλυπτόμενης φύσης των HBV ORF · (Γ) το ώριμο HBV virion (σωματίδιο Dane) αποτελείται από δύο κύρια μέρη: ένα νουκλεοκαψίδιο (ή σωματίδιο πυρήνα) που αποτελείται από ένα μερικώς δίκλωνο γονιδίωμα DNA συνδεδεμένο με την πολυμεράση (P) και ενθυλακωμένο με διμερή της πρωτεΐνης του πυρήνα και ένα ικό φάκελος που αποτελείται κυρίως από S-HBsAg (S).

Η μεταγραφή των HBV RNA οδηγείται από συγκεκριμένες αλληλουχίες προαγωγών εντός του ιικού γονιδιώματος. Τουλάχιστον μερικοί από τους ηπατοτροπικούς περιορισμούς του HBV μπορούν να αποδοθούν σε μεταγραφική ενεργοποίηση από παράγοντες μεταγραφής ειδικούς για τα ηπατοκύτταρα. Για παράδειγμα, η ενεργοποίηση του προαγωγέα Enhancer I/HBx είναι ένα απαραίτητο πρώτο βήμα στην ιική μεταγραφή, καθώς αυτό πιστεύεται ότι ενισχύει τη μεταγραφή από μεταγενέστερους υποκινητές.

Ένας αριθμός παραγόντων μεταγραφής που έχουν χαρτογραφηθεί στον προαγωγέα EN1/HBx είναι ειδικοί για το ήπαρ, συμπεριλαμβανομένων των πυρηνικών παραγόντων των ηπατοκυττάρων (HNF) 1, HNF3 και HNF4. Πολλές από τις θέσεις δέσμευσης των παραγόντων μεταγραφής που έχουν ταυτοποιηθεί εντός των 4 προαγωγών περιοχών του HBV είναι για παράγοντες μεταγραφής που ενεργοποιούνται από πρωτεΐνες HBV, συχνά HBx, υπονοώντας έναν συγκεκριμένο καταρράκτη μεταγραφής.^[36] Η ρύθμιση της μεταγραφής του HBV με τη μεσολάβηση παράγοντα μεταγραφής έχει αναθεωρηθεί λεπτομερέστερα αλλού.^[37]

Το γονιδίωμα HBV κωδικοποιεί επτά πρωτεΐνες: HBx, πυρήνα, πολυμεράση, L-, M-, και S-HBsAg, και precore/HBeAg [Εικόνα 2]. Από αυτές τις πρωτεΐνες, η HBx είναι μια μη δομική ρυθμιστική πρωτεΐνη, το HBeAg δεν ενσωματώνεται σε ιοσωματίδια και εκκρίνεται ανεξάρτητα από τα κύτταρα, η πολυμεράση είναι υπεύθυνη για την αντιγραφή του γονιδιώματος και οι πρωτεΐνες του πυρήνα και των HBsAg σχηματίζουν τις δομικές πλευρές του ιοσωματίου.^[38] Καθένα από αυτά θα συζητηθεί λεπτομερέστερα παρακάτω.

2.2.1. Περιοχές κωδικοποίησης πρωτεϊνών

2.2.1.1. HBeAg αντιγόνο

Το HBeAg είναι το τελικό προϊόν μετα-μεταφραστικής επεξεργασίας του μεταφρασμένου προ-προ-ORF. Ως μία από τις πρωτεΐνες που κωδικοποιούνται από ένα γονιδιωματικό αντίγραφο, ο γονιδιωματικός προαγωγέας οδηγεί την έκφρασή του. Το HBeAg ORF κωδικοποιεί μια αλληλουχία στόχευσης ενδοπλασματικού δικτύου (ER) που μεταφέρει μεταφραστικά το πεπτίδιο στο ER, όπου η πρωτεΐνη υποβάλλεται σε επεξεργασία στο τελικό 15kD HBeAg που εκκρίνεται από κύτταρα μολυσμένα με HBV.^[39]

Η λειτουργία του HBeAg παραμένει ελλιπώς καθορισμένη. Πολλαπλές ομάδες έχουν υποθέσει ότι το HBeAg μπορεί να διευκολύνει την ανοσοαποφυγή από τον HBV και μελέτες με ποντίκια HBc/HBeAg (tg) σταυρωμένα με ποντίκια υποδοχέα T κυττάρων (TCR) -Tg που εκφράζουν υποδοχείς για τους HBc/HBeAg υποδηλώνουν συγκεκριμένα ότι μια λειτουργία του HBeAg είναι για την καταστολή της ανοσοαπόκρισης στην πρωτεΐνη πυρήνα HBV.^[40, 41]

Η έκκριση ενός ιικού δείκτη που δεν υπάρχει στο μολυσματικό ιό του HBV μπορεί να βοηθήσει στην εξασθένιση της εξουδετερωτικής ανοσοαπόκρισης, εκτρέποντας αυτήν την απόκριση μακριά από μολυσματικά ιικά σωματίδια.^[42] Από διαγνωστική άποψη, το HBeAg είναι ένας σημαντικός δείκτης της αντιγραφής του HBV και τα επίπεδα του HBeAg στον ορό γενικά θεωρείται ότι συσχετίζονται με τον ιικό τίτλο. Στην πραγματικότητα, η ορομετατροπή HBeAg θεωρείται σημαντική πτυχή της μετάβασης στην ανενεργή κατάσταση φορέα μόλυνσης (περιγράφεται παρακάτω).^[37]

Οι μεταλλάξεις του HBV δημιουργούνται κυρίως λόγω της έλλειψης ικανότητας διόρθωσης από την πολυμεράση HBV και της φιλοξενίας της ανοσολογικής πίεσης, η οποία είναι ένας πολύ σημαντικός παράγοντας για την πρόβλεψη της εξέλιξης της νόσου και των θεραπευτικών αποτελεσμάτων. Αρκετοί τύποι μεταλλάξεων HBV προ -πυρήνα (preC/C) έχουν περιγραφεί μέχρι σήμερα. Η ανοσοαπόκριση του ξενιστή έναντι των T κυττάρων οδηγεί σε μετάλλαξη στην περιοχή preC/C. Συγκεκριμένα, οι μεταλλάξεις preC/C στην κλάση MHC. οι περιορισμένες περιοχές είναι πιο συχνές από ό, τι σε άλλες περιοχές και σχετίζονται σημαντικά με το ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα. Ορισμένες μεταλλάξεις, συμπεριλαμβανομένου του preC G1896A, σχετίζονται επίσης σημαντικά με χρόνια λοίμωξη με αρνητικό HBeAg.

2.2.2.2. Επιφανειακά αντιγόνα

Ο HBV κωδικοποιεί τρεις πρωτεΐνες περιβλήματος, ή επιφανειακά αντιγόνα, που αποτελούν το ιικό περίβλημα: μεγάλο (L), μεσαίο (M) και μικρό (S) αντιγόνο επιφάνειας. Η μικρότερη πρωτεΐνη περιβλήματος, ή S (24 kD), έχει μήκος 226 αμινοξέα (aa) και αποτελεί μια κοινή C-τερματική περιοχή των δύο μακρύτερων πρωτεϊνών φακέλου. Η πρωτεΐνη M (31 kD) περιέχει την αλληλουχία S με 55αα-τερματική επέκταση γνωστή ως preS2.

Η έκφραση του mRNA που κωδικοποιεί M και S οδηγείται από τον υποκινητή S, με την μετάφραση να ξεκινά από ένα AUG ανάντη (M) ή κατάντη (S). Η πρωτεΐνη L (39 kD), η μεγαλύτερη από τις πρωτεΐνες φακέλου, περιέχει S, preS2 και επιπλέον 108aa ή 119aa (ανάλογα με τον γονότυπο) N-τερματική επέκταση γνωστή ως preS1. Το L-HBsAg κωδικοποιείται από το δικό του αντίγραφο mRNA που ελέγχεται από τον προαγωγό preS1.

Οι πρωτεΐνες περιβλήματος συντίθενται στο ER, όπου επιτυγχάνουν τη διαμεμβρανική τους διαμόρφωση. Επειδή και οι τρεις πρωτεΐνες περιέχουν πανομοιότυπη C-τερματική αλληλουχία, η διαμεμβρανική τοπολογία αυτής της περιοχής είναι η ίδια και στις τρεις πρωτεΐνες. Συγκεκριμένα, μια N-τερματική αλληλουχία σήματος ξεκινά την εισαγωγή του S στη μεμβράνη ER, ακολουθούμενο από ένα άλλο σήμα που ωθεί την κατάντη πεπτιδική αλληλουχία στον αυλό ER.

Η αλληλουχία ανάντη αυτού του σήματος παραμένει στο κυτταρόλυμα, με το ίδιο το πεδίο σήματος να λειτουργεί ως διαμεμβρανική περιοχή αγκύρωσης. Αυτός ο προσανατολισμός σχηματίζει δύο βρόχους. ο ένας βρόχος, μεταξύ aa 23-79, παραμένει στην κυτταροσολική πλευρά, ενώ ο άλλος βρόχος, μεταξύ aa 99-169, παραμένει στον αυλό ER.^[38] Είναι σημαντικό ότι ο αυλικός βρόχος περιέχει τον κύριο διαμορφωτικό επίτοπο του HBsAg και γλυκοζυλιώνεται σε σχεδόν τις μισές από όλες τις ομάδες S-πρωτεΐνης.^[39]

Μόλις εμφανιστεί η εκκόλαψη της μεμβράνης, αυτοί οι επίτοποι βρίσκονται στην εξωτερική επιφάνεια των ιικών σωματιδίων. Η τοπολογία του M είναι πανομοιότυπη με αυτή του S, εκτός από την παρουσία preS2 εντός του αυλού ER.^[40]

Ένα κύριο χαρακτηριστικό του L είναι ότι υπάρχει σε δύο διαμορφώσεις που ποικίλλουν στον εντοπισμό του N-τερματικού τομέα. Στην πρώτη διαμόρφωση του L, οι περιοχές preS1 και preS2 υπάρχουν στο κυτταρόλυμα. Αυτή η διαμόρφωση του L είναι απαραίτητη για τη σύνδεση των καψιδίων και για τη συναρμολόγηση των ιοσωμάτων του HBV.

Στη δεύτερη διαμόρφωση του L, το N-άκρο βρίσκεται στον αυλό ER και, ως αποτέλεσμα, εκτίθεται στην επιφάνεια των ιικών σωματιδίων. Έτσι, αυτή η διαμόρφωση του L παίζει ρόλο στη μόλυνση των ηπατοκυττάρων. Η διαμορφωτική αλλαγή διευκολύνεται από αλληλεπιδράσεις μοριακών καπερών Hsc70/Hsp40 και BiP με L. Ωστόσο, οι ακριβείς λεπτομέρειες του μηχανισμού που βρίσκεται κάτω από αυτό το βήμα δεν είναι ακόμη κατανοητές.

Ο τομέας preS1 περιέχει την περιοχή δέσμευσης υποδοχέα για τον HBV,^[41, 42] έτσι πρέπει να εκτεθεί έξω από το κελί. Ένα μυριστυλιωμένο πεπτίδιο που περιέχει ένα τμήμα της N-τελικής περιοχής preS1 είναι αρκετό για να αναστείλει τη μόλυνση^[41] και σήμερα αναπτύσσεται ως θεραπευτικό.^[43]

Η κύρια λειτουργία των επιφανειακών πρωτεϊνών αντιγόνου είναι να σχηματίσουν το περίβλημα του HBV.

Τρεις διαφορετικές μορφές ικών σωματιδίων εκκρίνονται από ένα μολυσμένο με HBV κύτταρο ως αποτέλεσμα της άνισης έκφρασης καθενός από τα τρία αντιγόνα επιφανείας. Το S-HBsAg είναι το υψηλότερο εκφρασμένο από τις τρεις πρωτεΐνες περιβλήματος και αποτελεί την πλειοψηφία του ιικού περιβλήματος. Άθικτα, μολυσματικά ιοσωματίδια HBV, που ονομάζονται Δανικά σωματίδια, περιλαμβάνουν επίσης M-HBsAg και L-HBsAg.

Επιπλέον, ένα μολυσμένο με HBV κύτταρο παράγει μη μολυσματικά υπο-ικα σωματίδια (SVP) κατασκευασμένα κυρίως από S-HBsAg που περιέχουν ποικίλες (αλλά πολύ χαμηλότερες) ποσότητες M-HBsAg και ελάχιστες έως καθόλου L-HBsAg. Αυτά τα SVP μπορούν να φτάσουν μια συγκέντρωση 10.000 φορές υψηλότερη από τα μολυσματικά σωματίδια HBV στον ορό ενός μολυσμένου ατόμου.^[44, 45] Τα SVP παράγονται σε δύο μορφές: σφαίρες 25 nm, οι οποίες αποτελούνται σχεδόν αποκλειστικά από S-HBsAg και νήματα 22 nm, τα οποία αποτελούνται κυρίως από S-HBsAg, με μερικά M-HBsAg και δυνητικά μικρές ποσότητες L-HBsAg

Το Προς το παρόν είναι άγνωστο γιατί ο HBV παράγει SVP σε τόσο περίσσεια σε σύγκριση με το επίπεδο των μολυσματικών ιοσωμάτων, αλλά έχουν προταθεί πολλές υποθέσεις. Για παράδειγμα, έχει προταθεί ότι η περίσσεια SVP δρα για να εκτρέψει τα εξουδετερωτικά αντισώματα μακριά από μολυσματικά σωματίδια και ότι τα SVP παίζουν ρόλο στην πρόκληση της ανοσολογικής ανοχής που απαιτείται για τη διατήρηση μιας μακροχρόνιας χρόνιας λοίμωξης.

Μια μελέτη DHVV SVPs έδειξε ότι η αναλογία SVP προς μολυσματικό σωματίδιο παίζει ρόλο στον προσδιορισμό της αποτελεσματικότητας της ηπατοκυτταρικής μόλυνσης, με τους SVP να ενεργούν είτε για την ενίσχυση είτε για την αναστολή της μόλυνσης με βάση την αναλογία SVP-μολυσματικών σωματιδίων.^[46]

2.2.2.3. Πρωτεΐνη πυρήνα

Η πρωτεΐνη πυρήνα HBV 21 kD, ή HBcAg, είναι το οργανωτικό πλαίσιο για το virion. Όταν εκφράζεται σε κύτταρα, ο πυρήνας υπάρχει κυρίως ως διαλυτά διμερή, ή σε $T = 3$ ή $T = 4$ εικοσαεδρικά καψίδια. Περίπου το 95% των ώριμων νουκλεοκαψιδίων που απομονώνονται από τα Δανέζικα σωματίδια περιέχουν $T = 4$ καψίδια που αποτελούνται από 120 διμερή πυρήνα, με το υπόλοιπο 5% να είναι το μικρότερο $T = 3$ με 90 διμερή.^[47] Ο πυρήνας μεταφράζεται από το pgRNA και ο πρώτος 149aa του πυρήνα σχηματίζει τον τομέα συναρμολόγησης, ο οποίος είναι επαρκής για *in vitro* σχηματισμό καψιδίων που δεν διακρίνονται από τα καψίδια που απομονώνονται από τα σωματίδια του Δάνου.^[48] Το υπόλοιπο 34-36aa αποτελεί τον πλούσιο σε αργινίνη C-τερματικό τομέα (CTD). Η φωσφορυλίωση διαφόρων aa στο CTD ρυθμίζει πολλαπλά στάδια του κύκλου ζωής του HBV.^[49 - 52]

Ενώ ο καλύτερα περιγραφόμενος ρόλος για την πρωτεΐνη του πυρήνα είναι η συναρμολόγηση του νουκλεοκαψιδίου, τα αποτελέσματα πρόσφατων μελετών υποδεικνύουν επίσης ότι η πρωτεΐνη του πυρήνα δεν λειτουργεί απλώς ως αδρανές δοχείο για το γονιδίωμα του HBV. Στην πραγματικότητα, η πρωτεΐνη του πυρήνα συνδέεται με το HBV ομοιοπολικά κλειστό κυκλικό DNA (cccDNA), δυνητικά για τη ρύθμιση της απόστασης των νουκλεοσωμάτων στο cccDNA. Το cccDNA είναι ένα πυρηνικά εντοπισμένο ενδιάμεσο αναδιπλασιασμό των ιών hepadnavirus που σχηματίζει ένα μικροχρωμόσωμα (περιγράφεται λεπτομερέστερα παρακάτω).^[53]

Επιπλέον, το CTD απαιτείται για τη συσκευασία pgRNA,^[54] και η βασική πρωτεΐνη παίζει επίσης ενεργό ρόλο στην έναρξη της αντίστροφης μεταγραφής^[55-57] και σε ώριμο περίβλημα νουκλεοκαψιδίου.^[58] Οι πολλοί δυνητικοί ρόλοι της βασικής πρωτεΐνης στον κύκλο ζωής του HBV αναθεωρήθηκαν πρόσφατα, μαζί με μια λεπτομερή περιγραφή του μηχανισμού συναρμολόγησης καψιδίων.^[59]

2.2.2.4. Πολυμεράση/αντίστροφη μεταγραφάση

Λίγο καιρό μετά την ταυτοποίηση ενός ιού τύπου HBV σε πάπιες,^[60] το μοντέλο DHBV χρησιμοποιήθηκε για να αποδείξει ότι η αντιγραφή του γονιδιώματος DHBV χρησιμοποιεί ένα ενδιάμεσο RNA, υπονοώντας ότι οι ηπαδναίοι αναπαράγονται μέσω αντίστροφης μεταγραφής.^[61] Ενώ η αντίστροφη μεταγραφή είναι ένας μηχανισμός που χρησιμοποιείται από πολλούς ιούς, οι ιοί hepadnavirus προσεγγίζουν την αντιγραφή του γονιδιώματος με μια σειρά μοναδικών χαρακτηριστικών.

Η πρωτεΐνη πολυμεράσης 90 kD, 838aa του HBV (αντίστροφη μεταγραφάση/RT/Pol/P) αποτελείται από 3 λειτουργικές περιοχές και μια μεταβλητή περιοχή αποστάτη. Στο N-άκρο βρίσκεται η περιοχή της τελικής πρωτεΐνης (TP), η οποία είναι σημαντική για πολλαπλές πτυχές της έναρξης αντιγραφής γονιδιώματος. Αυτή η περιοχή, παρά τον σημαντικό ρόλο της στη σύνδεση του P με το pgRNA, τη συσκευασία RNA και την προετοιμασία πρωτεϊνών,^[62-64] είναι ένας μοναδικός τομέας που δεν μοιράζεται από τυχόν RT που δεν ανήκουν στον ιό του hepadnavirus. Ένας μεταβλητός διαχωριστής διαχωρίζει τον τομέα TP από τον τομέα RT και μελέτες έχουν δείξει ότι σχεδόν όλα τα aa εντός της μεταβλητής περιοχής spacer μπορούν να μεταλλαχθούν χωρίς να αλλάξουν τη συνάρτηση P.^[65]

Στην πραγματικότητα, μόνο 3 υπολείμματα κυστεΐνης στο C-τερματικό άκρο της περιοχής του διαχωριστή, μαζί με ένα τέταρτο στη N-τερματική πλευρά του τομέα RT, θεωρείται ότι είναι σημαντικά για τη λειτουργία RT/pol.^[66]

Ο τομέας RT είναι υπεύθυνος για την αντιγραφή γονιδιώματος με αντίστροφη μεταγραφή του pgRNA για να σχηματίσει τον (-)-κλώνο του γονιδιώματος DNA και επακόλουθη χρήση του (-)-κλώνου ως πρότυπο για τη σύνθεση του (+)-κλώνου του DNA. Το Αυτό ο τομέας μοιράζεται σημαντική ομολογία με το RT άλλων ρετροϊών.^[67] Ο τομέας RT είναι ο μόνος τρέχων θεραπευτικός στόχος κατά του HBV, οποίος βασίζεται στην αποτελεσματικότητα των αναλόγων νουκλεοσιδίων για την αναστολή της RT του ιού της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας (HIV).^[68]

Στην πραγματικότητα, τμήματα HBV RT μπορούν να αντικατασταθούν από ομόλογα τμήματα HIV RT. Αυτό μπορεί να δημιουργήσει ένα ενεργό RT που μπορεί να λειτουργήσει για να παράγει ώριμα ιό HBV.^[69]

Ο τελικός τομέας, P, είναι ο τομέας RNase H. Αυτός ο τομέας είναι υπεύθυνος για την υποβάθμιση του προτύπου pgRNA κατά τη διάρκεια της σύνθεσης του (-)-κλώνου του γονιδιώματος του DNA. Ο συντονισμός της σύνδεσης ιόντων μετάλλου, που είναι σημαντικός για τη δραστηριότητα της RNase H, επιτυγχάνεται μέσω 4 συντηρημένων καρβοξυλικών.^[70] Μελέτες της περιοχής RNase H έδειξαν επίσης ότι η καθαρισμένη ανασυνδυασμένη περιοχή RNase H είναι λειτουργική *in vitro* και ότι η περιοχή RNase H του P είναι σημαντική για τη συσκευασία pgRNA.^[71] Περισσότερες πληροφορίες σχετικά με το HBV RT/pol, συμπεριλαμβανομένης μιας λεπτομερούς περιγραφής των ενεργών τοποθεσιών του τομέα RT και μοτίβων δέσμευσης, μπορείτε να βρείτε στη βιβλιογραφία.^[72]

2.2.2.5. Πρωτεΐνη X

Το HBx είναι η μόνη ρυθμιστική πρωτεΐνη που κωδικοποιείται από τον HBV. Είναι μια πρωτεΐνη 154aa, 17 kD που κωδικοποιείται από το μικρότερο HBV ORF. Διάφορες μελέτες έχουν παράσχει σημαντικά στοιχεία ότι το HBx παίζει ουσιαστικό ρόλο κατά την αντιγραφή του HBV.

Συγκεκριμένα, μελέτες έχουν δείξει ότι το HBx είναι δεσμευμένο στο cccDNA,^[73] ότι το HBx απαιτείται για τη μεταγραφή από το cccDNA,^[74] και ότι απαιτούνται μετέπειτα HBx αποτελέσματα για την αντιγραφή του HBV. Είναι σημαντικό ότι μελέτες άλλων ιών ηπαδοναϊών θηλαστικών έχουν επίσης υποστηρίξει το ρόλο των αντίστοιχων X πρωτεϊνών τους στην αντιγραφή του ιού. Για παράδειγμα, δύο διαφορετικές μελέτες απέδειξαν ότι η πρωτεΐνη WHV X απαιτείται για την αντιγραφή του WHV *in vivo*,^[75] αν και μια άλλη μελέτη έδειξε χαμηλό επίπεδο αντιγραφής του ιού από μια μετάλλαξη WHV με ανεπάρκεια WHx σε μολυσμένα τσοκ.^[75] Έλαβε το όνομά της, πρωτεΐνη X, λόγω της έλλειψης ομολογίας αλληλουχίας σε οποιαδήποτε υπάρχουσα πρωτεΐνη.

Ενδοκυτταρικές μελέτες εντοπισμού που βασίζονται σε βιοψίες ήπατος που προέρχονται από ασθενείς με HBV δείχνουν ότι η HBx συσσωρεύεται κυρίως στο κυτταρόπλασμα όταν εκφράζεται ιδιαίτερα, ενώ η χαμηλή έκφραση οδηγεί σε εντοπισμό κυρίως στον πυρήνα.^[76,77]

Παρομοίως, ανιχνεύθηκε ιική αντιγραφή από ποντίκια tg που εκφράζουν είτε άγριου τύπου είτε έναν HBx-null HBV μετάλλαξη. Ωστόσο, όταν τα ποντίκια HBx-null διασταυρώθηκαν με ποντίκια HBx-tg, τα επίπεδα αντιγραφής του HBV ξεπέρασαν εκείνα που παρατηρήθηκαν σε ποντίκια άγριου τύπου HBV-tg.^[78] Ένα παρόμοιο πείραμα με τη χρήση υδροδυναμικής ένεσης φλέβας ουράς ενός πλασμιδίου που κωδικοποιεί είτε το γονιδίωμα HBV άγριου τύπου είτε έναν μεταλλαγμένο HBV με ανεπάρκεια HBx έδειξε σημαντική μείωση των επιπέδων αντιγραφής του HBV εν απουσία HBx, η οποία θα μπορούσε να αποκατασταθεί με συν-ένεση ο μεταλλαγμένος HBV με ανεπάρκεια HBx και ένα πλασμίδιο που κωδικοποιεί το HBx.^[79]

Αυτό δείχνει ότι ενώ το HBx μπορεί να μην είναι απολύτως απαραίτητο για την αντιγραφή του HBV σε αυτά τα συστήματα, αναμφίβολα αυξάνει τα επίπεδα αντιγραφής. Επιπλέον, μελέτες άμεσης μόλυνσης HBV ποντικών με εξανθρωπισμένα συκώτια έδειξαν ότι μόνο η μόλυνση με άγριου τύπου HBV και όχι ιός με έλλειψη HBx, θα μπορούσε να οδηγήσει σε αναπαραγωγή του HBV.^[80] Μια παρόμοια απαίτηση για HBx σε αντιγραφή HBV έχει αποδειχθεί σε ανθρώπινα κύτταρα ηπατοβλαστώματος

HepG2^[80-83] και σε πρωτοπαθή ηπατοκύτταρα αρουραίου.^[84-86] Είναι σημαντικό ότι, η απαίτηση για HBx επιβεβαιώθηκε επίσης σε πρωτογενή ανθρώπινα ηπατοκύτταρα μολυνθεί άμεσα με είτε αγρίου-τύπου ή HBx-ανεπαρκή HBV.^[87]

Ενώ οι ακριβείς λειτουργίες του HBx δεν είναι πλήρως κατανοητές, έχει προταθεί ότι το HBx είναι πολυλειτουργικό λόγω του αρνητικού ρυθμιστικού/αντι-αποπτωτικού τερματικού N και του τερματικού ενεργοποιητή C, εκτός από το ότι είναι η μόνη ρυθμιστική πρωτεΐνη που κωδικοποιείται από τον ιό. Το HBx είναι το κλειδί για την οδήγηση της ιογενούς λοίμωξης από HBV μέσω κυτταρικών και ιογενών υποκινητών και ενισχυτών, οδηγώντας σε ασύδοτη ενεργοποίηση, μέσω αλληλεπιδράσεων πρωτεΐνης-πρωτεΐνης και, χωρίς άμεση δέσμευση στο DNA.^[88,89] Δεδομένου του πρωταρχικού εντοπισμού του στο κυτταρόπλασμα, το HBx είναι σε θέση να διαμορφώσει διάφορες οδούς μεταγωγής σήματος όπως η ενεργοποιημένη με μιτογόνο πρωτεϊνική κινάση (MAPK), ο πυρηνικός παράγοντας κάπα-ελαφριάς αλυσίδας-ενισχυτής ενεργοποιημένων B κυττάρων (NF-kB), ο ιός σαρκώματος αρουραίου (Ras), το ταχέως επιταχυνόμενο ινοσάρκωμα (Raf), ο μετατροπέας σήματος κινάσης janus και ο ενεργοποιητής μεταγραφής (JAK-STAT). Η κινάση εστιακής προσκόλλησης (FAK) και οι καταρράκτες σηματοδότησης κινάσης C.^[90,91] Επιπλέον, η HBx έχει επίσης εμπλακεί στη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου, τη σηματοδότηση ασβεστίου, την επιδιόρθωση του DNA και τη ρύθμιση της απόπτωσης.^[92] Ο πιθανός ρόλος της HBx στην ηπατοκαρτιογένεση ήταν εμφανής με την ανάπτυξη της HCC στους φυσικούς ξενιστές της HBx που κωδικοποιούν τους ιούς Orthohepadna, woodchucks, σκίουρους πιθήκους και ανθρώπους, ενώ δεν υπάρχουν ενδείξεις ηπατικής ογκογένεσης για λοίμωξη από ιούς Anihepadna, οι οποίοι στερούνται της πρωτεΐνης HBx.^[93] In vitro μελέτες έχουν δείξει ότι η παρατεταμένη έκφραση του HBx προκαλεί κυτταρικό μετασχηματισμό των ηπατοκυττάρων των τρωκτικών, ενώ η παρουσία του ενσωματωμένου γονιδίου HB στο χρωμοσωμικό DNA έχει ανιχνευθεί συχνά σε ασθενείς που έχουν διαγνωστεί με HCC.^[94,95]

Η έλλειψη ενός μόνο αποδεκτού μοντέλου για μελέτες HBV και HBx έχει δημιουργήσει κάποια σύγχυση σχετικά με τις συνολικές συνέπειες της έκφρασης του HBx για την αντιγραφή του HBV και τη φυσιολογία των ηπατοκυττάρων. Μελέτες που σχετίζονται με HBx έχουν πραγματοποιηθεί συχνά σε μετασχηματισμένες ή απαθανατισμένες κυτταρικές σειρές και με διαφορετικά επίπεδα έκφρασης HBx, αφήνοντας την επίδραση του HBx σε ένα φυσιολογικό ηπατοκύτταρο ακατανόητη.^[96] Ενώ το HBx θεωρείται γενικά ότι έχει ογκογόνο δυναμικό, δεν έχει ακόμη προσδιοριστεί

εάν είναι άμεσα ογκογόνο ή απλώς λειτουργεί ως συν-παράγοντας στην ανάπτυξη του HCC, καθώς και τα δύο αποτελέσματα έχουν αποδειχθεί σε διαφορετικά μοντέλα ποντικών HBx-tg.^[97-98] Είναι σημαντικό να αναγνωρίσουμε ότι ένα έντονα ογκογόνο HBx δεν θα ήταν σύμφωνο με τη βιολογία του HCC που σχετίζεται με τον HBV, το οποίο περιλαμβάνει δεκαετίες χρόνιας λοίμωξης από HBV, και είναι πιο πιθανό ότι το HBx παίζει ρόλο συμπαράγοντα στην ανάπτυξη του HBV που προκαλείται καρκίνος στο συκώτι. Η υπόθεση ότι οι επαγόμενες από HBx λεπτές αλλαγές στη φυσιολογία των ηπατοκυττάρων ευαισθητοποιούν τα κύτταρα σε άλλα ογκογόνα σήματα, ενώ διευκολύνουν την αντιγραφή του HBV, είναι πιο συνεπής με τη βιολογία του HCC που σχετίζεται με τον HBV.^[99] Τα περιφερειακά στοιχεία για το ογκογόνο δυναμικό του HBx προέρχονται από το γεγονός ότι το HCC που σχετίζεται με τον ιό του hepadnavirus φαίνεται να περιορίζεται στους ιούς των hepadnavirus θηλαστικών, οι οποίοι εκφράζουν το καθένα μια μορφή της πρωτεΐνης X. Οι ιοί των ηπαδναίων των πτηνών, οι οποίοι αναπτύσσουν μια χρόνια λοίμωξη αλλά δεν προκαλούν HCC, είτε δεν εκφράζουν μια πρωτεΐνη X είτε εκφράζουν μια εξαιρετικά αποκλίνουσα μορφή.^[100]

Το HBx είναι μια πολυλειτουργική πρωτεΐνη που μπορεί να διαμορφώσει πολλούς καταρράκτες σηματοδότησης ηπατοκυττάρων και παράγοντες που έχουν επίσης συνδεθεί με μηχανισμούς που αποτελούν τη βάση του κυτταρικού μετασχηματισμού. Για παράδειγμα, το HBx μπορεί να ρυθμίσει το ασβέστιο,^[101, 102] απόπτωση,^[103, 104] και τα σήματα πολλαπλασιασμού, μεταξύ άλλων οδών, και μπορεί να ενεργοποιήσει πολυάριθμους παράγοντες μεταγραφής, συμπεριλαμβανομένων των πρωτεϊνών ενεργοποίησης 1^[105] και 2^[106] (AP-1 και AP-2), πυρηνικός παράγοντας ενεργοποιημένων T κυττάρων (NFAT),^[107] και πυρηνικός παράγοντας kappa-ενισχυτής ελαφριάς αλυσίδας ενεργοποιημένων B κυττάρων (NF-κB).^[108] Το HBx μπορεί επίσης να ρυθμίσει τους κυτταρικούς παράγοντες σηματοδότησης, όπως Wnt/β-κατενίνη,^[109] p53,^[110] και Akt,^[111, 112] που έχουν εμπλακεί στο HCC.

Πρόσφατα, η δαμόρφωση της έκφρασης του miRNA συμπεριλήφθηκε επίσης στις λειτουργίες του HBx. Είναι πιθανό ότι οι πολλές συναρτήσεις που αποδίδονται στο HBx θα μπορούσαν να είναι το αποτέλεσμα μερικών θεμελιωδών ανάντη συναρτήσεων HBx που μπορούν να επηρεάσουν πολλαπλές κατάντη διαδρομές μεταφοράς σήματος κυττάρων με τρόπο που εξαρτάται από το πλαίσιο.

Είναι ενδιαφέρον ότι ενώ η αντιγραφή του HBV σε καθιερωμένα HCC που σχετίζονται με HBV τυπικά απουσιάζει, μια σειρά ομάδων έχουν δείξει ότι αυτοί οι όγκοι μπορούν ακόμα να εκφράσουν HBx από θραύσματα του γονιδιώματος HBV που έχουν ενσωματωθεί στο γονιδίωμα ξενιστή.

Η παρουσία HBx σε αυτά τα κύτταρα θα μπορούσε να σημαίνει ότι το HBx μπορεί να είναι ενεργό σε αυτά τα κύτταρα HCC, ακόμη και ελλείψει αντιγραφής του HBV, και ενδεχομένως να συμβάλει στην ανάπτυξη ή τη συντήρηση του HCC.

Το HBx είναι επίσης ικανό να ενισχύσει τα επίπεδα κυτταροσολικού ασβεστίου οδηγώντας σε αυξημένη μιτοχονδριακή πρόσληψη ασβεστίου που επάγει την αντιγραφή του HBV in vitro^[113]. Η HBx μπορεί να εμπλέκεται στην αναδιαμόρφωση της εξωκυτταρικής μήτρας αυξάνοντας την πρωτεΐνη προσκόλλησης LASP-1 μέσω της οδού PI3K για την προώθηση του πολλαπλασιασμού και της εισβολής των ηπατοκυττάρων^[114]. Αξίζει να σημειωθεί ότι οι υψηλές συγκεντρώσεις HBx και ο υποκυτταρικός εντοπισμός του, ειδικά σε κυτταρικά συστήματα που στερούνται αποτελεσματικών αρνητικών οδών ρύθμισης της ανάπτυξης και ανέπαφων κατασταλτικών όγκων, υποδηλώνουν ότι η αναστολή της κυτταρικής ανάπτυξης σε τέτοια κύτταρα δεν ρυθμίζεται αυστηρά στην έκταση των υγιών κυττάρων, γεγονός που θα μπορούσε να αποτελέσει βασικό παράγοντα νεοπλασματικού μετασχηματισμού.^[115]

3. ΚΥΚΛΟΣ ΖΩΗΣ HBV

3.1. ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΗ ΑΝΤΑΠΟΚΡΙΣΗ ΙΟΥ

Ο αναδιπλασιαστικός κύκλος του HBV είναι επί του παρόντος καλά κατανοητός. Η προσκόλληση και η είσοδος του HBV περιλαμβάνει αλληλεπιδράσεις μεταξύ του HBsAg και των επιφανειακών πρωτεϊνών του ηπατοκυττάρου. Το χαλαρό-κυκλικό DNA (rcDNA) μετατρέπεται σε ομοιοπολικά κλειστό κυκλικό DNA (cccDNA) το οποίο χρειάζεται για τη μεταγραφή και την παραγωγή νέου RNA και DNA και στη συνέχεια ωριμάζει χάρη στην ιική πολυμεράση. Το γονιδίωμα χρησιμοποιείται είτε για την παραγωγή νέων βιριόντων και τον πολλαπλασιασμό του ιού έξω από τα ηπατοκύτταρα είτε για τη σύσταση μιας δεξαμενής DNA στον πυρήνα του κυττάρου ξενιστή.

Το HBV DNA μπορεί να παραμείνει στο ηπατοκύτταρο με τη μορφή cccDNA, σε αντίθεση με το rcDNA που είναι η μορφή που βρίσκεται στον ιό.^[116] Αυτό το ιικό γονιδίωμα είναι επομένως μια δεξαμενή^[117] που παραμένει ακόμη και στα ανάλογα του πυρήνα(t)ide, εξηγώντας γιατί η θεραπεία για την ηπατίτιδα Β παραμένει άπιαστη.^[118] Το cccDNA συμβάλλει επίσης στη σύνθεση του αντιγόνου πυρήνα (HBcAg) και στην παραγωγή αντισωμάτων anti-HBc, εξηγώντας την παρουσία τους σε οξείες, χρόνιες και επιλυμένες λοιμώξεις HBV.

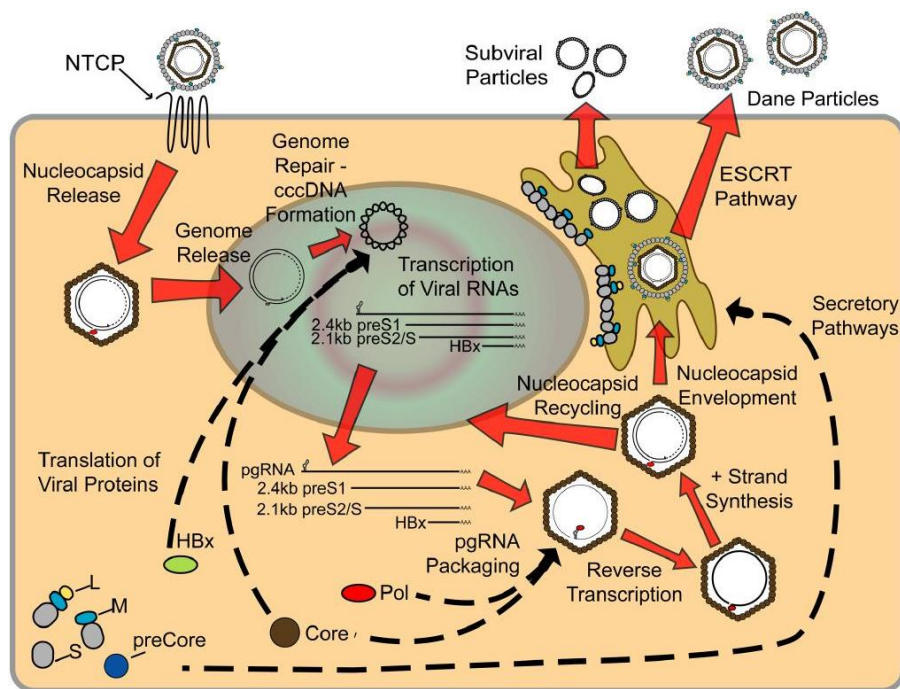
Ο HBV έχει μικρή παθολογική επίδραση από μόνος του. καθοδηγείται κυρίως από την ανοσολογική απόκριση του ξενιστή. Ωστόσο, αυτή η χαμηλή παθογένεια είναι μια παραδοσιακή έννοια που συζητείται επί του παρόντος. Πράγματι, ο αποτελεσματικός έλεγχος της αντιγραφής του HBV οδηγεί σε ταχεία ομαλοποίηση της ALT. Υποδεικνύει πιθανό άμεσο παθογόνο ρόλο της λοίμωξης HBV.

Έχουν περιγραφεί τέσσερις τύποι απαντήσεων. Πρώτον, μπορεί να υπάρξει μια ισχυρή ανοσολογική απόκριση που οδηγεί σε πλήρη και γρήγορη εξάλειψη του HBV και των μολυσμένων κυττάρων, με αποτέλεσμα οξεία ηπατίτιδα και ακόμη και μαζική ηπατοκυτταρική νέκρωση. Δεύτερον, η ανοσολογική απόκριση μπορεί να είναι κατάλληλη αλλά αδύναμη, επιτρέποντας σε μια συχνά ασυμπτωματική λοίμωξη να υποχωρήσει προοδευτικά. Τρίτον, η ανοσολογική απόκριση μπορεί να είναι ασθενής και ανεπαρκής, με μια κατάσταση μερικής ανοχής που οδηγεί σε σημαντική και παρατεταμένη αντιγραφή του HBV. Τέλος, η ανοσολογική απόκριση μπορεί να είναι ανύπαρκτη, η οποία συχνά σχετίζεται με ασυμπτωματική μεταφορά του HBV.

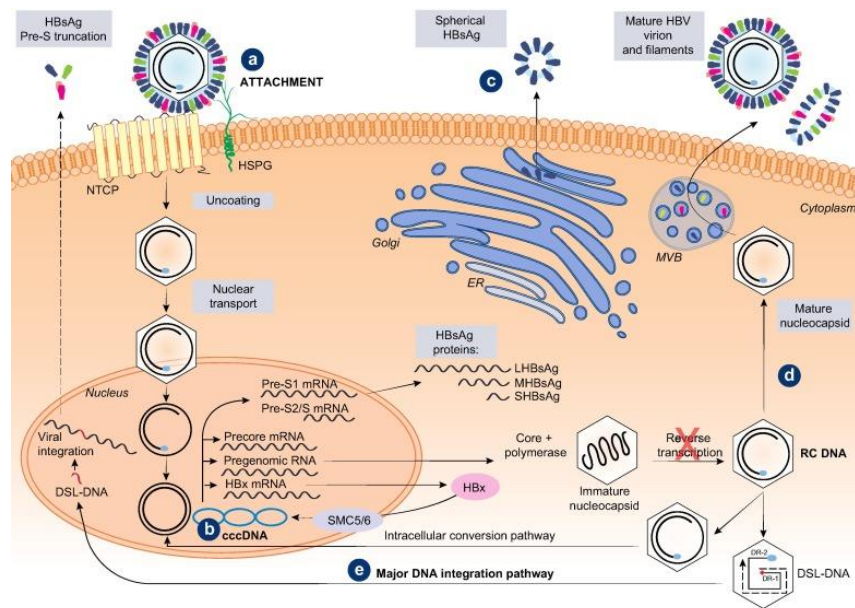
Η ανοσοαπόκριση περιλαμβάνει έμφυτο, χυμικό και κυτταρικό ανοσοποιητικό σύστημα. Η έμφυτη απόκριση παίζει σημαντικό ρόλο στη φυσιολογία της ηπατίτιδας B, καθώς είναι το πρώτο απαραίτητο βήμα για την ενεργοποίηση της ανοσολογικής απόκρισης.

Αυτό περιλαμβάνει τόσο κύτταρα του ανοσοποιητικού όσο και φλεγμονώδεις μεσολαβητές, όπως για άλλες λοιμώξεις.

Η χυμική απόκριση είναι πιθανώς η πιο σημαντική επειδή, μετά την παρουσίαση των ιικών αντιγόνων (HBsAg), τα B-κύτταρα θα παράγουν τα εξουδετερωτικά αντισώματα (anti-HBs) που προσδίδουν αποτελεσματική ανοσία έναντι του ιού. Τα ενεργοποιημένα B-κύτταρα ενεργοποιούν επίσης τα T-κύτταρα, πυροδοτώντας μια κυτταροτοξική απόκριση που οδηγεί στην καταστροφή των μολυσμένων ηπατοκυττάρων.



Εικόνα 2. Κύκλος ζωής του ιού της ηπατίτιδας B (HBV). Τα ώριμα ιοσωματίδια του HBV εισέρχονται στα ηπατοκύτταρα μέσω του ταυροχολικού νατρίου που μεταφέρει τον υποδοχέα πολυπεπτιδίου της κυτταρικής μεμβράνης. Μετά την απελευθέρωση από το φάκελο του ιού, το νουκλεοκαψίδιο μεταφέρεται στον πυρήνα όπου το γονιδίωμα επιδιορθώνεται για να σχηματίσει ομοιοπολικά κλειστό κυκλικό DNA (cccDNA). Χρησιμοποιώντας το cccDNA ως πρότυπο, τα ιικά RNA μεταγράφονται και εξάγονται στο κυτταρόπλασμα όπου μεταφράζονται για να σχηματίσουν τις ιικές πρωτεΐνες. Επιπλέον, το προγεννητικό RNA (pgRNA) συσκευάζεται από την πρωτεΐνη πυρήνα, μαζί με την πρωτεΐνη πολυμεράσης, και το γονιδίωμα του ιού αναπαράγεται μέσω αντίστροφης μεταγραφής του pgRNA για να σχηματίσει τον - κλώνο, ακολουθούμενος από μερική σύνθεση του κλώνου +. Τα ώριμα νουκλεοκαψίδια μπορούν είτε να ανακυκλωθούν πίσω στον πυρήνα για να διατηρηθεί μια δεξαμενή cccDNA, ή περιτυλίγεται και εκκρίνεται μέσω της οδού ESCRT. Δείτε το κείμενο για μια πιο λεπτομερή περιγραφή του κύκλου ζωής του ιού



Ένα σχηματικό διάγραμμα του κύκλου ζωής του HBV. Επισημαίνονται οι ακόλουθες διαδικασίες: (α) Προσάρτηση ιού (SL-10) μέσω υποδοχέων NTCP και HSPG. (β) την πυρηνική δεξαμενή ομοιοπολικώς κλειστού κυκλικού (ccc) DNA, το οποίο είναι το πρότυπο μεταγραφής του ιού (γ) τα εκκριτικά μονοπάτια του HBsAg (δ) τις οδούς αντιγραφής του ιού και (ε) το κύριο μονοπάτι ενσωμάτωσης του HBV DNA από το DSL-DNA. Η πυρηνική (t) ιδεολογική αναλογική θεραπεία, στοχεύοντας στην αντίστροφη μεταγραφάση του HBV (RT), αναστέλλει επιλεκτικά την παραγωγή ιού, αλλά δεν μειώνει τα επίπεδα HBsAg, καθώς τα επίπεδα του cccDNA παραμένουν αμετάβλητα. Τα σφαιρικά υπο-ιογενή σωματίδια του HBsAg παράγονται και εκκρίνονται μέσω του συμπλέγματος ER-Golgi, ενώ τα ιό και τα νημάτια σχηματίζονται με εκκολαπτόμενη από πολυποσώδη σώματα (MVB). Σε αντίθεση με τις θεραπείες NA, οι στρατηγικές που βασίζονται σε IFN μπορούν να καθαρίσουν μη κυτταρολυτικά τα ηπατοκύτταρα της λοίμωξης από HBV cccDNA, με αποτέλεσμα τη μείωση των μεταφρασμένων και εκκρινόμενων HBsAg. Τα προστατευτικά αντισώματα που δημιουργούνται από τον εμβολιασμό εμποδίζουν τη σύνδεση του καθοριστικού 'a' με τον υποδοχέα HSPG

Αν και είναι γνωστές οι αλληλουχίες αμινοξέων τόσο του preS1 όσο και του hNTCP που επηρεάζουν τη σύνδεση του HBV με το hNTCP, η έλλειψη ενός αποτελεσματικού συστήματος μοντέλου που μιμείται μια ισχυρή φυσική μόλυνση έχει εμποδίσει την πλήρη κατανόηση των πτυχών του κύκλου ζωής του HBV αμέσως μετά τη σύνδεση των υποδοχέων. Η παρατήρηση ότι το preS1 συνδέεται με τη βαριά αλυσίδα

κλαθρίνης και την πρωτεΐνη προσαρμογής AP-2 σε απαθανατισμένα πρωτογενή ανθρώπινα ηπατοκύτταρα και ότι η ανατροπή αυτών των πρωτεϊνών αναστέλλει τη μόλυνση, υποδηλώνει ότι το σύμπλεγμα HBV-hNTCP μπορεί να εισέλθει στο κύτταρο μέσω ενδοκυττάρωσης που προκαλείται από κλαθρίνη.^[118] Μόλις βρεθεί στο κύτταρο, το HBV DNA παραδίδεται στον πυρήνα με μηχανισμούς που παραμένουν ασαφείς.

Ένας πιθανός μηχανισμός είναι η ενεργός μεταφορά του νουκλεοκαψιδίου μέσω πυρηνικών πόρων.^[119] Ένας άλλος πιθανός μηχανισμός περιλαμβάνει φωσφορύλωση CTD της βασικής πρωτεΐνης, η οποία πιστεύεται ότι εκθέτει σήματα πυρηνικής εντοπισμού,^[120] οδηγώντας σε διάλυση νουκλεοκαψιδίων στον πυρηνικό πόρο και μεταφορά της δεσμευμένης με πολυμεράση, χαλαρής κυκλικής (rc) μορφής του HBV DNA στον πυρήνα.^[119, 120] Τα μονοκλωνικά κενά στο rcDNA επιδιορθώνονται είτε μέσω της επέκτασης (+)-κλώνου από την πολυμεράση HBV είτε μέσω της δραστηριότητας επιδιόρθωσης των πρωτεϊνών ξενιστή και το cccDNA σχηματίζεται ως ένα μικροχρωμόσωμα που συνδέεται με νουκλεοσώματα στον πυρήνα.

Οι παρατηρήσεις ότι ορισμένα ποντίκια HBV-tg δεν παράγουν cccDNA,^[121] και ότι τα νουκλεοσιδικά ανάλογα που αναστέλλουν τη λειτουργία RT της πολυμεράσης δεν εμποδίζουν το σχηματισμό cccDNA,^[122] υποδηλώνουν ότι η παραγωγή του cccDNA πιθανώς περιλαμβάνει συγκεκριμένους παράγοντες ξενιστές. Εκτός από μελέτες που υποδηλώνουν ρόλο για τις κυτταρικές ιστόνες στο σχηματισμό cccDNA, υπάρχουν επίσης στοιχεία που δείχνουν ότι το cccDNA συνδέεται τόσο με την πρωτεΐνη πυρήνα^[123] όσο και με HBx^[124] και ότι αυτό επηρεάζει τη δομική διάταξη του επεισοδίου cccDNA και την επιγενετική ρύθμιση του cccDNA.

Αν και πολλαπλές μελέτες έχουν δείξει ότι το HBx δεν απαιτείται για το σχηματισμό cccDNA, η μεταγραφή του ιικού RNA από το cccDNA χάνεται απουσία HBx,^[125] και το HBx έχει προταθεί για τη ρύθμιση των επιπέδων ακετυλίωσης και μεθυλίωσης της cccDNA ιστόνης.^[126] Η πολυμεράση RNA ξενιστή χρησιμοποιεί παράγοντες μεταγραφής ειδικά για κύτταρα και cccDNA, το οποίο χρησιμεύει ως πρότυπο για όλες τις μεταγραφές ιών, για την παραγωγή μεταγραφών RNA 5'-capped και 3'-πολυαδενυλιωμένου RNA. Η μετάφραση των μεταγραφών του ιού γίνεται στο κυτταρόπλασμα μετά από πυρηνική εξαγωγή.

Ενώ ένα μέρος του pgRNA μεταφράζεται, σχηματίζοντας τη δεξαμενή πρωτεϊνών πυρήνα και πολυμεράσης, το pgRNA χρησιμεύει επίσης ως πρότυπο για αντίστροφη μεταγραφή [Εικόνα 2]. Αυτό απαιτεί ενκαψίωση του pgRNA κατά 120 διμερή πρωτεΐνης

πυρήνα για να σχηματιστεί το νουκλεοκαψίδιο. Αυτό συμβαίνει μέσω ενός πολύπλοκου καταρράκτη γεγονότων που περιλαμβάνουν πολλαπλές ιογενείς και πρωτεΐνες ξενιστές. Συγκεκριμένα, το 5' άκρο του pgRNA περιέχει ένα σήμα ενθυλάκωσης, που ονομάζεται ε, το οποίο αναγνωρίζεται και συνδέεται με πολυμεράση. Μελέτες έχουν επίσης δείξει ότι η δομή του καπακιού 5' απαιτείται για τη συσκευασία του pgRNA.^[127] ωστόσο, δεν απαιτείται πολυαδενυλίωση.^[128]

Επιπλέον, η αλληλεπίδραση της συνδεδεμένης με pgRNA πολυμεράσης με το 5' πώμα και τον ξενιστή eIF4E οδηγεί σε ενθυλάκωση όλου αυτού του συμπλέγματος RNP,^[129] με αποτέλεσμα κυτταρικό eIF4E εντός του ιικού νουκλεοκαψιδίου. Οι κυτταρικές πρωτεΐνες θερμικού σοκ έχει επίσης προταθεί ότι παίζουν παρόμοιο ρόλο στη σταθεροποίηση της σύνδεσης της πολυμεράσης με το ε.^[130]

Μόλις συσκευαστεί, η αντίστροφη μεταγραφή ξεκινά μέσω αστάρωμα από την πολυμεράση από ένα συγκεκριμένο υπόλειμμα τυροσίνης εντός του N-τερματικού, TP τομέα της πολυμεράσης^[131] [Εικόνα 1α]. Μια περιοχή διόγκωσης εντός του ε παρέχει το πρότυπο για το πρώτο 3-4nt του κλώνου (-)-DNA πριν από τη μετατόπιση σε ένα αντίστοιχο μοτίβο αποδέκτη στην 3' άμεση επανάληψη 1* (DR1*).^[132] Αυτός ο κλώνος επεκτείνεται στη συνέχεια έως την ολοκλήρωση, με αποτέλεσμα ένα αντίγραφο κλώνου μήκους (-)-DNA του pgRNA που περιέχει επιπλέον τερματικό πλεονασμό 10 r (r).

Η πλειοψηφία του pgRNA υποβαθμίζεται κατά τη σύνθεση του DNA από τη δραστηριότητα της πολυμεράσης RNaseH, με τις υπόλοιπες βάσεις να χρησιμεύουν ως το 5' εκκινητή για τη σύνθεση του (+)-κλώνου.^[133] Η άμεση επέκταση αυτού του εκκινητή από τη θέση 5' έχει ως αποτέλεσμα μια δίκλωνη γραμμική μορφή του γονιδιώματος που είναι αναρμόδια αναρμόδια.^[134] Αυτή η δίκλωνη γραμμική μορφή φαίνεται, ωστόσο, να παίζει ρόλο ως η κύρια μορφή του HBV DNA που μπορεί να ενσωματωθεί στο γονιδίωμα του ξενιστή.^[135] Αντί για άμεση επέκταση του εκκινητή RNA από τη θέση 5', ο επιτυχής σχηματισμός rcDNA μπορεί να συμβεί μόνο αφού μετακινηθεί ο εκκινητής RNA στην αλληλουχία 3' DR2. Μόλις μπει στο DR2, ο εκκινητής RNA εκτείνεται προς το 5' άκρο του (-)-DNA κλώνου. Επειδή το r στο άλλο άκρο έχει την ίδια ακολουθία, η ανταλλαγή των δύο άκρων επιτρέπει τη σύνθεση (+)-κλώνου να συνεχιστεί.

Όπως και με τις προηγούμενες μετατοπίσεις, πρόσθετα στοιχεία cis-action παίζουν πιθανότατα έναν συνδυασμό βάσεων μεγάλης εμβέλειας, γεγονός που επιτρέπει τη στενή αντιπαράθεση αυτών των θέσεων δότη και αποδέκτη που μπορούν διαφορετικά να διαχωριστούν με χιλιόγραμμα αλληλουχίας.^[136, 137] Επιπλέον, πρόσφατα στοιχεία έχουν

προτείνει έναν ρόλο για την πρωτεΐνη του πυρήνα στη ρύθμιση της σύνθεσης του DNA, καθώς οι μεταλλάξεις στην πρωτεΐνη του πυρήνα αναστέλλουν τη σύνθεση του (+)-κλώνου του DNA.^[138] Η περίπλοκη διαδικασία της αντίστροφης μεταγραφής έχει αναθεωρηθεί λεπτομερέστερα αλλού.^[139]

Η αντιγραφή λαμβάνει χώρα σε σωματίδια πυρήνα στο κυτταρόλυμα ενός ηπατοκυττάρου που έχει μολυνθεί με HBV και το τελικό προϊόν της σύνθεσης του DNA είναι το ενθυλακωμένο, μερικώς δίκλωνο rcDNA με την πολυμεράση ακόμη συνδεδεμένη στο 5' άκρο του (-)-DNA κλώνου [Εικόνα 2]. Αυτό το νουκλεοκαψίδιο μπορεί στη συνέχεια να προχωρήσει σε μία από τις δύο κατευθύνσεις.

Το πρώτο είναι η μεταφορά του νουκλεοκαψιδίου πίσω στον πυρήνα για ενίσχυση και διατήρηση μιας σταθερής δεξαμενής cccDNA.^[140] Τα επίπεδα των πρωτεϊνών φακέλου επηρεάζουν αυτήν την ανακύκλωση, με μειωμένες ποσότητες HBsAg που προάγουν τη μεταφορά του νουκλεοκαψιδίου στον πυρήνα.^[141]

Ειδικότερα, τα επίπεδα L-HBsAg επηρεάζουν άμεσα τη μεταφορά στον πυρήνα,^[142] και αυτά τα ευρήματα συσχετίζονται καλά με την πρόιμη εγκατάσταση μιας δεξαμενής cccDNA, ακολουθούμενη από ταυτοποίηση του εκκριμένου μολυσματικού HBV.^[143] Το αποτέλεσμα είναι μια ομάδα cccDNA που περιέχει έναν κυμαινόμενο αριθμό αντιγράφων (τυπικά λιγότερο από 10) cccDNA ανά κύτταρο,^[144] το οποίο μπορεί να διατηρηθεί στο κύτταρο για χρόνια. Επιπλέον, έχει προταθεί ότι ο χρόνος ημίσειας ζωής ενός μόνο μορίου cccDNA είναι μεταξύ 33 και 57 ημερών,^[145, 146] υπογραμμίζοντας το ρόλο του cccDNA στη διατήρηση της επιμονής του HBV.

Η δεύτερη πιθανή διαδικασία που σχετίζεται με το HBV νουκλεοκαψίδιο είναι η επικάλυψη με γλυκοπρωτεΐνες περιβλήματος HBV που βρίσκονται στην μεμβράνη ER [Εικόνα 2]. Είναι ενδιαφέρον ότι υπάρχουν μηχανισμοί που μπορεί να περιορίσουν την επικάλυψη καψιδίων που περιέχουν ανώριμο γονιδίωμα HBV. Ωστόσο, αυτοί οι μηχανισμοί παραμένουν ακατανόητοι.

Για παράδειγμα, έχει προταθεί ότι περιβάλλουν μόνο ώριμα νουκλεοκαψίδια που περιέχουν rcDNA, ενώ τα νουκλεοκαψίδια που περιέχουν ssDNA ή RNA δεν εκκρίνονται από το κύτταρο.^[147] Μελέτες που χρησιμοποιούν πολυμεράση ελλιπής σε RNase H, η οποία καθιστά τον ιό αδύνατο να ξεκινήσει τη σύνθεση (+)-DNA κλώνου, έχουν υποδείξει ότι απαιτείται μόνο η ολοκλήρωση του κλώνου (-)-DNA για την κάλυψη,^[148] και συγκεκριμένες μεταλλάξεις στην πρωτεΐνη του πυρήνα μπορούν να επιτρέψουν την επικάλυψη ανώριμων νουκλεοκαψιδίων.^[149]

Οι μηχανισμοί που σχετίζονται με αυτήν την εκλεκτικότητα είναι άγνωστοι, αν και η κατάσταση φωσφορυλίωσης της βασικής πρωτεΐνης, πιθανώς επηρεασμένη από τα είδη νουκλεϊνικού οξέος μέσα στο καψίδιο, θα μπορούσε να παίζει ρόλο.

Συγκεκριμένα, μελέτες έχουν δείξει ότι η πρωτεΐνη του πυρήνα που απομονώνεται από τα καψίδια που περιέχουν DNA αποφωσφορυλιώνεται (μετά την προηγούμενη φωσφορυλίωση που απαιτείται για τη συσκευασία του pgRNA και την αντίστροφη μεταγραφή) σε μια συγκεκριμένη C-τερματική περιοχή, ενώ τα ανώριμα νουκλεοκαψίδια παραμένουν φωσφορυλιωμένα σε τουλάχιστον 6 διαφορετικές θέσεις.^[150]

Η συνολική έκκριση μολυσματικών σωματιδίων HBV Dane έχει υποθεθεί ότι είναι μόλις 1-10 βιρίοντα ανά κύτταρο την ημέρα,^[151] το οποίο, λόγω του μεγάλου αριθμού κυττάρων στο ήπαρ, μπορεί να αντιπροσωπεύει υψηλούς *in vivo* τίτλους HBV, αλλά μπορεί να εμποδίσει την *in vitro* έρευνα που απαιτεί απομόνωση μεγάλων ποσοτήτων μολυσματικού ιού. Η έκκριση των Δανέζων σωματιδίων αρχικά πιστεύεται ότι ακολουθεί την ίδια εκκριτική οδό με το πολύ πιο άφθονο SVP, με τις πρωτεΐνες φακέλου να βρίσκονται στο ενδιάμεσο διαμέρισμα ER-golgi από όπου μπορούν να δεσμεύσουν το καψίδιο που περιέχει DNA, να εισέλθουν στον αυλό και να εκκριθούν από το κελί.

Πρόσφατα στοιχεία έχουν προτείνει, ωστόσο, ότι τα ώριμα ιό του HBV εκκρίνονται από το κύτταρο χρησιμοποιώντας ένα μονοπάτι που εξαρτάται από τις πρωτεΐνες που εμπλέκονται στο ενδοσωμικό σύμπλεγμα διαλογής που απαιτείται για τη μεταφορά (ESCRT), το οποίο σχηματίζει πολυσυσσωματικά σώματα.^[152]

Ένα χαρακτηριστικό που πρέπει να ληφθεί υπόψη ανεξάρτητα από την πορεία της έκκρισης του HBV είναι οι φαινομενικά αντιφατικές διαμορφώσεις του L-HBsAg, με τις περιοχές που απαιτούνται τόσο για την αλληλεπίδραση με το νουκλεοκαψίδιο όσο και για το hNTCP σε αντίθετες πλευρές της μεμβράνης. Αυτό αντιμετωπίζεται από το γεγονός ότι σχεδόν το ήμισυ του L-HBsAg αλλάζει τη διαμεμβρανική διαμόρφωση μετά τη μετάφραση, για να εκθέσει τους τομείς preS εντός του αυλού ER.^[153]

4. ΠΡΟΤΥΠΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΟΥΝΤΑΙ ΣΤΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ HBV

Κάθε μέλος της οικογένειας *hepadnavirus* έχει ένα στενό εύρος ξενιστή που πιστεύεται ότι ορίζεται κυρίως από την αλληλεπίδραση μεταξύ του ιού και ενός συγκεκριμένου υποδοχέα κυτταρικής επιφάνειας που υπάρχει στα ηπατοκύτταρα ξενιστές.^[154] Τα διαθέσιμα συστήματα κυτταρικής καλλιέργειας για τη μελέτη του κύκλου ζωής των *Hepadnaviridae* είναι περιορισμένα.

Τυπικά, τα μέλη μιας οικογένειας ηπαδναϊού μπορούν να μολύνουν άμεσα ηπατοκύτταρα εντός του ήπατος των αντίστοιχων ξενιστών πτηνών ή θηλαστικών ή καλλιεργημένα, καλά διαφοροποιημένα πρωτοπαθή ηπατοκύτταρα που προέρχονται από αυτούς τους ξενιστές. Αυτό έχει εμποδίσει τις δυνατότητες των ερευνητών να μελετήσουν μια φυσική λοίμωξη από HBV. Μια επισκόπηση του *in vivo* μοντέλα συστημάτων που υπάρχουν για τη μελέτη της βιολογίας του HBV παρέχονται παρακάτω.

Λόγω του περιορισμένου εύρους ξενιστών του HBV, υπάρχουν μερικά κατάλληλα ζωικά μοντέλα για τη μελέτη ενός *in vivo* HBV μόλυνση. Στενά συνδεδεμένοι ιοί, όπως ο DHBV^[155] και ο WHV,^[156] έχουν χρησιμοποιηθεί στα αντίστοιχα ζώα -ξενιστές τους ως υποκατάστατα μοντέλα για την κατανόηση της συνολικής βιολογίας του ιού *hepadnavirus*. Αυτές οι μελέτες ήταν καθοριστικές για την κατανόηση του κύκλου ζωής του ιού, συμπεριλαμβανομένης της αναγνώρισης της αντιγραφής του DNA μέσω ενός ενδιάμεσου RNA,^[157] τη δημιουργία μιας δεξαμενής cccDNA ως μηχανισμού διατήρησης της χρόνιας λοίμωξης,^[158] ι την πορεία και των δύο οξείας^[159] και χρόνια^[160] λοίμωξη.

Το *τρίφυλλο*, *Tupaia belangeri*, είναι ένα μικρό μοντέλο ζώων και είναι ένα από τα λίγα ζώα που μπορούν να μολυνθούν πειραματικά με HBV.^[161] Η γονιδιωματική ανάλυση έχει τοποθετήσει το φυλλογενετικά μεταξύ των ανθρώπων και των τρωκτικών,^[162] και αυτή η ομοιότητα με τα πρωτεύοντα έχει ωθήσει τη χρήση του ως μοντέλο για ένα ευρύ φάσμα μελετών, συμπεριλαμβανομένου ως μοντέλου για ιογενή ηπατίτιδα.^[163]

Συγκεκριμένα, η *Tupaia belangeri* έχει χρησιμοποιηθεί ως μοντέλο για τη μελέτη των άμεσων επιδράσεων της λοίμωξης από HBV στη γονιδιακή έκφραση στο ήπαρ^[164] και τον εντοπισμό γονιδίων που ενδεχομένως συμβάλλουν στην ανάπτυξη HCC που σχετίζεται με τον HBV.^[165]

Πράγματι, πρόσφατα απομονωμένα πρωτογενή ηπατοκύτταρα τρισδιάστατου τροχίσματος χρησιμοποιήθηκαν πρόσφατα σε πολλαπλές μελέτες στις οποίες το hNTCP ταυτοποιήθηκε ως υποδοχέας HBV.^[166] Πρόσφατες μελέτες υποδεικνύουν επίσης ότι η νεογνική έκθεση των δέντρων των δέντρων σε HBV μπορεί να οδηγήσει σε εξέλιξη της νόσου παρόμοια με αυτήν που παρατηρείται στους ανθρώπους, με την ανάπτυξη μιας χρόνιας λοίμωξης να οδηγεί στην τελική ανάπτυξη HCC.^[167] Δυστυχώς, μια σχετικά χαμηλή αποτελεσματικότητα μόλυνσης από τον HBV και η έλλειψη γενετικά ομοιόμορφων στελεχών των δένδρων περιορίζει τη χρήση τους.^[168]

Ο χιμπατζής είναι το μόνο μη πρωτεύον μοντέλο για μόλυνση από HBV και, μαζί με το δέντρο, αντιπροσωπεύει ένα από τα μοναδικά ζωικά μοντέλα που μπορούν να μολυνθούν άμεσα με HBV. Ο HBV μπορεί να δημιουργήσει οξείες^[169] και χρόνιες λοιμώξεις^[170] στους χιμπατζήδες, και αυτό το μοντέλο έχει χρησιμοποιηθεί συχνότερα για τη μοντελοποίηση της ανοσοαπόκρισης στον HBV και την αλληλεπίδραση μεταξύ του ιού και του ξενιστή.^[171] Μελέτες σε χιμπατζήδες βοήθησαν να εδραιωθεί η σχέση μεταξύ της έμφυτης και της προσαρμοστικής ανοσολογικής απόκρισης στη μόλυνση από HBV, αποδεικνύοντας ελάχιστη πρώιμη ενεργοποίηση των εγγενών ανοσοδιαμεσολαβητών^[172] και μια εξάρτηση από τα CD8⁺ T κύτταρα για ιική κάθαρση μέσω ιντερφερόνης γ και μηχανισμών εξαρτώμενου από παράγοντα νέκρωσης α,^[173] σε συμφωνία με προηγούμενη εργασία σε ποντίκια HBV-tg.^[174]

Μια άλλη σημαντική χρήση του μοντέλου των χιμπατζήδων ήταν ως υποκατάστατο μοντέλο για προκλινικές δοκιμές φαρμάκων και εμβολίων.^[175] Ωστόσο, τα ηθικά ζητήματα και το υψηλό κόστος που σχετίζονται με τη χρήση μη ανθρώπινων πρωτευόντων, έχουν περιορίσει τη χρήση αυτού του μοντέλου και την πρόσφατη επανεκτίμηση στις Ηνωμένες Πολιτείες (μία από τις δύο μόνο χώρες που επιτρέπουν την έρευνα χιμπατζήδων) της ανάγκης για τους χιμπατζήδες στην προκλινική έρευνα^[171] πιθανότατα θα μειώσει τη μελλοντική τους χρήση ακόμη περισσότερο.

Υπάρχει ένας αριθμός μοντέλων ποντικών για τη μελέτη του HBV και έχουν αναθεωρηθεί εκτενέστερα στη βιβλιογραφία.^[172] Συνήθως αυτά τα μοντέλα μπορούν να χωριστούν σε δύο κατηγορίες: ποντίκια HBV-/HBx-tg, τα οποία εκφράζουν συστατικά HBV ή HBx, αντίστοιχα, και ποντίκια στα οποία χορηγείται το γονιδίωμα HBV ή πλασμίδιο που εκφράζει HBx με υδροδυναμική ένεση φλέβας ουράς. Παρόλο που τα ηπατοκύτταρα του ποντικού δεν μπορούν να μολυνθούν άμεσα με HBV, η χρήση

ποντικών DNA ή HBV-tg που παραδίδονται από ουρές φλέβας επιτρέπει μελέτες για τον αντίκτυπο της αντιγραφής του HBV στη φυσιολογία των ηπατοκυττάρων. Τα ποντίκια HBx-tg βοηθούν ομοίως στη μελέτη των επιδράσεων που προκαλούνται από HBx.

Ενώ αυτά τα μοντέλα ποντικών είναι πολύτιμα εργαλεία, έχουν τα μειονεκτήματά τους. Για παράδειγμα, δεν υπάρχει φλεγμονώδης αντίδραση έναντι του HBV σε ποντίκια HBV-tg, η οποία θα μπορούσε να αλλάξει τις κυτταρικές οδούς που ενεργοποιούνται σε αυτά τα μοντέλα σε σύγκριση με μια φυσική λοίμωξη από HBV. Επιπλέον, επειδή ορισμένα ποντίκια HBV-tg δεν παράγουν HBV cccDNA,^[173] Παρ'όλα αυτά, τα μοντέλα ποντικών είχαν καθοριστικό ρόλο για τον καθορισμό μιας σειράς σημαντικών πτυχών του κύκλου ζωής του HBV, συμπεριλαμβανομένης της απαίτησης για HBx σε αντιγραφή HBV^[174] και το ογκογόνο δυναμικό του HBV^[175] και HBx.^[176]

Πιο πρόσφατα, έχουν περιγραφεί δύο επιπλέον μοντέλα ποντικών που μπορεί να βελτιώσουν σημαντικά την κατανόηση του κύκλου ζωής του HBV και της νόσου που σχετίζεται με τον HBV. Το πρώτο από αυτά τα συστήματα είναι το εξανθρωπισμένο μοντέλο ποντικού, στο οποίο η πλειοψηφία του ήπατος του ποντικιού επανεγκαθίσταται είτε με πρωτογενή ανθρώπινα ηπατοκύτταρα είτε από πολυγενή βλαστικά κύτταρα που προκαλούνται από ανθρώπους. Η χρήση αυτών των ζώων αντιπροσωπεύει μια σημαντική πρόοδο, καθώς υποστηρίζουν άμεση μόλυνση με HBV και μπορεί να αναπτύξουν χρόνια λοίμωξη από HBV,^[177] επιτρέποντας έτσι μελέτες για τον αντίκτυπο μιας λοίμωξης από HBV στο ήπαρ σε κυτταρικό περιβάλλον περισσότερο παρόμοιο με αυτό που παρατηρείται στο ανθρώπινο ήπαρ.

Ορισμένα από αυτά τα χημικά μοντέλα ποντικών περιλαμβάνουν εξανθρωπισμένο ήπαρ και εξανθρωπισμένα ανοσοκύτταρα, προσφέροντας τη μοναδική ευκαιρία να μελετήσουμε την ανθρώπινη ανοσοαπόκριση σε ένα μικρό μοντέλο ζώων. Αν και υπάρχουν διαφορετικές τεχνικές για την ανάπτυξη του εξανθρωπισμένου μοντέλου ποντικιού, μια σειρά ομάδων έχουν προσαρμόσει τη χρήση τους για τη μελέτη του HBV. Αυτές οι μελέτες καλύπτουν ένα ευρύ φάσμα πτυχών της βιολογίας του HBV, συμπεριλαμβανομένων μελετών της μεσολαβούμενης από HBV ανοσοαπόκρισης, διερεύνηση πιθανών θεραπευτικών του HBV,^[177, 178] και πτυχές του κύκλου ζωής του HBV όπως ο σχηματισμός σωματιδίων, η σύνδεση με τον υποδοχέα^{[179], [180]} και η ρύθμιση του cccDNA.^[181]

Ένα άλλο μοντέλο ποντικιού που περιγράφεται πρόσφατα εκφράζει το hNTCP για να επιτρέψει τη δέσμευση των υποδοχέων από τον HBV. Επί του παρόντος, αυτά τα ποντίκια είναι περιορισμένα στη χρησιμότητά τους για τη μελέτη του HBV, καθώς

πολλαπλές ομάδες έχουν δείξει ότι ενώ ο HBV μπορεί να συνδεθεί με το hNTCP που εκφράζεται σε κύτταρα ποντικού, ο κύκλος ζωής του HBV δεν φαίνεται να προχωρά πέρα από τη δέσμευση των υποδοχέων.^[182, 183] Αντιστρόφως, ο HDV χρησιμοποιεί πρωτεΐνες περιβλήματος HBV για την επικάλυψή του και ποντίκια που εκφράζουν hNTCP έχουν χρησιμοποιηθεί για τη μελέτη της μόλυνσης από HDV.^[184]

Περαιτέρω εργασία με συστήματα έκφρασης hNTCP μπορεί να βοηθήσει στον προσδιορισμό παραγόντων εξειδίκευσης ειδών που θα μπορούσαν τελικά να οδηγήσουν στην ανάπτυξη ενός μοντέλου ποντικού που εκφράζει hNTCP χρήσιμο για τη μελέτη της λοίμωξης από HBV. Μαζί με το μοντέλο εξανθρωπισμένου ήπατος, αυτά τα μοντέλα ποντικών θα μπορούσαν να συμβάλουν σημαντικά στην κατανόηση των πρώτων σταδίων μιας λοίμωξης από HBV, συμπεριλαμβανομένης της εισόδου, της μεταφοράς του γονιδιώματος του HBV στον πυρήνα και της επιδιόρθωσης του γονιδιώματος.

Η έλλειψη *in vivo* μοντέλων για τη μελέτη άμεσων λοιμώξεων από HBV και η περιορισμένη διαθεσιμότητα καλλιεργημένων πρωτογενών ανθρώπινων ηπατοκυττάρων, οδήγησε πολλούς ερευνητές να μελετήσουν την αντιγραφή του HBV και τις δραστηριότητες των πρωτεϊνών που κωδικοποιούνται με HBV σε αθανатоποιημένες ή μετασχηματισμένες κυτταρικές σειρές ήπατος και σε καλλιεργημένα πρωτογενή ηπατοκύτταρα προέρχονται από μοντέλα μικρών ζώων όπως αρουραίοι ή ποντίκια.^[185]

Η χρήση αυτών των συστημάτων απαιτεί την παράκαμψη της αρχικής μόλυνσης του κυττάρου που προκαλείται από υποδοχείς με άμεση επιμόλυνση του γονιδιώματος του HBV DNA. Αν και τα πρωτογενή ηπατοκύτταρα που προέρχονται από μοντέλα μικρών ζώων, δηλαδή αρουραίος και ποντικός, δεν μπορούν να μολυνθούν άμεσα με HBV, μπορούν να υποστηρίξουν την αντιγραφή του HBV και να χρησιμεύσουν ως υποκατάστατο μοντέλο συστήματος για τη μελέτη των επιπτώσεων της αντιγραφής του HBV και των πρωτεϊνών HBV στην κυτταρική φυσιολογία.^[186] Εδώ παρέχουμε μια περίληψη των διαθέσιμων συστημάτων μοντέλων κυτταρικής καλλιέργειας που χρησιμοποιούνται για τη μελέτη της βιολογίας του HBV, καθένα από τα οποία έχει τα δικά του οφέλη και περιορισμούς.

Οι περισσότερες κυτταρικές σειρές ηπατοκυττάρων που χρησιμοποιούνται σε μελέτες που σχετίζονται με τον HBV προέρχονται από όγκο και έτσι μετασχηματίζονται. Δεδομένου ότι τα μονοπάτια κυτταρικής σηματοδότησης αλλάζουν σημαντικά στον καρκίνο, οι κυτταρικές σειρές που προέρχονται από όγκους δεν ανακεφαλαιώνουν τη φυσιολογία των φυσιολογικών ηπατοκυττάρων. Ενώ τα αποτελέσματα που λαμβάνονται

με τη χρήση μετασχηματισμένων κυτταρικών σειρών μπορεί να είναι έγκυρα σε ένα συγκεκριμένο κυτταρικό πλαίσιο, θα πρέπει να δίνεται προσοχή στην ερμηνεία αυτών των αποτελεσμάτων επειδή μπορεί να μην αντιπροσωπεύουν απαραίτητα τις επιδράσεις του HBV στην κυτταρική φυσιολογία σε φυσιολογικά, μη μετασχηματισμένα ηπατοκύτταρα. της λοίμωξης από HBV.

Εκτός από τις κυτταρικές σειρές που προέρχονται από όγκο, ορισμένες κυτταρικές σειρές έχουν προέλθει ειδικά από όγκους θετικούς στον HBV.

Παραδείγματα κυτταρικών σειρών που απομονώνονται από όγκους θετικούς στον HBV περιλαμβάνουν την κυτταρική σειρά PLC/PRF/5 και την κυτταρική σειρά Hep3B, που είναι ανθρώπινες κυτταρικές σειρές προερχόμενες από HCC που περιέχουν πολλαπλά αντίγραφα του HBV DNA ενσωματωμένου στο DNA ξενιστή. Ενώ το PLC/PRF/5^[187] και τα κύτταρα Hep3B^[188] είναι ενεργά στην παραγωγή HBsAg, δεν παράγουν ιούς του HBV και δεν εμφανίζουν δείκτες αναπαραγωγής του HBV,^[187, 189-192] οπότε τα αποτελέσματα των μελετών που χρησιμοποιούν αυτές τις κυτταρικές σειρές απαιτούν προσεκτική ερμηνεία.

Σε μια προσπάθεια καθιέρωσης ενός συστήματος για τη μελέτη της βιολογίας του HBV, και συγκεκριμένα της αντιγραφής του HBV, τα αποτελέσματα πολλών μελετών έδειξαν ότι το DNA του HBV θα μπορούσε να επιμολυνθεί σε πολλές διαφορετικές κυτταρικές σειρές, συμπεριλαμβανομένης της κυτταρικής σειράς HepG2 που προέρχεται από ηπατοβλάστωμα,^[193] και η κυτταρική σειρά Huh7 που προέρχεται από ήπατο^[194] και ότι ο HBV θα μπορούσε να αναπαραχθεί αποτελεσματικά σε αυτά τα κύτταρα.

Κατά συνέπεια, τα κύτταρα HepG2 και Huh7 που εκφράζουν HBV DNA χρησιμοποιούνται συχνά στη μελέτη της βιολογίας του HBV. Ενώ τα κύτταρα HepG2 και τα κύτταρα Huh7 υποστηρίζουν την αντιγραφή του HBV, παρόμοια με όλες σχεδόν τις υπάρχουσες ανθρώπινες κυτταρικές σειρές ήπατος, δεν μπορούν να μολυνθούν άμεσα με HBV, εν μέρει λόγω των χαμηλών επιπέδων έκφρασης του hNTCP, του λειτουργικού κυτταρικού υποδοχέα για τον HBV.^[195] Προκειμένου να αναλυθούν οι διαφορές μεταξύ κυττάρων με και χωρίς αναπαραγωγή HBV, τα κύτταρα HepG2.2.15 έχουν συγκριθεί μερικές φορές με κύτταρα HepG2. Τα κύτταρα HepG2.215 προέρχονται αρχικά από κύτταρα HepG2 και εκφράζουν σταθερά τον HBV από δύο ενσωματωμένα διμερή κεφαλής προς ουρά του γονιδιώματος HBV.^[196] Τα αποτελέσματα που λαμβάνονται με τη σύγκριση των κυττάρων HepG2.215 με τα γονικά κύτταρα HepG2, ωστόσο, πρέπει να

ερμηνευτούν με προσοχή. Λόγω της συνεχούς διέλευσης των κυττάρων HepG2.215 από την ανάπτυξή τους το 1987, ομοιότητες πέρα από την έκφραση του HBV μπορεί να υπάρχουν μεταξύ των κυττάρων HepG2.2.15 και των γονικών κυττάρων HepG2.

Λόγω αυτών των ομοιοτήτων, φαινοτυπικές διαφορές που παρατηρούνται μεταξύ των κυττάρων HepG2.215 και HepG2 μπορεί να μην είναι αποκλειστική συνέπεια της αναπαραγωγής του HBV.

Μαζί, η χρήση εξωγενώς παραδίδεται HBV DNA σε καθιερωμένες κυτταρικές γραμμές, όπως HepG2 και Huh7, και η χρήση των κυτταρικών σειρών που εκφράζουν σταθερά HBV, όπως τα HepG2-κυτταρικές γραμμές που παράγονται HepG2.2.15 και HepAD38,^[196, 197] make μέχρι την πλειοψηφία των μελετών που έχουν διεξαχθεί για την κατανόηση της βιολογίας του HBV. Ενώ αυτά τα μοντέλα κυτταρικής καλλιέργειας έχουν αποδειχθεί εξαιρετικά πολύτιμα για τη μελέτη της αντιγραφής του HBV DNA, της ιικής συναρμολόγησης και της έκκρισης του ιού, έχουν περιορισμούς που τους εμποδίζουν να ανακεφαλαιοποιήσουν όλες τις πτυχές μιας αυθεντικής ανθρώπινης λοίμωξης από HBV.^[198]

Ορισμένες πρόσφατες εξελίξεις έχουν οδηγήσει σε αυξημένη αισιοδοξία για την ανάπτυξη ενός αποτελεσματικού *in vitro* συστήματος για τη μελέτη ολόκληρου του κύκλου ζωής του HBV. Για παράδειγμα, η σύντηξη πρωτογενών ανθρώπινων ηπατοκυττάρων με μηδενικά [HGPRT (-)] HepG2 κύτταρα φωσφοριβοζυλοτρανσφεράσης υποξανθίνης-γουανίνης οδήγησε στη δημιουργία της αθάνατης κυτταρικής σειράς, HepCHLine-4/-7, που μπορεί να παρέχει ένα πρότυπο σύστημα για λοίμωξη από HBV.

Αυτή η κυτταρική σειρά υποστηρίζει την αντιγραφή του HBV και είναι ευαίσθητη σε λοίμωξη από HBV όταν επωάζεται με ορό από ασθενείς με θετικό HBV.^[199, 200] Ωστόσο, μια αβέβαιη γενετική σταθερότητα κατά τη διάρκεια της συντήρησης εμποδίζει τη χρήση αυτού του συστήματος.^[198] Επιπλέον, η κυτταρική σειρά HepaRG, μια ανθρώπινη κυτταρική σειρά ηπατώματος, μπορεί επίσης να μολυνθεί άμεσα με HBV και υποστηρίζει την αντιγραφή του HBV. Ενώ αυτή η κυτταρική σειρά χρησιμοποιείται συχνά σε μελέτες μόλυνσης από HBV, η χρήση της περιορίζεται από χαμηλή απόδοση μόλυνσης από HBV μόνο περίπου 10-20% και την ανάγκη πρόκλησης διαφοροποίησης πριν από τη μόλυνση, η οποία περιλαμβάνει τη διατήρηση των κυττάρων σε 2% DMSO για 2 εβδομάδες πριν από την επαγωγή της διαφοροποίησης.^[198, 201]

Η πρόσφατη ανακάλυψη του hNTCP ως λειτουργικού υποδοχέα HBV έχει σημαντικές επιπτώσεις στη βασική έρευνα για τον HBV και την ανάπτυξη του ιού. Ειδικότερα, η αναγνώριση του hNTCP άνοιξε νέους δρόμους για τη δημιουργία νέων συστημάτων μοντέλων κυτταρικής καλλιέργειας που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την κατανόηση των επιπτώσεων της φυσικής λοίμωξης από HBV. Τα κύτταρα HepG2 που εκφράζουν hNTCP (HepG2-hNTCP), θεωρητικά, παρέχουν ένα βολικό *in vitro* σύστημα για λοίμωξη από HBV.

Η εξωγενής έκφραση του hNTCP στα κύτταρα HepG2 τα καθιστά ευαίσθητα σε λοίμωξη από HBV. Ωστόσο, τα χαμηλά επίπεδα μόλυνσης, τυπικά περίπου 10%, και η απαίτηση για μεγάλα υικά εμβόλια περιορίζουν τη χρήση τους. Οι μελέτες που βασίζονται στη μόλυνση παρεμποδίζονται ακόμη περισσότερο από τα χαμηλά επίπεδα ιού που απελευθερώνονται από κύτταρα μολυσμένα με HBV, τα οποία πιστεύεται ότι είναι περίπου 1 ιογενές ουσία την ημέρα, καθιστώντας δύσκολη την παραγωγή των μεγάλων ποσοτήτων ιού που απαιτούνται για τέτοιου είδους μελέτες. Παρά αυτά τα ζητήματα, τα κύτταρα HepG2-hNTCP παρέχουν ένα πολύτιμο *in vitro* μοντέλο συστήματος για τη διαλεύκανση των επιπτώσεων της φυσικής λοίμωξης από τον HBV, τη διερεύνηση του πλήρους κύκλου ζωής του HBV συμπεριλαμβανομένων των πρώτων σταδίων μιας λοίμωξης από τον HBV και τον εντοπισμό νέων θεραπευτικών επιλογών.^[103, 172, 198, 202-204]

Ως φυσικός στόχος μιας λοίμωξης από HBV, τα πρωτογενή ανθρώπινα ηπατοκύτταρα θα ήταν το ιδανικό *in vitro* σύστημα για μελέτες του HBV. Δυστυχώς, τα καλλιεργημένα πρωτογενή ανθρώπινα ηπατοκύτταρα χάνουν την ευαισθησία στη μόλυνση από HBV μέσα σε ημέρες απομόνωσης και καλλιέργειας, πιθανώς επειδή η έκφραση του hNTCP μειώνεται γρήγορα με την πάροδο του χρόνου στην καλλιέργεια.^[198, 205]

Είναι ενδιαφέρον ότι ο Rice και οι συνεργάτες του ανέφεραν πρόσφατα ότι επαγόμενα πολυδύναμα ηπατοκύτταρα που προέρχονται από βλαστοκύτταρα (προερχόμενα από iPSC iHeps) μπορούν να υποστηρίξουν τη μόλυνση από τον HBV, ανοίγοντας δυνητικά νέους δρόμους για τη μελέτη της βιολογίας του HBV και της αλληλεπίδρασης ιού-ξενιστή και για τη δοκιμή αντιικών υποψηφίων.

Ωστόσο, απαιτείται μια μακρά διαδικασία επαγωγής που περιλαμβάνει διαφοροποίηση των iPSCs πριν από τη μόλυνση από HBV και οι υικοί δείκτες μόλυνσης μπορούν να ανιχνευθούν μόνο περισσότερο από μία εβδομάδα μετά τον εμβολιασμό.^[198, 205, 206]

Αν και μελέτες σε αθανатоποιημένα ή μετασχηματισμένα κύτταρα έχουν χρησιμεύσει ως ισχυρά μοντέλα για τη μελέτη διαφόρων πτυχών της αντιγραφής του HBV και των λειτουργιών των πρωτεϊνών που κωδικοποιούνται με HBV, αυτές οι μελέτες έχουν επίσης καταδείξει ότι οι δραστηριότητες που προκαλούνται από τον HBV, ιδιαίτερα εκείνες που σχετίζονται με τις πρωτεΐνες HBV όπως το HBx, μπορεί να διαφέρουν σε διαφορετικά κυψελοειδή περιβάλλοντα.^[207] Εναλλακτικά, μελέτες σε καλλιεργημένα πρωτογενή ηπατοκύτταρα έχουν αρχίσει να αποσαφηνίζουν τις στρατηγικές αντιγραφής του HBV και τη λειτουργία των πρωτεϊνών του HBV σε ένα πιο σχετικό πλαίσιο.^[208]

Πρόσφατα, καλλιεργημένα πρωτοπαθή ηπατοκύτταρα αρουραίου έχουν χρησιμοποιηθεί για τη μελέτη της αντιγραφής του HBV και των λειτουργιών της πρωτεΐνης HBx.^[83-86, 209] Οι δραστηριότητες HBx σε καλλιεργημένα πρωτοπαθή ηπατοκύτταρα αρουραίου ήταν παρόμοιες με τις δραστηριότητες HBx σε καλλιεργημένα πρωτογενή ανθρώπινα ηπατοκύτταρα, υποστηρίζοντας τη χρήση καλλιεργημένων πρωτογενών ηπατοκυττάρων αρουραίου ως μοντέλο συστήματος για τη μελέτη της επίδρασης του HBV στη φυσιολογία των ηπατοκυττάρων.^[86, 185, 186]

5. ΦΥΣΙΚΗ ΙΣΤΟΡΙΑ ΤΟΥ HBV

Το Serendipity οδήγησε στον εντοπισμό του αντιγόνου της Αυστραλίας, το οποίο σήμερα γνωρίζουμε ως αντιγόνο επιφανειακής ηπατίτιδας Β (HBsAg). Μια γραμμή ανοσοδιάχυσης ιζήματος μεταξύ του HBsAg που υπάρχει στον ορό μιας Αυστραλίας και του αντισώματος έναντι του HBsAg σε έναν ασθενή με αιμορροφιλία που είχε λάβει πολλαπλές μεταγγίσεις έδωσε το πρώτο στοιχείο. Η επακόλουθη ανάπτυξη οξείας ηπατίτιδας σε τεχνικό εργαστηρίου παρείχε τον ουσιαστικό σύνδεσμο με την κλινική ασθένεια. Για αυτά τα επιτεύγματα, ο Δρ Baruch Blumberg έλαβε το Νόμπελ Φυσιολογίας ή Ιατρικής το 1976.^[210]

Διαδοχικά, οι ανακαλύψεις από όλο τον κόσμο ενίσχυαν την κατανόησή μας για την πολυπλοκότητα αυτού του ασυνήθιστου ιού. Παρόλο που δεν έχει σημειωθεί ακόμη σημαντική μείωση του συνολικού επιπολασμού της λοίμωξης, η επόμενη γενιά θα πρέπει να δει μείωση τόσο του παγκόσμιου ποσοστού φορέων όσο και της συχνότητας εμφάνισης νέων λοιμώξεων από HBV.

Η λοίμωξη από HBV μπορεί να οδηγήσει σε υψηλούς ιικούς τίτλους στο αίμα ατόμων που έχουν μολυνθεί με HBV, με τα επίπεδα των ιών του HBV να φτάνουν έως και 10^{10} σωματίδια/mL.^[211] Λόγω αυτών των υψηλών τίτλων HBV στο αίμα, ο κύριος μηχανισμός μετάδοσης του ιού είναι μέσω του αίματος. Συγκεκριμένα, η έκθεση κατά τη διάρκεια του τοκετού από μητέρα που έχει μολυνθεί με HBV είναι η κύρια παγκόσμια αιτία λοιμώξεων από HBV, με το δυναμικό της κάθετης μετάδοσης να φτάνει το 90% σε ορισμένα μέρη της Ασίας.

6. ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΜΕΤΑΔΟΣΗΣ HBV ΛΟΙΜΩΞΗΣ

Οι παράγοντες κινδύνου για λοίμωξη από HBV περιλαμβάνουν μετάγγιση αίματος χωρίς έλεγχο, νεφρική αιμοκάθαρση, σεξουαλική ασυμφωνία, κοινή χρήση ή επαναχρησιμοποίηση συρίγγων μεταξύ χρηστών ενέσιμων ναρκωτικών, τατουάζ, διάτρηση, εργασίας ή διαμονής σε περιβάλλον υγειονομικής περίθαλψης, που ζουν σε διορθωτική εγκατάσταση και μακροχρόνια όρος οικιακή ή οικεία μη σεξουαλική επαφή με θετικό HBsAg άτομο.

Σε εξαιρετικά ενδημικές περιοχές, η πλειονότητα των χρόνιων αντιγόνων της ηπατίτιδας B (HBsAg) χρόνιοι φορείς λαμβάνουν λοίμωξη HBV κατά τη γέννηση ή κατά την πρώτη δεκαετία της ζωής, ενώ σε χώρες με χαμηλή ενδημία η μετάδοση του HBV συμβαίνει κυρίως στην ενηλικίωση λόγω μη προστατευμένης σεξουαλικής επαφής, ανταλλαγής συρίγγων ή παρεντερική έκθεση σε μολυσμένο ιατρικό εξοπλισμό.^[212, 213-215]

Η μετάδοση του HBV μπορεί επίσης να συμβεί σε καταστάσεις όπου υπάρχει συχνή και παρατεταμένη στενή προσωπική επαφή με μολυσμένο άτομο (216). Πριν από την εφαρμογή της καθολικής ανοσοποίησης για βρέφη από ηπατίτιδα B, εκτιμάται ότι 16.000 παιδιά κάτω των 10 ετών μολύνονταν κάθε χρόνο στις Ηνωμένες Πολιτείες μέσω έκθεσης σε θετικά HBsAg μέλη του νοικοκυριού ή επαφές με την κοινότητα (217, 218). Παρόλο που ο ακριβής τρόπος μετάδοσης είναι άγνωστος, η μετάδοση υποτίθεται ότι συμβαίνει από μη εμφανείς εκθέσεις αίματος ή σωματικών υγρών από γονείς, αδέρφια ή συμπαίκτες που εμβολιάζουν τον HBV σε δερματικές γρατζουνιές, γδαρσίματα ή άλλες βλάβες ή σε βλεννογόνους επιφάνειες.^[219-231]

7. ΠΑΘΟΓΟΝΟΣ ΔΡΑΣΗ HBV

7.1. ΟΞΕΙΑ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ Β

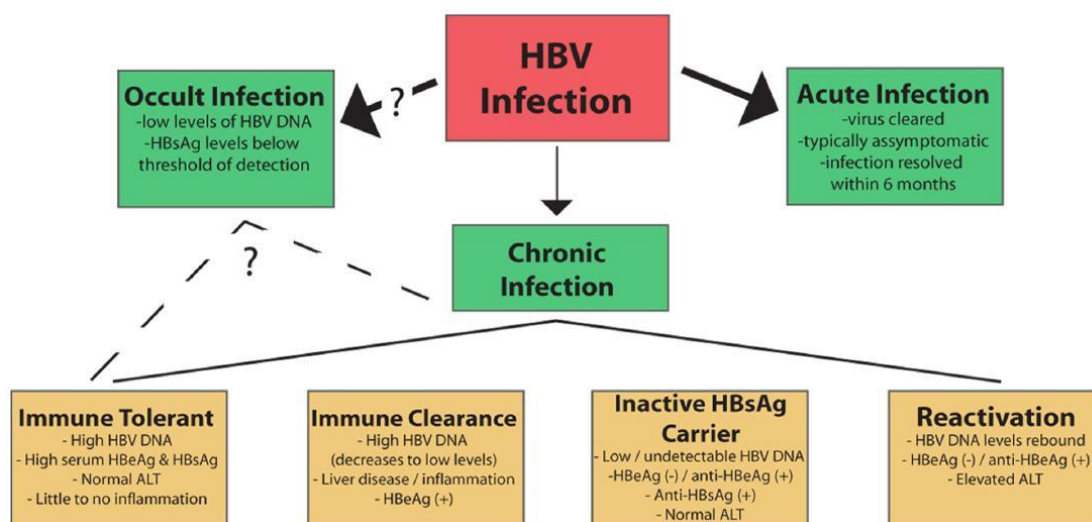
Η φυσική ιστορία του HBV έχει χωριστεί σε δύο τύπους λοίμωξης [Εικόνα 3]. Για περίπου το 90-95% των λοιμώξεων από HBV σε ενήλικες, το αποτέλεσμα είναι «οξεία ηπατίτιδα» όπου το μολυσμένο άτομο επιλύει τη μόλυνση σε σημείο μη ανιχνεύσιμου ιικού DNA και παρουσία αντισωμάτων κατά του HBsAg. Συμπτωματικά άτομα που έχουν μολυνθεί με HBV παρουσιάζουν φλεγμονή του ήπατος, η οποία είναι γνωστή ως ηπατίτιδα, και σχετιζόμενη ναυτία, ίκτερο, κοιλιακό άλγος και έμετο.

Για πολλές περιπτώσεις λοίμωξης από HBV, το μολυσμένο άτομο είναι ασυμπτωματικό και οι οξείες λοιμώξεις γενικά καθαρίζονται μέσα σε 6 μήνες. Σε μοντέλα οξείας λοίμωξης σε τσιπούρες μολυσμένους με WHV και χιμπατζήδες μολυσμένους με HBV, οι πρώτες αρκετές εβδομάδες μόλυνσης τυπικά χαρακτηρίζονται από ελάχιστο έμφυτο^[232] ή προσαρμοστική^[233] ανοσοποιητική ενεργοποίηση, με ιογενή εξάπλωση σε ολόκληρο τον πληθυσμό των ηπατοκυττάρων.^[234]

Τελικά, η ενεργοποίηση μιας αποτελεσματικής αντι-ιικής απόκρισης, συμπεριλαμβανομένης της ενεργοποίησης των κυτταροτοξικών T λεμφοκυττάρων (CTL), οδηγεί σε φλεγμονή στο ήπαρ και σκοτώνει την πλειοψηφία των ηπατοκυττάρων που έχουν μολυνθεί με HBV σε διάστημα μερικών εβδομάδων.

Είναι ενδιαφέρον ότι μελέτες ενσωματωμένου WHV DNA σε ξυλοκόβες που υποβλήθηκαν σε θεραπεία με κλεβουδίνη, έναν αναστολέα της ιικής πολυμεράσης, έδειξαν ότι ο επαναπληθυσμός του ήπατος φαίνεται να συμβαίνει από τον πληθυσμό των μολυσμένων ηπατοκυττάρων και όχι από έναν μικρότερο πληθυσμό μη μολυσμένων ηπατοκυττάρων.^[235]

Η κάθαρση φαίνεται να μεσολαβείται κυρίως από αντικές κυτοκίνες, με τα CTL να σκοτώνουν άμεσα τα ηπατοκύτταρα που έχουν μολυνθεί με HBV μόλις το ιικό φορτίο πέσει κάτω από συγκεκριμένα επίπεδα.^[236, 237]



Εικόνα 3. Το φυσικό ιστορικό λοίμωξης από ιό ηπατίτιδας Β (HBV). Η μόλυνση με HBV μπορεί να οδηγήσει σε οξεία, αυτοκαθαριζόμενη ή χρόνια λοίμωξη HBV. η ανάπτυξη χρόνιας λοίμωξης από HBV συσχετίζεται θετικά με τη νεότερη ηλικία. Μια χρόνια λοίμωξη ακολουθεί συνήθως μια μακροχρόνια πορεία κατά την οποία ο ιός αναπαράγεται σε υψηλά επίπεδα, ακολουθούμενος από ανοσολογικά ελεγχόμενο έλεγχο της αντιγραφής του ιού που σχετίζεται με φλεγμονή του ήπατος. Η ορομετατροπή και η διατήρηση μη ανιχνεύσιμων ή χαμηλών επιπέδων αντιγραφής του ιού είναι δείκτες ευνοϊκής πρόγνωσης, αλλά η μακροχρόνια ασθένεια μπορεί να οδηγήσει στην ανάπτυξη κίρρωσης και ηπατοκυτταρικού καρκινώματος. (Δείτε το κείμενο για περισσότερες λεπτομέρειες)

7.2. ΧΡΟΝΙΑ HBV ΛΟΙΜΩΞΗ

Περίπου το 5-10% των περιπτώσεων ενηλίκων που έχουν μολυνθεί με HBV, και ένα σημαντικά υψηλότερο ποσοστό βρεφών και παιδιών που έχουν μολυνθεί από HBV, αναπτύσσουν χρόνια λοίμωξη από HBV^[238] όπως υποδεικνύεται από τη συνεχή, ανιχνεύσιμη έκφραση του HBsAg για τουλάχιστον 6 μήνες μετά την αρχική μόλυνση.

Πιο πρόσφατα, η εφαρμογή πιο ευαίσθητων τεχνικών ανίχνευσης, όπως μεθόδους βασισμένες σε αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR) που μπορούν να ανιχνεύσουν <250 HBV virions/mL, έχει επίσης δείξει ότι πολλά άτομα που πιστεύεται ότι ήταν απαλλαγμένα από HBV μετά από δήθεν κάθαρση HBV (υποδεικνύεται από την απουσία ανιχνεύσιμων επιπέδων έκφρασης του HBsAg) έχουν πραγματικά χαμηλά επίπεδα ανιχνεύσιμου DNA HBV ορού και ήπατος.

Στην πραγματικότητα, χαμηλά επίπεδα HBV DNA μπορούν να ανιχνευθούν σε έως και 30% των ασθενών με ηπατική νόσο προηγούμενως άγνωστης αιτιολογίας.^[239-240] Αυτό το αποτέλεσμα οδήγησε στην αναγνώριση απόκρυφων λοιμώξεων HBV, στις οποίες το επίπεδο του ιού είναι επίμονα χαμηλό και κάτω από το επίπεδο ανίχνευσης με παραδοσιακές τεχνικές ανίχνευσης HBsAg

Λόγω της σχετικά πρόσφατης ταυτοποίησης αυτής της ομάδας ατόμων που έχουν μολυνθεί με HBV, οι παράγοντες κινδύνου που σχετίζονται με μια απόκρυφη λοίμωξη από HBV παραμένουν αδιευκρίνιστοι, αν και ορισμένα στοιχεία υποδηλώνουν ότι οι απόκρυφες λοιμώξεις διατηρούν πολλούς από τους ίδιους παράγοντες κινδύνου με τη χρόνια λοίμωξη από HBV.^[241]

Κλινικά, μια χρόνια λοίμωξη από HBV μπορεί να χωριστεί σε πολλαπλές φάσεις,^[11, 209, 215, 219] αν και δεν προχωρούν όλοι οι ασθενείς σε κάθε στάδιο. Η φάση «ανοσοποιητική» χαρακτηρίζεται από υψηλούς τίτλους HBV DNA (>100.000 αντίγραφα/mL), παρουσία HBeAg και μικρή ηπατική νόσο. Αυτή η φάση μπορεί να διαρκέσει δεκαετίες, ειδικά σε περιγεννητικά μολυσμένους ασθενείς, αλλά είναι συνήθως σύντομη ή απουσιάζει στον παιδικό και ενήλικο HBV.

Η φάση «ανοσοκαθαρισμού» έχει επίσης υψηλά επίπεδα HBV, αν και συνήθως λιγότερα από αυτά που υπάρχουν στη φάση ανοχής ανοσίας, καθώς και έκφραση HBeAg, αλλά χαρακτηρίζεται επίσης από πιο προχωρημένη ηπατική νόσο με αυξημένη φλεγμονή και εξέλιξη της ίνωσης.

Επιπλέον, αυτή η φάση σχετίζεται με αιχμές στα επίπεδα των αμινοτρανσφερασών, οι οποίες πιστεύεται ότι είναι αποτέλεσμα μιας ειδικής για τον HBV κυτταροτοξικής μεσολαβούμενης ανοσοαπόκρισης των T-κυττάρων και καταστροφής των ηπατοκυττάρων που έχουν μολυνθεί με HBV.^[242]

Αυτό είναι σημαντικό, καθώς μεγαλύτερη διάρκεια αυτής της φάσης και υψηλότερη συχνότητα/σοβαρότητα των εκρήξεων του HBV σχετίζονται με την ανάπτυξη κίρρωσης και HCC.^[243] Συνήθως αυτή η φάση μπορεί να διαρκέσει από αρκετές εβδομάδες έως χρόνια και πιθανώς αντιπροσωπεύει ανοσολογικές προσπάθειες ελέγχου των επιπέδων του HBV. Η ορομετατροπή από το HBeAg σε anti-HBe θεωρείται σημαντικό κλινικό αποτέλεσμα της φάσης της ανοσολογικής κάθαρσης, με τον ανοσολογικό έλεγχο του ιού να οδηγεί σε πολύ χαμηλά ή μη ανιχνεύσιμα επίπεδα HBV στον ορό μαζί με φυσιολογικά επίπεδα αμινοτρανσφεράσης. Είναι σημαντικό ότι η ορομετατροπή HBeAg σχετίζεται με ευνοϊκό μακροπρόθεσμο αποτέλεσμα και μειωμένο κίνδυνο ανάπτυξης κίρρωσης ή HCC.^[244]

Η φάση «ανενεργός φορέας HBsAg» χαρακτηρίζεται από πολλαπλές αλλαγές στην κατάσταση της νόσου. Συγκεκριμένα, υπάρχει απώλεια έκφρασης HBeAg που αντιστοιχεί σε αυξημένη παρουσία αντι-HBe. Η αυθόρμητη ορομετατροπή από το HBsAg σε αντι-HB και τα χαμηλά σε μη ανιχνεύσιμα επίπεδα του HBV DNA στον ορό είναι επίσης χαρακτηριστικά γνωρίσματα αυτής της φάσης.

Επιπλέον, τα επίπεδα αμινοτρανσφεράσης παραμένουν σταθερά φυσιολογικά. χαμηλή έως ήπια ηπατίτιδα και ίνωση μπορεί να παρατηρηθούν με βάση τη διάρκεια της φάσης ανοσολογικής κάθαρσης. Η φάση του ανενεργού φορέα θα μπορούσε δυνητικά να διατηρηθεί επ'αόριστον και σχετίζεται με ευνοϊκό κλινικό αποτέλεσμα.^[215, 219]

Ωστόσο, ορισμένα άτομα στη φάση του ανενεργού φορέα HBV εισέρχονται σε μια φάση «επανενεργοποίησης/αρνητικής χρόνιας ηπατίτιδας B με HBeAg» κατά την οποία η αντιγραφή του HBV ανακάμπτει είτε αυθόρμητα είτε ως αποτέλεσμα ανοσοκαταστολής.

Αυτοί οι ασθενείς είναι HBeAg αρνητικοί/αντι-HBe θετικοί και έχουν αυξημένα ηπατικά ένζυμα με αυξημένη νεκροφλεγμονή. Τα επίπεδα ορού του HBV DNA μπορεί να φτάσει τόσο υψηλό όπως 10^8 - 10^9 αντίγραφα / mL, αν και τα επίπεδα είναι τυπικώς χαμηλότερο από HBeAg-θετικούς ασθενείς.^[44, 209, 215, 219]

Τελικά, για πολλούς ασθενείς το τελικό αποτέλεσμα μιας χρόνιας λοίμωξης από HBV είναι η ανάπτυξη HCC που σχετίζεται με τον HBV. Ενώ επί του παρόντος έχουν εγκριθεί επτά θεραπευτικές αγωγές για τη θεραπεία του χρόνιου HBV, καμία δεν έχει αποδειχθεί επιτυχής στην επίτευξη μιας «απόλυτης θεραπείας» ή μιας πλήρους απώλειας του DNA του HBV και ενός κινδύνου ζωής για ανάπτυξη HCC ίσης με το φυσικό καθαρισμό της λοίμωξης.

Πέντε από αυτά τα θεραπευτικά είναι νουκλεοσιδικά ανάλογα, σχεδιασμένα να αναστέλλουν άμεσα την RT. Οι άλλες δύο, τυπική και πεγκυλιωμένη ιντερφερόνη-α, λειτουργούν ως αντιικές κυτοκίνες, σηματοδοτώντας μέσω του υποδοχέα ιντερφερόνης την ενεργοποίηση της οδού JAK-STAT.^[11, 219]

Αν και είναι γενικά αποτελεσματικό στη μείωση του ιικού φορτίου, το γεγονός ότι καμία από αυτές τις θεραπείες κατά του HBV δεν είναι θεραπευτικό σημαίνει ότι αυτές οι θεραπείες πρέπει να είναι θεραπείες δια βίου, πράγμα που οδηγεί τελικά στην ανάπτυξη μεταλλάξεων HBV που είναι ανθεκτικά σε αυτές τις θεραπείες. Εξαιτίας αυτού, έχουν αναπτυχθεί συγκεκριμένες κατευθυντήριες γραμμές για το πότε πρέπει να χρησιμοποιείται αντική θεραπεία και ποια θεραπευτική χρήση.^[219]

Στο δεύτερο στάδιο, αναπτύσσεται ή βελτιώνεται μια ανοσολογική απάντηση, οδηγώντας σε διέγερση κυτοκίνης και άμεση κυτταρική λύση και φλεγμονώδη διαδικασία. Η έκκριση του HBeAg εξακολουθεί να συμβαίνει στο στάδιο 2, αλλά τα επίπεδα του HBV DNA στον ορό μειώνονται καθώς μειώνεται ο αριθμός των μολυσμένων κυττάρων. Σε ασθενείς με οξεία λοίμωξη από HBV, το στάδιο 2 είναι η περίοδος της συμπτωματικής ηπατίτιδας και συνήθως διαρκεί τρεις έως τέσσερις εβδομάδες.

Σε ασθενείς με χρόνια νόσο, το στάδιο 2 μπορεί να επιμείνει για 10 ή περισσότερα χρόνια, οδηγώντας σε κίρρωση και τις επιπλοκές του.

Όταν ο ξενιστής είναι σε θέση να τοποθετήσει μια απόκριση που εξαλείφει τα μολυσμένα κύτταρα ή μειώνει σημαντικά τον αριθμό τους, η ενεργός αντιγραφή του ιού τελειώνει και ξεκινά το τρίτο στάδιο. Σε αυτό το στάδιο, το HBeAg δεν είναι πλέον παρόν και το αντίσωμα του HBeAg γίνεται ανιχνεύσιμο. Παρατηρείται αξιοσημείωτη μείωση του ιικού DNA, αν και πολλοί ασθενείς παραμένουν θετικοί για DNA HBV όπως ανιχνεύεται με PCR.

Πρακτικά, η μόλυνση έχει εξαφανιστεί μέχρι το στάδιο 3 και τα επίπεδα αμινοτρανσφεράσης γίνονται φυσιολογικά. Ωστόσο, οι ασθενείς παραμένουν θετικοί για το HBsAg, πιθανώς λόγω της ενσωμάτωσης του γονιδίου S στο γονιδίωμα των ηπατοκυττάρων του ξενιστή.

Οι περισσότεροι ασθενείς τελικά γίνονται αρνητικοί για το HBsAg και θετικοί για το αντίσωμα του HBsAg, σηματοδοτώντας το τέταρτο, ή ανοσοποιητικό στάδιο στον κύκλο ζωής του HBV. Το DNA HBV δεν μπορεί πλέον να ανιχνευθεί με κανένα τρόπο και ο ασθενής είναι απίθανο να μολυνθεί εκ νέου ή να έχει επανενεργοποιηθεί λοίμωξη. Οι παράγοντες που επηρεάζουν την εξέλιξη μέσω των τεσσάρων σταδίων, εκτός από τη γενετική προδιάθεση του ξενιστή, που σημειώθηκε παραπάνω, περιλαμβάνουν την παρουσία άλλων ιών, θεραπεία με ανοσοκατασταλτικούς παράγοντες, το φύλο και την εμφάνιση μεταλλαγμένων HBV.

Όπως και με πολλούς ιούς, ο HBV πρέπει να βελτιστοποιήσει το κυτταρικό περιβάλλον για αντιγραφή του ιού. Στην περίπτωση του HBV, αυτό περιλαμβάνει την πρόκληση των ηπατοκυττάρων να εξέλθουν από την ηρεμία και να εισέλθουν σε έναν ενεργό κυτταρικό κύκλο και η κατάσταση των οδών πολλαπλασιασμού των κυττάρων μπορεί να έχει σημαντικό αντίκτυπο στην αντιγραφή του HBV.^[245]

Για παράδειγμα, σε πρωτοπαθή ηπατοκύτταρα αρουραίου, ο HBV μετακίνησε τα κύτταρα από το G₀ μέσα και μέσω του G₁, αλλά σταμάτησε την πρόοδο πριν τα ηπατοκύτταρα καταφέρουν να φτάσουν στη φάση S, και αυτή η ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου απαιτείται για την αντιγραφή του HBV στην πρωτογενή ηπατοκύτταρα αρουραίου.^[246] Μελέτες σε κυτταρικές σειρές προτείνουν μια παρόμοια ρύθμιση της εξέλιξης του κυτταρικού κύκλου με τη μεσολάβηση του HBV, με τον HBV να σταματά την πρόοδο του κυτταρικού κύκλου πριν από την είσοδο στη φάση S και στα δύο κύτταρα Huh7 που εκφράζουν τα HBV και τα κύτταρα HepG2.2.15 που εκφράζουν τον HBV.^[247]

Είναι ενδιαφέρον ότι οι μελέτες έχουν επίσης δείξει μειωμένο πολλαπλασιασμό των κυττάρων HepG2,15, σε σύγκριση με τα κύτταρα HepG2, μαζί με τη μεσολάβηση του HBV μεταβολής των ρυθμιστών κυτταρικού κύκλου που οδηγεί σε διακοπή φάσης G1.^[248]

Μια άλλη μελέτη, ωστόσο, σε κύτταρα Huh7 και κύρια ηπατοκύτταρα μαρμόζης, κατέδειξε μια στάση που προκαλείται από τον HBV στη φάση G2 του κυτταρικού κύκλου.^[249] Ενώ κάπως αντιφατικά, αυτά τα αποτελέσματα μαζί συσχετίζονται καλά με τα αποτελέσματα άλλων μελετών που δείχνουν ότι ο αναδιπλασιασμός του HBV αυξάνεται όταν ο κυτταρικός κύκλος σταματήσει είτε στο G₁ είτε στο G₂, αλλά ο αναδιπλασιασμός του HBV μειώνεται κατά τη φάση S, όταν η σύνθεση του κυτταρικού DNA θα ήταν υψηλότερη, δυνητικά εξαντλώντας τη δεξαμενή νουκλεοτιδίων που θα ήταν διαθέσιμα για αντιγραφή του HBV.^[250]

Μεγάλο μέρος της HBV ρύθμισης του κυτταρικού κύκλου φαίνεται να είναι μέσω της δραστηριότητας της πρωτεΐνης HBx. Πολλαπλές μελέτες σε πρωτογενή ηπατοκύτταρα έχουν δείξει ότι το HBx αλλάζει τους ρυθμιστές κυτταρικού κύκλου, συμπεριλαμβανομένης της μείωσης της έκφρασης των p15 και p16, μείωση της σύνθεσης του DNA και αύξηση της έκφρασης των p21, p27, κυκλίνης D1 και κυκλίνης E.^[85, 185, 239]

Μαζί αυτά τα αποτελέσματα υποδηλώνουν ότι το HBx οδηγεί τα ηπατοκύτταρα στον κυτταρικό κύκλο αλλά αυξάνει την έκφραση των αναστολέων που εμποδίζουν την εξέλιξη πέρα από το G₁. Αυτή η ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου με τη μεσολάβηση του HBx θα μπορούσε να έχει μακροπρόθεσμο αντίκτυπο στη φυσιολογία των ηπατοκυττάρων, μεταβάλλοντας τις οδούς πολλαπλασιασμού των ηπατοκυττάρων και συμβάλλοντας στην ανάπτυξη νόσου που σχετίζεται με τον HBV και HCC.

Παρόλο που υπάρχουν θεραπείες για χρόνια λοίμωξη από HBV, η αντίσταση στα διαθέσιμα φάρμακα κατά του HBV, τα οποία αναπτύσσονται λόγω της εμφάνισης μεταλλαγμένων HBV, είναι ένα σημαντικό μειονέκτημα της συνέχισης της θεραπείας αναλογικού νουκλεοσιδίου. Επιπλέον, οι υπάρχουσες αντιϊκές θεραπείες μπορούν να ελέγξουν αλλά όχι να εξαλείψουν πλήρως τον HBV λόγω της επιμονής του πυρηνικού εντοπισμένου HBV cccDNA και η επιμονή του cccDNA παραμένει ένα σημαντικό εμπόδιο για τη θεραπεία και τη θεραπεία χρόνιων λοιμώξεων από HBV.^[251-252]

Ενώ έχει σημειωθεί ουσιαστική πρόοδος στον εντοπισμό μηχανισμών που βασίζονται στη μόλυνση, την αναπαραγωγή και την κάθαρση του HBV, υπάρχουν ακόμη κενά στην κατανόησή μας για τον κύκλο ζωής του HBV. Η έλλειψη συστημάτων

μοντέλων κυτταρικής καλλιέργειας που μπορούν να ανακεφαλαιώσουν όλες τις πτυχές μιας ανθρώπινης λοίμωξης από HBV και την έλλειψη *in vivo* μοντέλα για τη μελέτη άμεσων λοιμώξεων από HBV έχει εμποδίσει την κατανόηση της βιολογίας του HBV. Η πρόσφατη ανακάλυψη του hNTCP ως λειτουργικού υποδοχέα HBV παρείχε νέες ευκαιρίες για τη δημιουργία νέων συστημάτων μοντέλων κυτταρικής καλλιέργειας που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την κατανόηση των αποτελεσμάτων μιας φυσικής λοίμωξης από HBV.

Θα ήταν επίσης ενδιαφέρον να χρησιμοποιηθούν ποντίκια tg που εκφράζουν hNTCP για τη μελέτη της βιολογίας του HBV και την εξέταση των δραστηριοτήτων των πρωτεϊνών που κωδικοποιούνται με HBV. Ωστόσο, επί του παρόντος, τα ποντίκια hNTCP tg δεν επιτρέπουν την καθιέρωση μιας παραγωγικής λοίμωξης από HBV και είναι πιθανό ότι θα απαιτηθεί η ταυτοποίηση πρόσθετων ειδικών ειδών καθοριστικών παραγόντων της λοίμωξης από HBV πριν από την πλήρη αξιοποίηση των μικρών τροφτικών μοντέλων μόλυνσης και παθογένειας από HBV.^[182]

Αν και τα ποντίκια με εξανθρωπισμένα συκώτια και ανοσοποιητικό σύστημα παρέχουν ένα άλλο πολλά υποσχόμενο μοντέλο για τη μελέτη της μόλυνσης και της παθογένειας του HBV, η πολυπλοκότητα της δημιουργίας αυτών των μοντέλων έχει περιορίσει τη χρήση τους για τη μελέτη της βιολογίας του HBV.^[175] Σε γενικές γραμμές, οι μελέτες που στοχεύουν στη βελτίωση τρέχουσα κατανόησή μας του κύκλου HBV ζωής και τον εντοπισμό κεντρική παράγοντες που εμπλέκονται στην ανάπτυξη των HBV-σχετίζεται HCC εξακολουθούν να απαιτούνται και παραμένουν κρίσιμες για την παραγωγή των νέων θεραπευτικών να αναστέλλουν την αντιγραφή του HBV και την ανάπτυξη των HCC που σχετίζεται με HBV.

8. ΠΑΓΚΟΣΜΙΑ ΕΠΙΠΤΩΣΗ ΚΑΙ ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ Β

Η μόλυνση με HBV εμφανίζεται σε όλο τον κόσμο. Ο ΠΟΥ υπολόγισε ότι υπάρχουν περισσότερα από 2 δισεκατομμύρια μολυσμένα άτομα με HBV και περίπου 378 εκατομμύρια χρόνια φορείς παγκοσμίως. Υπάρχουν περίπου 620.000 θάνατοι που σχετίζονται με τον HBV κάθε χρόνο.

Επιπλέον, περίπου 4,5 εκατομμύρια νέες λοιμώξεις από HBV εμφανίζονται παγκοσμίως κάθε χρόνο, εκ των οποίων το ένα τέταρτο εξελίσσεται σε ηπατική νόσο. Ως αποτέλεσμα, η μόλυνση με HBV κατατάχθηκε στην 15η θέση μεταξύ όλων των αιτιών θνησιμότητας του ανθρώπου. Η παγκόσμια επιδημιολογία της λοίμωξης από HBV έχει παραδοσιακά περιγραφεί σύμφωνα με τρεις κατηγορίες ενδημικότητας - υψηλή, ενδιάμεση και χαμηλή - ανάλογα με το ποσοστό του πληθυσμού που είναι οροθετικός για HBsAg.

Χώρες με υψηλή ενδημικότητα είναι εκείνες όπου η οροεπίδραση του HBsAg είναι μεγαλύτερη ή ίση με 8 τοις εκατό, χώρες με ενδιάμεση ενδημικότητα είναι εκείνες όπου η οροεπικράτηση είναι 2-7 %. και εκείνοι με χαμηλή ενδημικότητα είναι εκείνοι όπου η οροεπαρκτικότητα είναι μικρότερη από 2 τοις εκατό. Η επιπολαστικότητα του HBsAg έχει σημειώσει γεωγραφικές παραλλαγές και ο βαθμός ενδημικότητας του HBV συσχετίζεται συχνά με τον κυρίαρχο τρόπο μετάδοσης. Σε εξαιρετικά ενδημικά περιβάλλοντα, οι περιγεννητικές και οριζόντιες (έκθεση σε χρόνια μολυσμένα μέλη του νοικοκυριού) είναι υπεύθυνες για τη μεγαλύτερη μετάδοση ασθενειών και το 70-90 τοις εκατό του ενήλικου πληθυσμού έχει ορολογικά στοιχεία προηγούμενης μόλυνσης (Geographical distribution of HBV infection High prevalence areas include: China, South East Asia, sub-Saharan Africa, parts of South America and Alaska. Intermediate prevalence areas include: parts of South America, North Africa, Eastern Europe, parts of Southern Europe, the Eastern Mediterranean area and the Indian subcontinent. Low prevalence areas include: most of North America, Australia, Northern Europe and most of Western Europe.)

Ωστόσο, το βάρος της λοίμωξης από HBV είναι γεωγραφικά διαφορετικό, εξαρτάται από τους διαφορετικούς τρόπους μετάδοσης που κυριαρχούν στον πληθυσμό και την προκύπτουσα ηλικία στη μόλυνση, η οποία καθορίζει την πιθανότητα εξέλιξης σε χρόνια λοίμωξη. Επιπλέον, η επιδημιολογία της λοίμωξης από HBV παγκοσμίως αλλάζει λόγω του αντίκτυπου των καθολικών προγραμμάτων εμβολιασμού για βρέφη και μέσω της μετανάστευσης μεταξύ υψηλών - και πληθυσμούς χαμηλού επιπολασμού.

Σε υψηλές ενδημικές περιοχές, όπως οι δημοκρατίες της κεντρικής Ασίας, η Νοτιοανατολική Ασία, η Υποσαχάρια Αφρική και η λεκάνη του Αμαζονίου, το ποσοστό μεταφορέων HBV είναι πάνω από 8%. Σε χαμηλές ενδημικές περιοχές, όπως οι Ηνωμένες Πολιτείες, η Βόρεια Ευρώπη, η Αυστραλία και περιοχές της Νότιας Αμερικής, ο επιπολασμός HBsAg είναι μικρότερος από 2%. Η Μέση Ανατολή, ορισμένες χώρες της Ανατολικής Ευρώπης και η λεκάνη της Μεσογείου θεωρούνται περιοχές ενδιάμεσης ενδημικότητας με ποσοστό μεταφορέα μεταξύ 2% και 8%.^[253]

Σε πολλές χώρες, μετά την εισαγωγή μαζικών εκστρατειών ανοσοποίησης, ο επιπολασμός του HBV άλλαξε σημαντικά, με αποτέλεσμα τη μείωση του ποσοστού φορέα HBsAg και τη συχνότητα εμφάνισης HCC.^[2] Εκτιμήθηκε ότι ο καρκίνος του ήπατος αντιπροσωπεύει περίπου το 4% όλων των νέων περιπτώσεων καρκίνου που διαγιγνώσκονται παγκοσμίως και ότι περισσότερο από το 50% των καρκίνων του ήπατος αποδίδονται στον HBV.

Το υψηλότερο ποσοστό συχνότητας προσαρμοσμένης ηλικίας (> 20 ανά 100 000) αναφέρθηκε από χώρες της Νοτιοανατολικής Ασίας και της Υποσαχάριας Αφρικής που είναι ενδημικές για λοίμωξη από HBV. Έως το 90% των βρεφών που έχουν μολυνθεί κατά το πρώτο έτος της ζωής τους και το 30% -50% των παιδιών που έχουν μολυνθεί μεταξύ ενός και τεσσάρων ετών αναπτύσσουν χρόνιες λοιμώξεις και περίπου το 25% των ενηλίκων που μολύνονται χρόνια κατά την παιδική ηλικία πεθαίνουν από συκώτι που σχετίζεται με τον HBV καρκίνο ή κίρρωση.^[254]

Ο HBV εξακολουθεί να είναι ο κύριος παράγοντας κινδύνου HCC σε όλο τον κόσμο, αν και η σημασία της θα συνεχίσουν να μειώνονται κατά τις επόμενες δεκαετίες λόγω της ευρείας χρήσης του εμβολίου ηπατίτιδας Β σε νεογνά.^[255]

Τα τελευταία χρόνια, όλο και περισσότερα δεδομένα έχουν παραχθεί σε αναπτυσσόμενες χώρες και περιοχές με υψηλή/ενδιάμεση ενδημικότητα, όπου η πιο κοινή οδός μόλυνσης εξακολουθεί να είναι η κάθετη μετάδοση από τη μητέρα στο παιδί και η οριζόντια μετάδοση μεταξύ των παιδιών, ιδιαίτερα των αδελφών.^[256, 257 - 258]

Σε παγκόσμιο επίπεδο, η περιγεννητική μετάδοση HBV αντιπροσωπεύει περίπου το 21% των θανάτων που σχετίζονται με τον HBV, ενώ περιφερειακά κυμαίνεται από 13% στην περιοχή της Ανατολικής Μεσογείου έως 26% στην περιοχή του Δυτικού Ειρηνικού. Πρόσφατες μελέτες στην Αφρική επιβεβαιώνουν τη σχετικά υψηλή ορολογία του HBsAg σε έγκυες γυναίκες, ανεξαρτήτως ηλικίας, ισοτιμίας, ηλικίας κύησης, κατοικίας, ιστορικού μετάγγισης αίματος, οδοντιατρικών χειρισμών, τατουάζ και περιτομής.^[259]

Η μητρική-νεογνική μετάδοση μελετήθηκε στη Λιβύη όπου η θετικότητα του HBsAg ήταν 1,5% και η μετάδοση 60,9% και στη Γκάνα με επιπολασμό HBsAg 16% αλλά μητρο-εμβρυϊκή μετάδοση μόνο στο 8,4% των νεογνών.^[260, 261]

Σε υψηλές ενδημικές περιοχές, άλλες σημαντικές λειτουργίες της ανησυχίας μετάδοσης HBV ορισμένες ομάδες υψηλού κινδύνου όπως οι εργαζόμενοι υγειονομικής περίθαλψης (HCWs),^[262-263] αλλά επίσης και σεξουαλικές επαφές^[263] και ενδοφλέβια χρήση ναρκωτικών.^[264-265] Οι κυρίαρχοι τρόποι μόλυνσης σε περιοχές χαμηλής ενδημικότητας παίζουν ρόλο. Παρεντερική ή διαδερμική διαδρομές του HBV μετάδοσης, όπως τραυματισμού από τρύπημα βελόνης και βλέννα μεμβράνης βουτιά σε νοσηλευτικό προσωπικό, καθώς και τατουάζ, διατήρηση, μοιράζονται ξυράφια ή οδοντόβουρτσες, είναι επίσης σημαντικές στη διάδοση του ιού.^[266 -267]

Η χειρουργική επέμβαση και η οδοντιατρική περίθαλψη μπορεί να είναι πηγή μόλυνσης. λοιμώξεις που συνδέεται με μετάγγιση έχουν σήμερα γίνει πολύ σπάνιο στις αναπτυγμένες χώρες, χάρη στη βελτιωμένη ορολογικές και εξελίξεις στη μοριακή αίμα διαλογής, αλλά μπορεί να είναι μια σημαντική πηγή της μόλυνσης στις πιο φτωχές χώρες.^[268 - 269]

Ο επιπολασμός της λοίμωξης σε HCWs, μια ομάδα υψηλού κινδύνου για τη μόλυνση από παθογόνα που γεννήθηκαν στο αίμα λόγω επαγγελματικής επαφής με μολυσμένα σωματικά υγρά, εξαρτάται από τον επιπολασμό του HBV στο γενικό πληθυσμό. Στην Ινδία, μια ενδιάμεση ενδημική ζώνη όπου το εκτιμώμενο ποσοστό επιπολασμού του HBV στον υγιή γενικό πληθυσμό είναι περίπου 4,7%, μια πρόσφατη μελέτη έδειξε θετικότητα HBsAg 5% σε HCW, αλλά υψηλότερη οροθετικότητα περίπου 40% μεταξύ των τεχνικών εργαστηρίου.^[270]

Στην Ταϊβάν, μεταξύ των HCW που εκτέθηκαν σε ασθενείς υψηλού κινδύνου, σχεδόν το 16% είχε HBV.^[271] Στη βορειοδυτική Τουρκία μεταξύ 2002 και 2003, ο επαγγελματικός κίνδυνος έκθεσης στον HBV αξιολογήθηκε μεταξύ 595 νοσηλευτών. Συνολικά, το 18,7% είχε εκτεθεί σε λοίμωξη από HBV και το 2,7% ήταν HBsAg θετικό. Αυτό το αποτέλεσμα ήταν σύμφωνο με τα ευρήματα αρκετών άλλων μελετών, που έδειχναν ότι το επίπεδο επικράτησης της έκθεσης στον HBV μεταξύ των νοσηλευτών ήταν μεταξύ 16%-20%. Σε αυτή τη μελέτη, το 28% των νοσηλευτών που εργάζονται σε τμήματα υψηλού κινδύνου δεν εμβολιάστηκαν. Η εκπαίδευση παίζει ρόλο στην έκθεση σε λοίμωξη, με τάση μείωσης από νοσηλευτές που είχαν λάβει κανονική εκπαίδευση λυκείου ή ισοδύναμη εκπαίδευση και από εκείνους που είχαν εκπαιδευτεί με πανεπιστημιακό πρότυπο.^[272]

Οι λοιμώξεις που σχετίζονται με τη μετάγγιση αποτελούν σημαντική πηγή μετάδοσης του HBV, ειδικά στις φτωχότερες χώρες. Σε χώρες με προηγμένες ιατρικές, διαγνωστικές και εργαστηριακές υπηρεσίες, μεγάλο ποσοστό αίματος χρησιμοποιείται σε εξελιγμένες θεραπείες που απαιτούν υψηλό επίπεδο υποστήριξης μετάγγισης, όπως χημειοθεραπεία, χειρουργική επέμβαση ανοιχτής καρδιάς, μεταμόσχευση οργάνων και διαχείριση αιματολογικών διαταραχών όπως λευχαιμία, θαλασσαιμία και αιμοφιλία.

Το πρότυπο χρήσης αίματος είναι πολύ διαφορετικό σε χώρες όπου οι διαγνωστικές και θεραπευτικές επιλογές είναι πιο περιορισμένες, με πολύ μεγαλύτερο ποσοστό μεταγγίσεων να γίνονται σε γυναίκες με μαιευτικά επείγοντα περιστατικά και παιδιά που πάσχουν από σοβαρή αναιμία, που συχνά προκύπτουν από ελονοσία και υποσιτισμό. Τα δεδομένα από τον ΠΟΥ δείχνουν ότι, από τα 80 εκατομμύρια μονάδες αίματος που προσφέρονται ετησίως παγκοσμίως.^[274] Το 2007, 162 χώρες παρείχαν στοιχεία στον ΠΟΥ για 85,4 εκατομμύρια αιμοδοσίες.

Τα δεδομένα προέρχονται από χώρες που αντιπροσωπεύουν συνολικά 5,9 δισεκατομμύρια ανθρώπους, που αντιπροσωπεύουν το 92% του παγκόσμιου πληθυσμού. Περίπου το ένα τέταρτο των χωρών δεν είναι σε θέση να ελέγξουν όλες τις αιμοδοσίες για μία ή περισσότερες από τις μεταδοτικές μεταγγίσεις μολύνσεις, συμπεριλαμβανομένου του HIV, της ηπατίτιδας B, της ηπατίτιδας C και της σύφιλης. μόνο το 48% των αιμοδοσιών στις αναπτυσσόμενες χώρες ελέγχονται σύμφωνα με βασικές διαδικασίες διασφάλισης ποιότητας. μόνο το 25% των νοσοκομείων που κάνουν μετάγγιση στις αναπτυσσόμενες χώρες και το 33% των νοσοκομείων στις μεταβατικές χώρες έχουν επιτροπή μετάγγισης για την παρακολούθηση των πρακτικών μετάγγισης, έναντι 88% των νοσοκομείων στις ανεπτυγμένες χώρες.^[274]

Στην υποσαχάρια Αφρική, ο κίνδυνος μεταδοτικών λοιμώξεων θεωρείται σημαντικός λόγω του υψηλού επιπολασμού αυτών των λοιμώξεων, της συχνής χρήσης πληρωμένων ή αντικαταστατών δωρητών και της ελλιπούς κάλυψης ελέγχου.^[275] Στις περισσότερες χώρες της Λατινικής Αμερικής και της Ασίας, το αίμα και τα προϊόντα αίματος ελέγχονται τακτικά για HBsAg.

Για παράδειγμα, στη Βραζιλία όπου ο έλεγχος αίματος έγινε υποχρεωτικός το 1993, ο επιπολασμός του HBsAg μειώθηκε σημαντικά από 0,36% το 1998 σε 0,14% το 2005 λόγω του καλύτερου ελέγχου των αιμοδοτών και του μειωμένου ποσοστού μόλυνσης στον γενικό πληθυσμό.^[276]

Στην πλειοψηφία των χωρών της Λατινικής Αμερικής όπου η ενδημικότητα είναι ενδιάμεση/χαμηλή, η σεξουαλική επαφή θεωρείται ότι είναι η πιο κοινή οδός μετάδοσης της λοίμωξης από τον HBV. Στη Βραζιλία, μια μελέτη από τη Βικτώρια έδειξε επιπολασμό HBV 3,8% σε ασθενείς με HIV, ενώ σε άλλα περιβάλλοντα τα ποσοστά επιπολασμού κυμάνθηκαν από 5,7% έως 24,3%. Ενώ η χρόνια λοίμωξη από HBV στο πλαίσιο του HIV/AIDS δεν θεωρείται ευκαιριακή λοίμωξη, είναι μια κοινή συνυπάρχουσα λοίμωξη που παρατηρείται σε άτομα που έχουν μολυνθεί από τον HIV λόγω των κοινών τρόπων μετάδοσης.^[277]

Η χρήση ναρκωτικών είναι μια άλλη σημαντική οδός μετάδοσης του HBV. Στη Λατινική Αμερική, σε περιοχές χαμηλής ενδημικότητας, η ενέσιμη μετάδοση ιών ηπατίτιδας που σχετίζεται με τα ναρκωτικά είναι ένα σημαντικό πρόβλημα μεταξύ νέων, μολυσμένων με HIV και ετεροφυλόφιλων ατόμων, ακόμη και αν η χρήση παρεντερικών φαρμάκων δεν είναι συνηθισμένη σε αυτές τις περιοχές.^[278]

Η λοίμωξη από τον ιό της ηπατίτιδας B (HBV) είναι βαρύ φορτίο στις περισσότερες αναπτυσσόμενες χώρες λόγω της ευρείας εξάπλωσής της, ιδιαίτερα στις αγροτικές περιοχές και του υψηλού κόστους πρόληψης, διαχείρισης και θεραπείας.

Ως εκ τούτου, πρέπει να καταβληθεί μεγαλύτερη προσπάθεια για την εφαρμογή προγραμμάτων καθολικού εμβολιασμού, καθώς έχουν αποδειχθεί ότι είναι αποτελεσματικά στη μείωση της συχνότητας εμφάνισης οξείας ηπατίτιδας B και του επιπολασμού χρόνιων φορέων επιφανειακού αντιγόνου ηπατίτιδας B.

Σε αρκετές χώρες χαμηλού εισοδήματος, είναι επιθυμητή η βελτίωση της τρέχουσας γνώσης της επιδημιολογίας HBV, της μοριακής επιδημιολογίας, της αντιγραφής του HBV και της συν-μόλυνσης με άλλους ιούς όπως ο ιός της ηπατίτιδας C και ο ιός της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας.

Ενώ τα εμβόλια για την ηπατίτιδα B είναι διαθέσιμα, η περιορισμένη πρόσβαση στην υγειονομική περίθαλψη και η έλλειψη κατάλληλης εκπαίδευσης στον τομέα της υγείας συμβάλλει στην αύξηση του παγκόσμιου επιπολασμού της ηπατίτιδας B.

Επίσης η αντική θεραπεία μπορεί να αποδειχθεί αποτελεσματική περίπου στο 1/3 των ασθενών που τη λαμβάνουν και σε μερικές περιπτώσεις η μεταμόσχευση ήπατος προς το παρόν μοιάζει να είναι η μόνη αποδεκτή θεραπεία των τελευταίων σταδίων ανάπτυξης της νόσου.

Η χαμηλότερη συχνότητα εμφάνισης ηπατίτιδας Β στις Ηνωμένες Πολιτείες σε σύγκριση με την Ασία και την Αφρική οφείλεται στην καλύτερη πρόσβαση στην υγειονομική περίθαλψη και στην καλύτερη χρήση εμβολιασμών και άλλων προληπτικών μέτρων.

9. ΓΟΝΟΤΥΠΟΙ ΤΟΥ ΙΟΥ ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ Β

Έχουν αναγνωριστεί οκτώ γονότυποι του HBV παγκοσμίως. Κατά την αλληλουχία ολόκληρου του γονιδιώματος του ιού, αυτοί οι γονότυποι διαφέρουν μεταξύ τους κατά περισσότερο από 8%.^[279-283] Επιπλέον, έχουν εντοπιστεί και συνεχίζουν να εντοπίζονται πολλαπλοί υπογονότυποι, οι οποίοι διαφέρουν μεταξύ τους κατά 4-8%.

Οι γονότυποι HBV που έχουν προσδιοριστεί μέχρι σήμερα είναι οι A, B, C, D, E, F, G και H. Οι υπογονότυποι για κάθε γονότυπο έχουν επισημανθεί με τη χρήση της ονοματολογίας 1, 2, 3 κ.λπ. Ο γονότυπος A χωρίζεται σε A1, βρέθηκαν στην υποσαχάρια Αφρική, A2, στη Βόρεια Ευρώπη και A3 στη Δυτική Αφρική. Οι υπογονότυποι του γονότυπου B του HBV έχουν χωριστεί σε δύο μεγάλες ομάδες: εκείνες που βρέθηκαν να είναι «καθαροί» γονότυποι B, συμπεριλαμβανομένου του B1 (παλαιότερα ονομαζόταν Bj ή B Ιαπωνία) και B6, και εκείνων των υπογονότυπων που έχουν ανασυνδυασμό μέρους της βασικής περιοχής του Ο γονότυπος C του HBV στην περιοχή του πυρήνα του γονότυπου B συμπεριλαμβανομένων των B2, B3, B4 και B5 (παλαιότερα ονομαζόταν Ba ή B Ασία). Ο γονότυπος B1 βρίσκεται στην Ιαπωνία, ο B2-5 βρίσκεται στην Ανατολική Ασία και ο B6, ο νεότερος προσδιορισμένος γονότυπος B, βρίσκεται σε αυτόχθονες πληθυσμούς που ζουν στην Αρκτική. Ο γονότυπος C χωρίζεται σε C1, C2 και C3 και βρίσκεται στην Κίνα, την Κορέα, τη Νοτιοανατολική Ασία και σε αρκετές χώρες του νησιού του Νότιου Ειρηνικού. Ο γονότυπος D είναι ευρέως διαδεδομένος σε όλη την Ανατολική Ευρώπη, την περιοχή της Μεσογείου, συμπεριλαμβανομένης της Βόρειας Αφρικής, της Ρωσίας, της Μέσης Ανατολής, της ινδικής υποήπειρου και σε όλη την Αρκτική. Ο γονότυπος E βρίσκεται στη Δυτική Αφρική. Ο γονότυπος HBV G έχει βρεθεί μόνο σε μικρές περιοχές του κόσμου, στις Ηνωμένες Πολιτείες, το Βιετνάμ και τη Νότια Ευρώπη και εμφανίζεται κυρίως ως συν -μόλυνση με έναν άλλο γονότυπο HBV, συνηθέστερα γονότυπο A. Οι γονότυποι F και H Γονότυπα «Νέος Κόσμος» που βρέθηκαν σε αυτόχθονες πληθυσμούς στην Αλάσκα και την Κεντρική και Νότια Αμερική. Ο γονότυπος F χωρίζεται σε 4 υπογονότυπους: F1 – F4.^[284]

Υπάρχει μια ευρεία και εξαιρετικά στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ ορολογικών υποτύπων και γονότυπων, και σε ορισμένες περιπτώσεις, ορολογικοί υπότυποι μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη διαφοροποίηση των υπογονότυπων. Οι γονότυποι, και ορισμένοι υπογονότυποι, έχουν ξεχωριστές γεωγραφικές κατανομές και είναι σημαντικοί τόσο στην κλινική εκδήλωση της λοίμωξης όσο και στην ανταπόκριση στην αντική θεραπεία.

Τρία κύρια πρότυπα μετάδοσης του HBV έχουν παρατηρηθεί. Κάθε πρότυπο σχετίζεται με διαφορετικό κίνδυνο ανάπτυξης χρόνιας λοίμωξης από HBV. Η περιγεννητική λοίμωξη, η οποία συνήθως συμβαίνει κατά τη στιγμή του τοκετού, παρατηρείται κυρίως στην Ανατολική και Νοτιοανατολική Ασία. Ο κίνδυνος περιγεννητικής μετάδοσης του HBV είναι υψηλότερος όταν η μητέρα του βρέφους είναι επιφανειακό αντιγόνο ηπατίτιδας B (HBsAg) θετικό και αντιγόνο «ε» ηπατίτιδας B (HBeAg). Όταν η μητέρα είναι θετική στο HBeAg, τα βρέφη που έχουν μολυνθεί κατά τη γέννηση έχουν σχεδόν 100% κίνδυνο να αποκτήσουν HBV και 90% κίνδυνο να αναπτύξουν χρόνια λοίμωξη από HBV εάν δεν χορηγηθούν εμβόλια κατά της ηπατίτιδας B και ανοσοσφαιρίνη ηπατίτιδας B αμέσως μετά τη γέννηση.^[285, 286]

Αντίθετα, όταν η μητέρα είναι HBeAg αρνητική και αντίσωμα HBeAg (anti-HBe) θετικό, το βρέφος έχει λιγότερο από 25% κίνδυνο να αποκτήσει HBV και μόνο 10-15% να μολυνθεί χρόνια.^[287] Τα παιδιά σε περιοχές όπου ο HBV είναι ενδημικός μπορεί να μολυνθούν από ακούσια οριζόντια μετάδοση του HBV που πιστεύεται ότι συμβαίνει μέσω ανοιχτών κοπών και γρατζουνιών. Ο κίνδυνος ανάπτυξης χρόνιας λοίμωξης από HBV μετά από οριζόντια μετάδοση είναι μεταξύ 30% και 50% για παιδιά που έχουν μολυνθεί μεταξύ γέννησης και 5 ετών, αλλά μόνο 7-10% στη συνέχεια.^[287, 288]

Ένας τρίτος τρόπος μετάδοσης εμφανίζεται επίσης οριζόντια είτε με σεξουαλική μετάδοση είτε με βελόνα. το τελευταίο από παράνομη χρήση ναρκωτικών ή εμβολιασμούς από ανεπαρκώς αποστειρωμένες βελόνες και μόλυνση από ιατρικές διαδικασίες στις οποίες δεν έχουν πραγματοποιηθεί ανεπαρκείς προφυλάξεις για την πρόληψη της μετάδοσης των αιμοφόρων ασθενειών.^[289] Ο κίνδυνος χρόνιας μόλυνσης σε αυτές τις συνθήκες πιστεύεται ότι είναι περίπου 10%.^[290, 291]

Δεν είναι σαφές γιατί η κάθετη μετάδοση είναι κοινή σε ορισμένες περιοχές του κόσμου, όπως η Ασία και η οριζόντια μετάδοση στα παιδιά είναι ο κυρίαρχος τρόπος σε άλλα μέρη του κόσμου, όπως η περιοχή της Μεσογείου, η Ανατολική Ευρώπη, η Αλάσκα και η υποσαχάρια Αφρική. Η ηλικία κατά την οποία εμφανίζεται ορομετατροπή από HBeAg σε anti-HBe σε μολυσμένα άτομα φαίνεται να είναι καθοριστικός παράγοντας για το εάν ο HBV μεταδίδεται κατά ή μετά τη γέννηση.

Όταν τα άτομα είναι θετικά στο HBeAg, έχουν πολύ υψηλά επίπεδα HBV DNA, από 10^5 έως 10^{10} αντίγραφα/ml στους ορούς τους, ενώ μετά την ορομετατροπή του HBeAg, τα επίπεδα του HBV DNA μπορεί να πέσουν κάτω από τα 10^4 αντίγραφα/ml στους ορούς των περισσότερων ατόμων. Εάν η ορομετατροπή HBV εμφανιστεί νωρίς στη ζωή μιας

γυναίκας, οι πιθανότητες περιγεννητικής μετάδοσης μειώνονται δραματικά. Έχει αποδειχθεί ότι τουλάχιστον το 50% των γυναικών στην Ανατολική και Νοτιοανατολική Ασία, όπου η περιγεννητική μετάδοση είναι συχνή, είναι HBeAg θετικές κατά τον τοκετό σε σύγκριση με λιγότερο από 15% στην Αφρική και τη νοτιοδυτική Αλάσκα, όπου η περιγεννητική μετάδοση είναι ασυνήθιστη.^[292-296] Μια πρόσφατη μελέτη από την Αλάσκα, όπου υπάρχουν πέντε από τους οκτώ γονότυπους HBV, έχει ρίξει φως σε αυτό το μυστήριο.

Ενώ η οριζόντια μετάδοση του HBV στην πρώιμη παιδική ηλικία είναι κοινή στη νοτιοδυτική Αλάσκα, η περιγεννητική μετάδοση είναι συχνή στη βορειοδυτική Αλάσκα. Και στις δύο περιοχές, ο πληθυσμός απαρτίζεται από ιθαγενείς λαούς Αλάσκα Εσκιμώων (Yupik και Inupiat). Ο γονότυπος C είναι ο κυρίαρχος γονότυπος στη βορειοδυτική Αλάσκα και οι γονότυποι A2, B6, D και F1 είναι οι κυρίαρχοι γονότυποι στη νοτιοδυτική Αλάσκα, όπου ο γονότυπος C είναι σπάνιος. Σε αυτόν τον πληθυσμό, η δοκιμή για HBeAg και anti-HBe πραγματοποιήθηκε τουλάχιστον μία φορά ετησίως για 21 χρόνια και ο έλεγχος γονότυπου HBV πραγματοποιήθηκε στη συνέχεια σε 1.158 από 1.560 άτομα με χρόνια λοίμωξη HBsAg.

Τα αποτελέσματα χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό της ηλικίας στην οποία επήλθε η ορομετατροπή HBeAg.

Η ηλικία κατά την οποία το 50% των θετικών ατόμων με HBeAg καθάρισαν το HBeAg ήταν μικρότερη των 20 ετών για τους μολυσμένους με γονότυπους A2, B6, D και F1, αλλά περίπου 3 δεκαετίες αργότερα για εκείνους που μολύνθηκαν με γονότυπο C.^[298] Αυτό δείχνει ότι οι περισσότερες γυναίκες που έχουν μολυνθεί με γονότυπο C πιθανότατα θα είναι θετικές στο HBeAg καθ' όλη τη διάρκεια της αναπαραγωγικής τους ηλικίας, ενώ οι γυναίκες που έχουν προσβληθεί από τους άλλους γονότυπους είναι πιθανό να είναι θετικές κατά του HBe. Αυτό υποδηλώνει ότι σε εκείνες τις περιοχές του κόσμου όπου η περιγεννητική μετάδοση παίζει σημαντικό ρόλο στη μετάδοση του HBV, ο γονότυπος C είναι πιθανό να κυριαρχεί.

Οι γονότυποι / υπογονότυποι του HBV και η γενετική μεταβλητότητα του HBV είναι χρήσιμα σε επιδημιολογικές μελέτες και μελέτες μετάδοσης, ανίχνευση μεταναστεύσεων στον άνθρωπο και στην πρόβλεψη του κινδύνου για ανάπτυξη σοβαρής ηπατικής νόσου και απόκριση σε αντιική θεραπεία. Επιπλέον, η γνώση του γονότυπου / υπογονότυπου είναι σημαντική για την εφαρμογή προληπτικών στρατηγικών. Έτσι, είναι σημαντικό τα νέα στελέχη να αντιστοιχίζονται σωστά στον αντίστοιχο γονότυπο / υπογονότυπο και να χρησιμοποιείται συνεπής, ξεκάθαρη και γενικά αποδεκτή ονοματολογία.

Η μόλυνση με συγκεκριμένους γονότυπους HBV μπορεί να έχει αντίκτυπο στην κλινική πορεία της λοίμωξης, την ανάπτυξη προχωρημένης ηπατικής νόσου και την ανταπόκριση στην αντιική θεραπεία. Ο γονότυπος D έχει αναφερθεί με υψηλότερο επιπολασμό σε ασθενείς που παρουσιάζουν ALF που σχετίζεται με οξεία λοίμωξη από HBV. Αρκετές μελέτες σε πληθυσμούς κυρίως Ασίας έχουν αναφέρει αυξημένο κίνδυνο HCC σε ασθενείς που έχουν προσβληθεί από γονότυπο C και πιθανώς υπογονότυπο Cε. Σε ιθαγενείς της Αλάσκα, ένας πληθυσμός που είναι γνωστό ότι έχει πολύ υψηλό επιπολασμό χρόνιας λοίμωξης από HBV, η μόλυνση του γονότυπου C συσχετίστηκε με καθυστερημένη έναρξη αυθόρμητης οροκάθαρσης HBeAg και αυξημένα ποσοστά κάθετης μετάδοσης.^[299]

Μελέτες από την Ασία διαπίστωσαν ότι ο γονότυπος B του HBV σχετίζεται με ορομετατροπή HBeAg σε νεότερη ηλικία, πιο παρατεταμένη ύφεση μετά από ορομετατροπή HBeAg, λιγότερο ενεργή ηπατική φλεγμονή, βραδύτερο ρυθμό εξέλιξης σε κίρρωση και χαμηλότερο ποσοστό ανάπτυξης HCC σε σύγκριση με τον γονότυπο C.^[300-302]

Η σχέση μεταξύ άλλων γονοτύπων του HBV και την εξέλιξη της ηπατικής νόσου είναι ασαφής. Αρκετές μελέτες του προτύπου ιντερφερόνης-άλφα (IPN-α) και μία μελέτη πολυαιθυλενογλυκολιωμένης IFN-άλφα (pegIFN-α) θεραπείας έδειξε ότι γονότυποι A και B συνδέθηκαν με υψηλότερα ποσοστά ορομετατροπής HBeAg σε σύγκριση με γονότυπους C και D.^[303-305]

Παράγοντες όπως η παράταση του διαστήματος μέχρι την απομάκρυνση του ανοσοποιητικού και η αυξημένη συχνότητα επανενεργοποίησης μπορεί συμβάλλουν στον αυξημένο κίνδυνο κίρρωσης και HCC που σχετίζονται με αυτόν τον πληθυσμό*. Ο γονότυπος A έχει συσχετιστεί με αυξημένη αποτελεσματικότητα της θεραπείας με ιντερφερόνη (INF) με άλφα με υψηλότερες δυνατότητες επίτευξης κάθαρσης των HBeAg και HBsAg, ενώ ο γονότυπος C μπορεί να είναι λιγότερο ανταποκρινόμενος στην INF. Ο γονότυπος A έχει επίσης συσχετιστεί με υψηλότερη αποτελεσματικότητα στο πλαίσιο της στοματικής θεραπείας με νουκλεοτίδια με βάση τα ποσοστά κάθαρσης και ορομετατροπής του HBeAg με θεραπεία με τενοφοβίρη.^[306]

Μια μεγάλη μελέτη ενός δείγματος ευκολίας 375 Βιετναμέζων, 38 Ευρωπαίων και 47 Αφρικανών προσβεβλημένων από HBV διαπίστωσε πρόσμιξη γονότυπου HBV στο 29,8% των Αφρικανών, στο 15,7% των Ασιατών και στο 13,2% των Ευρωπαίων.^[307] Μεταξύ των ασιατικών ασθενών από το Βιετνάμ, βρέθηκαν σημαντικά υψηλότερες

συσχετίσεις μεταξύ μικτών λοιμώξεων γονότυπου και οξείας ηπατίτιδας Β, κίρρωσης του ήπατος και HCC. Ωστόσο, υπήρχαν 15 διαφορετικές αναμίξεις (A/C, A/D, A/G, C/D, C/G και D/G, και 9 άλλες), καθιστώντας αδύνατο τον προσδιορισμό των συγκεκριμένων συνδυασμών, εάν υπάρχουν, σχετίζονται με πιο σοβαρή ηπατική νόσο.

10. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΓΟΝΟΤΥΠΩΝ/ ΥΠΟΓΟΝΟΤΥΠΩΝ ΣΤΗ ΦΥΣΙΚΗ ΙΣΤΟΡΙΑ ΤΗΣ ΜΟΛΥΝΣΗΣ ΑΠΟ ΤΟΝ HBV ΚΑΙ ΤΗΣ ΑΠΟΚΡΙΣΗΣ ΣΤΗΝ ΑΝΤΙΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Οι γονότυποι του HBV μπορεί να είναι υπεύθυνοι για τις διαφορές στο φυσικό ιστορικό της χρόνιας λοίμωξης από τον HBV,^[307] και επομένως παίζουν ρόλο στην κλινική εκδήλωση της λοίμωξης και της απόκρισης στην αντιική θεραπεία.^[308, 310]

Οι ασθενείς που έχουν μολυνθεί με γονότυπους A, B, D και F εμφανίζουν νωρίτερη και συχνότερη αυθόρμητη ορομετατροπή HBeAg σε σύγκριση με εκείνους που έχουν μολυνθεί με γονότυπο C, ανεξάρτητα από την εθνικότητα.^[311, 312]

Οι ασθενείς που έχουν μολυνθεί με γονότυπο E έχουν υψηλότερη συχνότητα θετικής HBeAg και υψηλότερα ιικά φορτία σε σύγκριση με ασθενείς που έχουν μολυνθεί με γονότυπο D.^[313] Άτομα που έχουν μολυνθεί με υπογονότυπο A1 χάνουν HBeAg πολύ νωρίτερα από εκείνα που έχουν μολυνθεί με υπογονότυπο A2.^[314]

Παρόλο που το HBeAg δεν απαιτείται για αντιγραφή ιού, έχει αποδειχθεί ότι δρα ως ανοσογόνο ανοσογόνο^[315] και ότι παίζει ρόλο στη μετάδοση του HBV, την εμμονή του ιού και την εμφάνιση χρόνιας ηπατίτιδας B.^[316]

Μια βασική απαίτηση για οξεία λοίμωξη HBV να γίνει χρόνια είναι η έκφραση του HBeAg.^[317, 318]

Σε γεωγραφικές περιοχές με πρώιμη ορομετατροπή HBeAg, η περιγεννητική μετάδοση HBV είναι σπάνια επειδή λίγες γυναίκες είναι θετικές στο HBeAg κατά τη διάρκεια της αναπαραγωγικής τους φάσης.^[319,320] Έτσι, η περιγεννητική μετάδοση είναι συχνή σε περιοχές όπου κυριαρχούν οι γονότυποι C και I.

Η μετάδοση του HBV συμβαίνει σε υψηλότερο ποσοστό παιδιών που γεννιούνται από μητέρες που έχουν μολυνθεί από γονότυπο C από ότι οι μητέρες που έχουν μολυνθεί από γονότυπο B.^[321]

Γονότυποι / υπογονότυποι HBV A1, C, B2-B4, F1, και ίσως D παρουσιάζουν υψηλότερο κίνδυνο σοβαρών επιπλοκών της λοίμωξης από HBV, συμπεριλαμβανομένης της κίρρωσης και της ανάπτυξης HCC, σε σύγκριση με τους A2, B1 και B5.^[322]

Οι λοιμώξεις του γονότυπου C έχουν αυξηθεί και προηγούνται οι κίνδυνοι ηπατικής φλεγμονής, ίνωσης του ήπατος, κίρρωσης και HCC από αυτούς που έχουν μολυνθεί με άλλους γονότυπους.^[323]

Οι υπογονότυποι του B, με ανασυνδυασμό του γονότυπου C, προκαλούν επίσης σοβαρότερη ηπατική νόσο σε σύγκριση με τους υπογονότυπους του B χωρίς ανασυνδυασμό. Ο κίνδυνος νότιων Αφρικανών που έχουν μολυνθεί από υπογονότυπο A1 να αναπτύξουν HCC είναι 4,5 φορές μεγαλύτερος από τους ασθενείς που έχουν μολυνθεί με άλλους γονότυπους και αναπτύσσουν HCC 6,5 χρόνια νωρίτερα.^[324]

Μια παρόμοια συσχέτιση του υπογονότυπου A1 με το HCC και η ανάπτυξή του σε νεαρή ηλικία βρίσκεται επίσης στους νότιους Ινδούς.^[325] Ο υπογονότυπος A2 είναι καλά προσαρμοσμένος στη σεξουαλική μετάδοση και μπορεί να προκαλέσει χρόνια λοίμωξη σε ενήλικες.^[326]

Στην Ινδία, ο υπογονότυπος D1 σχετίζεται σημαντικά με χρόνια ηπατική νόσο και D3 με απόκρυφη HBV λοίμωξη.^[327] Οι Αλάσκα που έχουν μολυνθεί με γονότυπο C ή F είναι πιο πιθανό να επανέλθουν σε θετική HBeAg και συνεπώς διατρέχουν μεγαλύτερο κίνδυνο ανάπτυξης σοβαρής ηπατικής νόσου από εκείνες που έχουν μολυνθεί με γονότυπους A, B και Δ.^[328] Στο Σουδάν, ο γονότυπος E κυριαρχεί στους ασυμπτωματικούς δότες αίματος,^[329] ενώ ο γονότυπος D κυριαρχεί σε ασθενείς με ηπατική νόσο.^[330]

Η απόκρυψη HBV λοίμωξη, που χαρακτηρίζεται από χαμηλό ιικό φορτίο, είναι συχνή σε ασθενείς που έχουν μολυνθεί με γονότυπο H και η ανάπτυξη HCC είναι σπάνια.^[331]

Οι ασθενείς που έχουν μολυνθεί με γονότυπο A ή B ανταποκρίνονται καλύτερα στη θεραπεία με ιντερφερόνη σε σύγκριση με τους ασθενείς που έχουν μολυνθεί είτε με γονότυπο Γ είτε με D (αναθεωρούνται στο^[332]).

Δεν έχει βρεθεί σημαντική διαφορά στην απόκριση των διαφορετικών γονότυπων / υπογονότυπων στους πυρήνες (t) αναλογική θεραπεία.^[333]

Ο ρόλος των γονότυπων HBV στην κλινική εκδήλωση της νόσου μετά από μόλυνση από HBV μπορεί να σχετίζεται με την ανάπτυξη συγκεκριμένων μεταλλάξεων στην περιοχή BCP / PC καθώς και με διαγραφές στην περιοχή preS του γονιδιώματος.

Ο γονότυπος Γ έχει μεγαλύτερη τάση να αναπτύσσει μεταλλάξεις σε σύγκριση με τον γονότυπο B.^[334] Για παράδειγμα, τα άτομα που είχαν μολυνθεί με B5 (προηγουμένως B6) δεν ανέπτυξαν HCC, το οποίο μπορεί να σχετίζεται με το γεγονός ότι οι μεταλλάξεις BCP / PC και οι προ-διαγραφές δεν αναπτύσσονται σε αυτόν τον υπογονότυπο, ενώ ήταν συχνές στον γονότυπο F, γεγονός που οδήγησε στην ανάπτυξη HCC σε μολυσμένα άτομα.^[335]

Μια συζήτηση για την ανάπτυξη αυτών των μεταλλάξεων είναι πέρα από το πεδίο της παρούσας αναθεώρησης και ο αναγνώστης αναφέρεται στα ακόλουθα έγγραφα και παραπομπές που αναφέρονται σε αυτό.^[336]

Ορισμένες μελέτες έχουν δείξει ότι οι γονότυποι / υπογονότυποι του HBV είναι σημαντικοί τόσο στην κλινική εκδήλωση της λοίμωξης όσο και στην απόκριση στην αντιική θεραπεία.

Οι γονότυποι / υπογονότυποι του HBV και η γενετική μεταβλητότητα του HBV είναι χρήσιμα σε επιδημιολογικές μελέτες, στην ανίχνευση μεταναστεύσεων στον άνθρωπο και στην πρόβλεψη του κινδύνου ανάπτυξης σοβαρής ηπατικής νόσου και απόκρισης σε αντιική θεραπεία. Επιπλέον, η γνώση του γονότυπου / υπογονότυπου είναι σημαντική για την εφαρμογή προληπτικών στρατηγικών.

Έτσι, είναι σημαντικό τα νέα στελέχη να αντιστοιχίζονται σωστά στον αντίστοιχο γονότυπο / υπογονότυπο και να χρησιμοποιείται μια συνεπής, σαφής και γενικά αποδεκτή ονοματολογία. Με την εκθετική αύξηση του αριθμού των ακολουθιών που δημοσιεύονται σε δημόσιες βάσεις δεδομένων, έχουν περιγραφεί και διορθωθεί εσφαλμένες ταξινομήσεις σε ορισμένες περιπτώσεις.^[337,338,339]

Κατά την πρόταση ενός νέου γονότυπου ή υπογονότυπου πρέπει να ακολουθείται ένα σύνολο ελάχιστων κριτηρίων:

- (1) Ορισμένες ακολουθίες πλήρων γονιδιωμάτων με το σωστό μήκος, για τον αντίστοιχο γονότυπο / υπογονότυπο είναι απαραίτητες^[340] η κλινική σημασία και η
- (2) επιδημιολογία ενός γονότυπου / υπογονότυπου είναι αδύνατο να προσδιοριστεί από ένα μόνο στέλεχος μεμονωμένα στελέχη θα πρέπει να οριστούν ως υποτιθέμενος γονότυπος / υπογονότυπος έως ότου γίνουν διαθέσιμα πρόσθετα στελέχη
- (3) Απόκλιση νουκλεοτιδίων τουλάχιστον 7,5% για διαχωρισμό στελεχών σε γονότυπους^[341]
- (4) Απόκλιση νουκλεοτιδίων μεταξύ περίπου 4 και 7,5%, μονοφυτική ομαδοποίηση και καλή στήριξη εκκίνησης για διαχωρισμό υπογονότυπων^[342]
- (5) Διακριτός γεωγραφικός διαχωρισμός (D1 έναντι D2) ή / και διαφορετικοί ορολογικοί υπότυποι (D1 έναντι D2, και I1 έναντι I2), μονοφυτική ομαδοποίηση και καλή υποστήριξη εκκίνησης, για διαχωρισμό υπογονότυπων, όταν η απόκλιση νουκλεοτιδίων είναι <4%

- (6) Για όσο το δυνατόν περισσότερες διαθέσιμες ακολουθίες, αντί για μερικές αντιπροσωπευτικές, πρέπει να χρησιμοποιηθούν για σύγκριση, προκειμένου να γίνει η ανάλυση ισχυρή. η χρήση πολύ λίγων ακολουθιών μπορεί να οδηγήσει σε εσφαλμένες ταξινομήσεις
- (7) Οι ακολουθίες που επιλέχθηκαν για σύγκριση δεν πρέπει να έχουν ινδικές ή ανασυνδυασμένες καθορισμένων γονότυπων, καθώς αυτές μπορούν να οδηγήσουν σε τεχνητή αύξηση της απόκλισης νουκλεοτιδίων
- (8) Θα πρέπει να ελεγχθούν νέα στελέχη για ανασυνδυασμούς μεταξύ γονότυπων / υπογονότυπων^[343]
- (9) Θα πρέπει να συμβουλευτείτε την πρόσφατη βιβλιογραφία για να λάβετε ενημερωμένες πληροφορίες σχετικά με την εκχώρηση γονότυπου / υπογονότυπου, εσφαλμένων ταξινομήσεων ή νέων εργασιών^[345]

Αυτή η κριτική είναι μια ενημέρωση για τρεις εκτενείς και περιεκτικές αναλύσεις και κριτικές του 2005^[347] και του 2008,^[346] και περιλαμβάνει τις νεότερες προτάσεις για την ταξινόμηση υπογονότυπων για τον γονότυπο A,^[348] B,^[349] C^[350] και D.^[351]

11. ΚΛΙΝΙΚΗ ΣΥΝΑΦΕΙΑ ΤΩΝ ΓΟΝΟΤΥΠΩΝ/ΥΠΟΓΟΝΟΤΥΠΩΝ ΤΟΥ HB

Οι γονότυποι και οι υπογονότυποι του HBV έχουν αποδειχθεί ότι διαφέρουν ως προς το κλινικό αποτέλεσμα, την πρόγνωση και την ανταπόκριση στη θεραπεία κατά των ιών. Η μόλυνση με HBV γονότυπος A σχετίζεται με υψηλό ιικό φορτίο που διευκολύνει τη μετάδοση ιών.

Τα υψηλά ποσοστά αναπαραγωγής του γονότυπου A σε ενήλικες οδηγούν σε αυξημένο κίνδυνο οριζόντιας μετάδοσης του HBV από σεξουαλική δραστηριότητα, επειδή η υψηλή συγκέντρωση του HBV DNA στον ορό σχετίζεται με υψηλές συγκεντρώσεις στο σπέρμα και άλλα σωματικά υγρά των φορέων HBV.^[352] Ο γονότυπος A τείνει επίσης να προκαλεί χρόνια λοίμωξη μετά από οξεία πορεία. Αυτό έχει αποδειχθεί στην Ιαπωνία όπου ο γονότυπος A που εισήχθη από την Ευρώπη άρχισε να αυξάνεται απότομα σε ασθενείς με οξεία λοίμωξη από το 1991 και σταδιακά σε αυτούς με χρόνια λοίμωξη.^[353] Σε σύγκριση με το HBV γονότυπο D ενδημικό στην Ευρώπη, ο γονότυπος A είναι πιο ευαίσθητος στη θεραπεία με ιντερφερόνη α.^[354]

Ο αυθόρμητος HBeAg οροκαθαρισμός ήταν σημαντικά υψηλότερος στους φορείς γονότυπου A σε σύγκριση με φορείς γονότυπων A, B, Δ και Φ. Μετά την απώλεια του HBeAg, εκείνοι με γονότυπους C και F ήταν πιο πιθανό να επανέλθουν στη θετική κατάσταση HBeAg.^[355] Η μόλυνση με υπογονότυπο B2 σχετίζεται με υποτροπή HCC ή HCC σε νέους, κυρίως μη κυρτωτικούς, ασθενείς στην ηπειρωτική Κίνα και την Ταϊβάν,^[356] whereas infection with subgenotype B1 is frequently associated with fulminant hepatitis B in Japan.^[357] Infection with HBV genotype C is associated with increased risks of LC and HCC at an older age as compared with infection with the HBV genotype B.^[358,]

Αν και οι υπογονότυποι HBV C1 και C2 σχετίζονται με τον κίνδυνο HCC, μόνο ο υπογονότυπος C2 του HBV σχετίζεται ανεξάρτητα με αυξημένο κίνδυνο HCC.^[359]

Ο γονότυπος B αποδείχθηκε πρόσφατα από εμάς ότι είναι πιο πιθανό να προκαλέσει οξεία ηπατίτιδα B, ενώ το ιικό φορτίο ASCs στον ορό με γονότυπο B είναι σημαντικά υψηλότερο από αυτό των ASC που έχουν μολυνθεί με γονότυπο Γ.^[360]

Σε σύγκριση με τον γονότυπο C, ο γονότυπος B του HBV έχει αποδειχθεί ότι σχετίζεται με προηγούμενη ορομετατροπή HBeAg και σχετίζεται με καλύτερη ανταπόκριση στη θεραπεία με ιντερφερόνη σε χρόνια ηπατίτιδα θετική στο HBeAg.^[361] Έτσι, η μόλυνση με τον γονότυπο C του HBV σχετίζεται με χειρότερη κλινική έκβαση

σε σύγκριση με τον γονότυπο B. Τα δεδομένα από την Ινδία έδειξαν ότι ο υπογονότυπος HBV D1 σχετίζεται σημαντικά με χρόνια ηπατική νόσο, ενώ ο υπογονότυπος D3 του HBV σχετίζεται σημαντικά με την απόκρυφη λοίμωξη HBV.

Δεν παρατηρήθηκε εμφανής κλινική σημασία σε εκείνους που είχαν μολυνθεί με υπογονότυπους HBV D2 και D5 []. Υπάρχουν πολύ περιορισμένα δεδομένα σχετικά με τη συσχέτιση του γονότυπου E με την κλινική του σημασία. Μελέτες προοπτικής κοόρτης με βάση τον πληθυσμό διαπίστωσαν ότι οι γονότυποι HBV C και F σχετίζονται με τον υψηλότερο κίνδυνο για HCC ή LC.^[362] Οι γονότυποι HBV E, F και H φαίνεται να είναι ευαίσθητοι στη θεραπεία με IFN-α []. Ο ανασυνδυασμός δύο γονότυπων είναι συχνός στην περιοχή όπου οι δύο γονότυποι είναι ενδημικοί,^[363] πιθανώς λόγω της επιλογής του πλεονεκτήματος της ιογενούς ανάπτυξης. Τα χαμηλότερα ποσοστά ανταπόκρισης στη θεραπεία με IFN-α σε ασθενείς με γονότυπο HBV G μπορεί να σχετίζονται με τη συχνή εμφάνιση διπλής λοίμωξης.^[364]

Η μόλυνση με υπογονότυπο A2 συνδέεται συχνά με υψηλό ιικό φορτίο, με αποτέλεσμα οξεία μόλυνση *μέσω*οριζόντια μετάδοση. Οι γονότυποι A και B είναι πιο ευαίσθητοι στη θεραπεία με ιντερφερόνη από τους γονότυπους D και C, αντίστοιχα.

Ο γονότυπος B είναι πιο συχνός στην οξεία ηπατίτιδα από τον γονότυπο Γ, ενώ ο γονότυπος C (C2) συσχετίζεται συχνότερα με αυξημένο κίνδυνο HCC, κυρίως κίρρωσης, σε σύγκριση με τον γονότυπο B (B2).

Οι γονότυποι C και F συνδέονται συχνά με την ανάπτυξη HCC. Το ιικό φορτίο των ασθενών με μείγμα γονότυπου είναι συνήθως υψηλότερο από εκείνο των ασθενών που έχουν μολυνθεί με μοναδικό γονότυπο. Οι μεταλλάξεις HBV στα γονίδια S, ειδικά οι υποκαταστάσεις αμινοξέων στη θέση 145 (G145R), σχετίζονται με την άνοση διαφυγή, ενώ οι μεταλλάξεις στα γονίδια PreS ή S που προκαλούν εξασθενημένη έκκριση HBsAg θα μπορούσαν να παρουσιάσουν κίνδυνο για την ασφάλεια του αίματος.^[365]

Παραλλαγές HBV που περιέχουν μεταλλάξεις στο γονίδιο της ιικής πολυμεράσης που προσδίδουν αντίσταση σε αντιικά φάρμακα μπορούν να επιλεγούν κατά τη διάρκεια της αντιικής θεραπείας με νουκλεοσιδικά ανάλογα. Η γενετική ποικιλομορφία του HBV οφείλεται εν μέρει στις αλληλεπιδράσεις ιού / ξενιστή και εν μέρει στην παράλληλη εξέλιξη σε γεωγραφικά διακριτές περιοχές. Διαφορετικοί γονότυποι έχουν ένα ξεχωριστό μοτίβο μεταλλάξεων στις περιοχές PreS και EnhII / BCP / Precore.^[366] Οι διαγραφές PreS, C1653T, T1753V και A1762T / G1764A σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο HCC. Τα μεταλλαγμένα HBV που σχετίζονται με HCC ενδέχεται να μην μεταδίδουν

Οι διαγραφές PreS, C1653T, T1753V και A1762T / G1764A σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο HCC. Τα μεταλλαγμένα HBV που σχετίζονται με HCC ενδέχεται να μην μεταδίδουν. Οι διαγραφές PreS, C1653T, T1753V και A1762T / G1764A σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο HCC.^[367]

Αν και έχει μειωμένο αντίκτυπο σε πολλές χώρες λόγω των καθολικών προγραμμάτων εμβολιασμού HBV που ξεκίνησαν τη δεκαετία του '90, η μόλυνση από HBV εξακολουθεί να συνεπάγεται μεγάλο κοινωνικοοικονομικό βάρος σε πολλές αναπτυσσόμενες χώρες.

Τα προγράμματα εμβολιασμού θα πρέπει να επεκταθούν χωρίς καθυστέρηση ώστε να καλύπτουν αγροτικές περιοχές των χωρών όπου ο εμβολιασμός κατά του HBV δείχνει την αποτελεσματικότητά του στη μείωση της εξάπλωσης της λοίμωξης από HBV.^[368] Οι χώρες που δεν μπορούν ακόμη να υιοθετήσουν ένα καθολικό πρόγραμμα ανοσοποίησης για νεογέννητα μωρά θα πρέπει να λάβουν υποστήριξη από διεθνείς οργανισμούς υγείας για να το εφαρμόσουν.

Προς το παρόν, το υψηλό κόστος των αποτελεσματικών νουκλεοϊκών (t) αναλόγων, δηλαδή του entecavir και του tenofovir, για τη θεραπεία της λοίμωξης από HBV και των συσχετισμένων ασθενειών του είναι ένα ισχυρό μειονέκτημα για τις περισσότερες αναπτυσσόμενες χώρες όπου πολλοί ασθενείς περιμένουν θεραπεία.

Επιπλέον, οι πληροφορίες σχετικά με την επιδημιολογία του HBV είναι λιγοστές σε αρκετές χώρες χαμηλού εισοδήματος και πρέπει να επεκταθούν για να καλύψουν πληροφορίες σχετικά με την αντιγραφή του HBV, τη μόλυνση με HCV και τον HIV, τη μοριακή επιδημιολογία, τις φυλογενώσεις και τις κλινικές πτυχές.^[369]

Στην Αφρική, η συν-μόλυνση με τον ιό HIV είναι ένα ακόμη πρόβλημα που απαιτεί μια θεραπευτική προσέγγιση με τις καταλληλότερες συνδυασμένες θεραπείες.

Στην Ασία, ένα υψηλό ιικό φορτίο και ένας υψηλός επιπολασμός ασθενών με θετικό HBeAg χαρακτηρίζουν τη λοίμωξη HBV και καθιστούν την επίτευξη της ιογενούς καταστολής πιο περίπλοκη.

Στην Ανατολική Ευρώπη και τη Νότια Αμερική, απαιτούνται περισσότερες επιδημιολογικές, ιολογικές και φυλογενετικές πληροφορίες και περαιτέρω εφαρμογή των προγραμμάτων εμβολιασμού για την κάλυψη όλων των αγροτικών περιοχών.^[370]

12. ΑΝΤΙΓΟΝΑ ΚΑΙ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΤΟΥ HBV

Η διάγνωση και παρακολούθηση ασθενών με οξεία και χρόνια λοίμωξη από τον ιό της ηπατίτιδας B στηρίζεται παραδοσιακά στην ανίχνευση στον ορό ειδικών αντιγόνων του ιού καθώς και των αντισώματων που αναγνωρίζουν συγκεκριμένες πρωτεΐνες του ιού (ορολογικοί δείκτες)

12.1. ΑΝΤΙΓΟΝΑ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ B

12.1.1. Το αντιγόνο επιφανείας του HBV(HBsAg)

Το HBsAg είναι ο κύριος κλινικός δείκτης που υποδεικνύει οξεία ή χρόνια μόλυνση και ο επιπολασμός καθώς και η ενδημικότητα της λοίμωξης από HBV καθορίζεται από την παρουσία HBsAg.^[371] Ο έλεγχος HBsAg είναι ο πρωταρχικός τρόπος αναγνώρισης ατόμων με χρόνια λοίμωξη από HBV και αρκετά χαρακτηριστικά αυτού του ορολογικού δείκτη αυξάνουν την ακρίβεια των εκτιμήσεων του HBsAg, συμπεριλαμβανομένης της υψηλής εξειδίκευσης, της μακροχρόνιας επιμονής στον ορό, της χαμηλής πιθανότητας χρόνιων περιπτώσεων να χάσουν το HBsAg^{[372], [373], [374]}

Είναι επίσης ο βασικός υικός παράγοντας για να αποφασιστεί πότε θα ξεκινήσει η αντική θεραπεία και θα παρακολουθείται η ανταπόκριση στη θεραπεία. Το ποσοτικό επιφανειακό αντιγόνο ηπατίτιδας B (HBsAg) αντικατοπτρίζει την ποσότητα και τη μεταγραφική δραστηριότητα του ομοιοπολικώς κλειστού κυκλικού DNA μέσα στα ηπατοκύτταρα.^[375] Επομένως, το ποσοτικό HBsAg παρέχει πληροφορίες σχετικά με τη δραστηριότητα της νόσου πέρα από την εκτίμηση της αντιγραφής του ιού.

Το περίβλημα ή το υλικό επιφανείας του HBV συντίθεται ανεξάρτητα από τον πυρήνα του HBV, δεν περιέχει DNA, RNA αντίγραφα, DNA πολυμεράση και δεν έχει δραστηριότητα ανάστροφης μεταγραφάσης. Είναι ανοσογόνο αλλά όχι λοιμογόνο. Η πρωτεΐνη S ανευρίσκεται στον ορό σε 3 μορφές. α) Ως τμήμα φακέλου (envelope) των λοιμογόνων υκών σωματιδίων (σωματίδια Dane, διάμετρος ~42nm), β) ως τμήμα των μη λοιμογόνων σφαιρικών ή γ) σωληνοειδών σχηματισμών (μέγεθος 20-22nm)²¹. Η συγκέντρωση των μη λοιμογόνων αυτών σωματιδίων στον ορό είναι 10.000 έως 1.000.000 μεγαλύτερης αυτής των σωματιδίων Dane που περιέχουν το DNA του ιού.^[376]

Οι ενζυμικές ανοσοδοκιμασίες του HBsAg που βρίσκονται σε ευρεία χρήση δεν ποσοτικοποιούν την ολική πρωτεΐνη που κυκλοφορεί, ούτε κάνουν διάκριση μεταξύ των διαφορετικών πρωτεϊνών HBsAg. Ο ποσοτικός προσδιορισμός του HBsAg ανιχνεύει και

τις τρεις μορφές κυκλοφορίας του HBsAg, δηλαδή το HBsAg που σχετίζεται με το ιοσωματίδιο, τα υποβιοϊκά σωματίδια και το HBsAg που παράγονται από ολοκληρωμένη αλληλουχία. Οι δύο εμπορικά διαθέσιμες δοκιμασίες ποσοτικοποίησης HBsAg, η δοκιμασία Architect QT (Abbott Laboratories, Wiesbaden, Germany) και η ποσοτική δοκιμασία Elecsys HBsAg II (Roche Diagnostic, Indianapolis, IN), δίνουν ένα μέτρο του συνολικού HBsAg και έχουν καλή συσχέτιση μεταξύ τους

Το επίπεδο HBsAg στον ορό, το οποίο τείνει να αλλάζει πολύ αργά με την πάροδο του χρόνου και παραμένει σε χαμηλό επίπεδο μεταξύ των ανενεργών φορέων, είναι ένα χρήσιμο συμπλήρωμα στο DNA του HBV, βοηθώντας έτσι στην αναγνώριση των πραγματικών ανενεργών φορέων HBV.^[376]

Η πρωτεΐνη περιβλήματος του HBV είναι το αντιγόνο επιφανείας Ηπατίτιδας Β (HBsAg). Υπάρχει στον ορό των μολυσμένων ατόμων και ο προσδιορισμός των επιπέδων του HBsAg είναι απαραίτητος για την αξιολόγηση της ανταπόκρισης στη θεραπεία. Το HBsAg εμφανίζεται στον ορό στα αρχικά στάδια της λοίμωξης από HBV και μπορεί να ανιχνευθεί 2 έως 8 εβδομάδες πριν από βιοχημικές ενδείξεις δυσλειτουργίας του ήπατος και ίκτερου. Εάν ο HBV δεν εντοπιστεί τους πρώτους έξι μήνες της μόλυνσης, τότε το μολυσμένο άτομο μπορεί να είναι χρόνιος φορέας του HBV. η αυθόρμητη εκκαθάριση είναι πολύ απίθανη. Επομένως, ο πρώιμος έλεγχος του επιπέδου HBsAg είναι ζωτικής σημασίας, αλλά απαιτεί ένα καλό όριο ανίχνευσης για χαμηλά ιικά φορτία.^{[377], [378]}

Διάφορες μέθοδοι έχουν αναπτυχθεί για την ανίχνευση επιπέδων HBsAg στον ορό όπως χημειοφωταύγεια ανοσοπροσδιορισμός (CLIA), μέθοδος αλυσιδωτής αντίδρασης ανοσοπολυμεράσης (iPCR) και ενζυμικά συνδεδεμένες ανοσοπροσροφητικές δοκιμασίες (ELISA).

Η οροκάθαρση HBsAg συμβαίνει σπάνια στο φυσικό ιστορικό χρόνιας λοίμωξης από ηπατίτιδα Β (CHB) και σχετίζεται με βελτιωμένα κλινικά αποτελέσματα. Πολλοί παράγοντες σχετίζονται με την ορομετατροπή HBsAg, συμπεριλαμβανομένων ανοσολογικών και ιικών παραγόντων.

Η ορομετατροπή HBsAg είναι ο απόλυτος εργαστηριακός δείκτης επιτυχούς θεραπείας για ασθενείς με CHB. Τα δεδομένα από κλινικές δοκιμές υποδηλώνουν ρόλο για τον ποσοτικό προσδιορισμό του HBsAg κατά την έναρξη και/ή κατά τη θεραπεία για τον εντοπισμό ασθενών που είναι πιο πιθανό να επιτύχουν ορομετατροπή HBsAg.^[379]

Η μαθηματική μοντελοποίηση της μείωσης του HBsAg στη θεραπεία έχει επίσης χρησιμοποιηθεί για την πρόβλεψη της διάρκειας της θεραπείας που απαιτείται για την ορομετατροπή HBsAg τόσο για θεραπείες που βασίζονται σε IFN όσο και σε NA.^[380]

Υπάρχει ένας αριθμός δοκιμασιών που έχουν αναπτυχθεί για τη μέτρηση του ποσοτικού τίτλου HBsAg. Είναι σημαντικό ότι αυτές οι δοκιμές είναι φθηνές (<10% του κόστους μιας δοκιμασίας DNA ιού ηπατίτιδας Β ορού [HBV]) και χρησιμοποιούν πλατφόρμες υψηλής απόδοσης.

Ωστόσο, οι ανοσολογικοί μηχανισμοί που σχετίζονται με την οροκάθαρση του HBsAg είναι ακόμα δύσκολο να αποσαφηνιστούν. Η οροκάθαρση HBsAg είναι ο ιδανικός στόχος της θεραπείας του HBV8. Δυστυχώς, αυτός ο στόχος σπάνια επιτυγχάνεται με τις τρέχουσες θεραπείες. Η κατανόηση των μηχανισμών απώλειας HBsAg φαίνεται να είναι σημαντική για την ανάπτυξη θεραπευτικών θεραπειών HBV. Ενώ μελέτες από ζωικά μοντέλα δίνουν πληροφορίες για τους πιθανούς ανοσολογικούς μηχανισμούς και αλληλεπιδράσεις που συμβαίνουν μεταξύ του ανοσοποιητικού συστήματος και του HBsAg, δεν ανακεφαλαιώνουν όλα τα χαρακτηριστικά του CHB στους ανθρώπους και υπόκεινται σε μεταβλητότητα λόγω της πολυπλοκότητάς τους.^[381]

Τέλος, από διαγνωστική σκοπιά, είναι σημαντικό να εκτιμηθεί ότι η ποσοτικοποίηση του HBsAg ανιχνεύει και τις τρεις μορφές κυκλοφορίας του HBsAg. Τα αντισώματα που χρησιμοποιούνται στις ποσοτικές ενζυμικές ανοσοδοκιμές στοχεύουν επιτόπια στην πρωτεΐνη S, και ως εκ τούτου δεν είναι ικανά να διακρίνουν μεταξύ των διαφόρων πρωτεϊνών HBsAg, ούτε μπορούν να διακρίνουν μεταξύ HBsAg που σχετίζεται με ιοσωματίδια, υποβιοτικά σωματίδια και HBsAg που παράγονται από ολοκληρωμένη αλληλουχία.

Επί του παρόντος, υπάρχουν δύο εμπορευματοποιημένοι προσδιορισμοί που μπορούν να μετρήσουν τον ποσοτικό προσδιορισμό του HBsAg, τον προσδιορισμό Architect QT (Abbott Laboratories) και τον ποσοτικό προσδιορισμό Elecsys HBsAg II (Roche Diagnostic). Η δοκιμασία Architect μπορεί να μετρήσει το επίπεδο HBsAg από 0,05 έως 250 IU/ml και απαιτείται χειροκίνητη αραίωση για τη μέτρηση υψηλότερων επιπέδων HBsAg. Ο προσδιορισμός Elecsys II διαθέτει αυτόματη αραίωση επί του σκάφους με εύρος μέτρησης του HBsAg από 0,05 έως 52,000 IU/ml. Σε μια μελέτη μεταξύ 611 χρόνιων ασθενών με ηπατίτιδα Β από 4 θέσεις που κάλυπταν τον γονότυπο Α -G του HBV, περίπου το 72% των δειγμάτων θα μπορούσε να έχει μετρηθεί το επίπεδο HBsAg κατά την πρώτη ανάλυση με τον προσδιορισμό Elecsys II χωρίς να χρειάζεται περαιτέρω χειροκίνητη αραίωση.^[382] Υπάρχει καλή συσχέτιση μεταξύ των μετρήσεων του HBsAg με αυτές τις 2 δοκιμασίες.^[383]

Έτσι η ανίχνευση του αντιγόνου S στον ορό αποτελεί έναν εξαιρετικά ευαίσθητο δείκτη HBV λοίμωξης ακόμη και όταν τα επίπεδα του HBV DNA στον ορό είναι μη ανιχνεύσιμα με τις πιο ευαίσθητες μοριακές τεχνικές (π.χ PCR).

Το Αυστραλιανό αντιγόνο ανιχνεύεται λίγες βδομάδες μετά την αρχική έκθεση του ξενιστή στον HBV και αποτελεί έτσι τον πρωιμότερο δείκτη οξείας HBV λοίμωξης. **Το HBsAg (αντιγόνο επιφανείας ηπατίτιδας Β)** είναι ο πρώτος ορολογικός δείκτης που εμφανίζεται σε μια νέα οξεία λοίμωξη, η οποία μπορεί να ανιχνευθεί ήδη από 1 εβδομάδα και έως 9 εβδομάδες, με μέσο όρο ένα μήνα μετά την έκθεση στον ιό της ηπατίτιδας Β (HBV).^[384]

- Το HBsAg είναι ανιχνεύσιμο για μεταβλητό χρονικό διάστημα, μαζί με το HBV DNA, αν και περίπου το 50% των ατόμων θα εξετάσουν το HBsAg και το HBV DNA αρνητικό 7 εβδομάδες μετά τα συμπτώματα.

- Όλα τα άτομα που αναρρώνουν αυθόρμητα από λοίμωξη θα έχουν αρνητικό τεστ για HBsAg και αρνητικό για DNA HBV περίπου 15 εβδομάδες μετά την εμφάνιση των συμπτωμάτων.

Επιτυχής ανοσολογική απάντηση του ξενιστή μετά την αρχική έκθεση στον ιό συνοδεύεται από σταδιακή μείωση των επιπέδων ιαιμίας και τελικά κάθαρση του ιού που συνοδεύεται από σταδιακή μείωση των επιπέδων ιαιμίας και τελικά κάθαρση του ιού που συνοδεύεται από εξαφάνιση του HBs Ag από τον ορό. Τα επίπεδα του επιφανειακού αντιγόνου της ηπατίτιδας Β στον ορό (HBsAg) μειώνονται σταδιακά κατά τη διάρκεια της χρόνιας λοίμωξης από τον ιό της ηπατίτιδας Β.²⁴ Η μείωση του επιπέδου HBsAg επιταχύνεται κατά τη διάρκεια των 3 ετών πριν από την HBsAg seroclearance

Σε αντίθεση με την κυμαινόμενη φύση του HBV DNA του ορού,^[385] μελέτες φυσικής ιστορίας έχουν βρει ότι το HBsAg του ορού μειώνεται πολύ σταδιακά με την πάροδο του χρόνου.^[386] Τα επίπεδα ορού HBsAg έχει αποδειχθεί ότι παίζουν ρόλο στην αναγνώριση ανενεργών φορέων με λοίμωξη γονότυπου D,^[387] προβλέπουν ιστολογική σοβαρότητα,^[388] προσδιορίζουν τον κίνδυνο ηπατοκυτταρικού καρκινώματος (HCC),^[389] και προβλέπουν οροαπόλυση HBsAg.^[389]

Σε περιπτώσεις χρόνιας HBV λοίμωξης το HBsAg ανιχνεύεται σταθερά στον ορό των ασθενών. Εξαφάνιση του HBsAg υποδηλώνει κάθαρση του ιού εκτός από σπάνιες περιπτώσεις ανάπτυξης μεταλλαγμένων στελεχών που δεν αναγνωρίζονται με τις συνήθεις τεχνικές ανίχνευσης του HBsAg.

Έχουν περιγραφεί αρκετές μεταλλάξεις επιφανειακού αντιγόνου ηπατίτιδας B (HBsAg), συχνότερα λόγω μιας απλής υποκατάστασης αμινοξέων και σπάνια σε διαγραφή νουκλεοτιδίων. Η πλειονότητα των μεταλλάξεων βρίσκεται στην περιοχή S, αλλά έχουν επίσης βρεθεί στις περιοχές πριν από το S1 και πριν από το S2. Οι μεμονωμένες υποκαταστάσεις αμινοξέων στην κύρια υδρόφιλη περιοχή του HBsAg, που ονομάζεται προσδιοριστής «a», έχουν συσχετιστεί με την ανοσολογική διαφυγή και την επακόλουθη αποτυχία του εμβολιασμού HBV και της ανίχνευσης HBsAg, ενώ οι διαγραφές στις περιοχές πριν από το S1 ή πριν από το S2 έχουν σχετίζεται με την ανάπτυξη ηπατοκυτταρικού καρκινώματος.^[390]

Τα αντισώματα στο επιφανειακό αντιγόνο της ηπατίτιδας B (HBsAg) που παράγονται ως απόκριση στη μόλυνση από τον ιό της ηπατίτιδας B ή στον εμβολιασμό και αυτά που χρησιμοποιούνται σε διαγνωστικούς προσδιορισμούς για την ανίχνευση αυτού του αντιγόνου στον ορό, κατευθύνονται και οι δύο έναντι της καθοριστικής περιοχής «a», κοινών για όλους τους υποτύπους ο ιός.

Μεταλλάξεις που συμβαίνουν στους βρόχους του προσδιοριστή «a» μπορεί να είναι υπεύθυνες για την έλλειψη προστασίας σε ανοσοποιημένους ασθενείς και σε εκείνα τα άτομα που λαμβάνουν ανοσοσφαιρίνη ηπατίτιδας B ή για αποτυχημένη ανίχνευση HBsAg χρησιμοποιώντας εμπορικούς διαγνωστικούς προσδιορισμούς. Υπάρχουν αυξανόμενες ενδείξεις την τελευταία δεκαετία της συσχέτισης μεταξύ των μεταλλάξεων HBsAg και της ανάπτυξης ηπατοκυτταρικού καρκινώματος (HCC), γεγονός που υποδηλώνει ότι οι μεγάλες διαγραφές πριν από το S1 ή πριν από το S2 είναι αυτές που συνδέονται συνήθως με την ανάπτυξη του HCC³⁹¹

Παρολαυτά όμως τον Ιανουάριο του 2017 δημοσιεύτηκε ένα άρθρο³⁹² στο οποίο φαίνεται ότι η μετάλλαξη στο επιφανειακό αντιγόνο του ιού της ηπατίτιδας B (HBsAg) μπορεί να επηρεάσει την αποτελεσματικότητα των διαγνωστικών ανοσοπροσδιορισμών ή την επιτυχία των εμβολιασμών χρησιμοποιώντας HBsAg. Έτσι, είναι απαραίτητες οι αναλύσεις αντιγονικότητας και ανοσογονικότητας του μεταλλαγμένου HBsAg για την ανάπτυξη νέων διαγνωστικών εργαλείων και αποτελεσματικών εμβολιασμών. Συμπερασματικά, αυτή η μελέτη έδειξε για πρώτη φορά ότι η λυσίνη (K120) και το ασπαρτικό (D123) επηρέασαν ταυτόχρονα την αντιγονικότητα του HBsAg, οδηγεί σε διαγνωστική αποτυχία. Αυτά τα ευρήματα θα βελτιώσουν τις διαγνωστικές δοκιμασίες και την ανάπτυξη εμβολίων.

Η γενετική μεταβλητότητα του ιού της ηπατίτιδας Β (HBV) αποτελεί πρόκληση για την ευαισθησία ανοσολογικών και μοριακών δοκιμασιών. Με βάση την απόκλιση αλληλουχίας σε ολόκληρο το γονιδίωμα > 8%, τα γονιδιώματα HBV έχουν ταξινομηθεί σε οκτώ ομάδες που χαρακτηρίζονται Α έως Η. Οι γονότυποι του HBV έχουν ξεχωριστές γεωγραφικές κατανομές.^[393]

Αν και οι προκαταρκτικές κλινικές μελέτες φαίνεται να δείχνουν ότι υπάρχει συσχέτιση μεταξύ του γονότυπου του HBV και του φυσικού ιστορικού της μόλυνσης και της απόκρισης στην αντιική θεραπεία, είναι απαραίτητες περαιτέρω αξιολογήσεις σε μεγαλύτερες συλλογές ασθενών για να δοθεί μια σαφέστερη εικόνα του ατόμου.

Η αναλυτική ευαισθησία των προσδιορισμών HBsAg και anti-HBs μπορεί να εξαρτάται από τον γονότυπο ή τον υποτύπο HBV. Η επίδραση της γονοτυπικής μεταβλητότητας στην ευαισθησία των δοκιμών ενίσχυσης νουκλεϊκών οξέων (NAT) έχει μέχρι στιγμής διερευνηθεί ελάχιστα. Τα προκαταρκτικά αποτελέσματα δείχνουν ότι οι νέοι NAT σε πραγματικό χρόνο ανιχνεύουν τους γονότυπους Α έως G με την ίδια ευαισθησία.^[394]

Διαφορετικοί μηχανισμοί που παρεμβαίνουν σε μεταφραστικό ή μετα-μεταφραστικό επίπεδο, συμπεριλαμβανομένων αλλαγών διαμόρφωσης, υδρόφοβων αλλαγών, εισαγωγής βασικών υπολειμμάτων και μειωμένης σύνθεσης ή έκκρισης του HBsAg μπορεί να αντιπροσωπεύουν αποκλειστικά ή σε συνδυασμό για μεταλλάξεις διαφυγής στην ανοσοαπόκριση και ανίχνευση σε ανοσολογικές δοκιμές HBsAg.

Η κλινική σημασία των μεταλλαγμένων γονιδίων S, χρειάζεται κατ'αναλογία με αυτή των γονότυπων HBV, για περαιτέρω διερεύνηση. Τα μεταλλάγματα HBV είναι σταθερά με την πάροδο του χρόνου και μπορούν να μεταδοθούν οριζόντια ή κάθετα. Η ευαισθησία των προσδιορισμών HBsAg βελτιώνεται συνεχώς.^[395] Οι ανοσοδοκιμασίες που βασίζονται σε πολυκλωνικό αντίσωμα σύλληψης δείχνουν την υψηλότερη ευαισθησία για την αναγνώριση ανασυνδυασμένων μεταλλαγμάτων ή δειγμάτων ορού που περιέχουν μεταλλαγμένες μορφές HBsAg. Ωστόσο, δεν εγγυώνται πλήρη ευαισθησία.

Η ανίχνευση HBsAg πρέπει να βελτιωθεί με την εισαγωγή νέων προσδιορισμών HBsAg ικανών να αναγνωρίσουν μέχρι τώρα περιγραφόμενες μεταλλάξεις γονιδίου S και με χαμηλότερο όριο ανίχνευσης από τους τρέχοντες ανοσοπροσδιορισμούς προκειμένου να ανιχνευθούν οι μικρότερες ποσότητες HBsAg σε φορείς χαμηλού επιπέδου. Υπάρχει επίσης ανάγκη για πληρέστερα επιδημιολογικά δεδομένα σχετικά με τον επιπολασμό των μεταλλαγμάτων HBsAg και πρέπει να αναπτυχθούν και να

αξιολογηθούν στρατηγικές για τον (διαφορικό) έλεγχο των μεταλλαγμάτων. Δεν εγγυώνται πλήρη ευαισθησία. Η ανίχνευση HBsAg πρέπει να βελτιωθεί με την εισαγωγή νέων προσδιορισμών HBsAg ικανών να αναγνωρίσουν μέχρι τώρα περιγραφόμενες μεταλλάξεις S-γονιδίου και με χαμηλότερο όριο ανίχνευσης από τους τρέχοντες ανοσοπροσδιορισμούς, προκειμένου να ανιχνευθούν οι μικρότερες ποσότητες HBsAg σε φορείς χαμηλού επιπέδου.^[396]

Υπάρχει επίσης ανάγκη για πιο ολοκληρωμένα επιδημιολογικά δεδομένα σχετικά με τον επιπολασμό των μεταλλαγμάτων HBsAg και πρέπει να αναπτυχθούν και να αξιολογηθούν στρατηγικές για τον (διαφορικό) έλεγχο των μεταλλαγμάτων. Δεν εγγυώνται πλήρη ευαισθησία.

Η ανίχνευση HBsAg πρέπει να βελτιωθεί με την εισαγωγή νέων προσδιορισμών HBsAg ικανών να αναγνωρίσουν μέχρι τώρα περιγραφόμενες μεταλλάξεις γονιδίου S και με χαμηλότερο όριο ανίχνευσης από τους τρέχοντες ανοσοπροσδιορισμούς προκειμένου να ανιχνευθούν οι μικρότερες ποσότητες HBsAg σε φορείς χαμηλού επιπέδου.^[397]

Υπάρχει επίσης ανάγκη για πιο ολοκληρωμένα επιδημιολογικά δεδομένα σχετικά με τον επιπολασμό των μεταλλαγμάτων HBsAg και πρέπει να αναπτυχθούν και να αξιολογηθούν στρατηγικές για τον (διαφορικό) έλεγχο των μεταλλαγμάτων.^[398]

Είναι επίσης ο βασικός υκός παράγοντας για να αποφασιστεί πότε θα ξεκινήσει η αντική θεραπεία και θα παρακολουθείται η ανταπόκριση στη θεραπεία. Το ποσοτικό επιφανειακό αντιγόνο ηπατίτιδας B (HBsAg) αντικατοπτρίζει την ποσότητα και τη μεταγραφική δραστηριότητα του ομοιοπολικώς κλειστού κυκλικού DNA μέσα στα ηπατοκύτταρα.^[399]

12.1.2. Το Αντιγόνο X(HBxAg)

Το αντιγόνο X που κωδικοποιεί τον ιό της ηπατίτιδας B (HBxAg) διεγείρει την έκφραση και τον αναδιπλασιασμό των γονιδίων του ιού, κάτι που μπορεί να είναι σημαντικό για τη δημιουργία και τη διατήρηση της χρόνιας κατάστασης φορέα.. Η χρόνια λοίμωξη από τον ιό της ηπατίτιδας B σχετίζεται με υψηλή συχνότητα ηπατικών παθήσεων, BxAg κατά τη διάρκεια χρόνιας λοίμωξης έχει ως αποτέλεσμα αυξημένη έκφραση αντιγόνου X.^[400]

Η υπερέκφραση του HBxAg μπορεί να αλλάξει τις οδούς μεταγωγής σήματος σημαντικές για τη ρύθμιση της κυτταρικής ανάπτυξης κατά την ηπατοκυτταρική αναγέννηση. Η κωδικοποιημένη με HBV πρωτεΐνη X (HBx), μια βασική ιογενής

ογκοπρωτεΐνη, μπορεί να είναι πανταχού παρούσα από αρσενικό ειδικό θανατηφόρο 2 (MSL2), το οποίο προκαλεί υπερρύθμιση της δραστηριότητας του HBx και προάγει τη μεταγραφή, τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων και την ανάπτυξη του όγκου. Το εύρημα ότι το HBxAg συνδέεται και αδρανοποιεί αρνητικά μόρια ρύθμισης της ανάπτυξης, όπως ο καταστολέας όγκου p53, υποδηλώνει επιπλέον τρόπους με τους οποίους το HBxAg μπορεί να δράσει στην ηπατοκαρκινογένεση.

Το HBxAg μπορεί επίσης να διεγείρει την έκφραση θετικών ρυθμιστικών στοιχείων ανάπτυξης, όπως ο αυξητικός παράγοντας II που μοιάζει με ινσουλίνη και ο υποδοχέας αυξητικού παράγοντα που μοιάζει με ινσουλίνη. Η διαπίστωση ότι το HBxAg μπορεί να θέσει σε κίνδυνο την επιδιόρθωση του DNA και ότι μπορεί να επηρεάσει τον φυσιολογικό κύκλο των μορίων που ρυθμίζουν την ανάπτυξη στο πρωτεάσωμα μπορεί επίσης να συμβάλει στις καρκινογόνες ιδιότητες του. Ως εκ τούτου, το HBxAg μπορεί να συμβάλει στην παθογένεση της χρόνιας λοίμωξης και στην ανάπτυξη ηπατοκυτταρικού καρκινώματος με διάφορους τρόπους.^[401]

Αν και δίνεται λίγη προσοχή, η HBx είναι ένας σημαντικός θεραπευτικός στόχος επειδή συμβάλλει σημαντικά (α) στην αντιγραφή του HBV, (β) στην προστασία των μολυσμένων κυττάρων από την ανοσομεσολαβούμενη καταστροφή κατά τη διάρκεια χρόνιας λοίμωξης και (γ) στην ανάπτυξη του HCC. Έτσι, η ανάπτυξη θεραπειών που στοχεύουν στην HBx, σε συνδυασμό με άλλες καθιερωμένες θεραπείες, θα προσφέρει μια λειτουργική θεραπεία που θα στοχεύει στην αντιγραφή του ιού και θα μειώσει περαιτέρω ή θα εξαλείψει τόσο τη νοσηρότητα όσο και τη θνησιμότητα που σχετίζονται με τη χρόνια ηπατική νόσο και την HCC. Η ταυτόχρονη στόχευση όλων αυτών των χαρακτηριστικών υπογραμμίζει τη σημασία της ανάπτυξης θεραπειών κατά της HBx.^[402]

12.1.3. Το αντιγόνο Core (HBcAg)

Το αντιγόνο πυρήνα της ηπατίτιδας Β (HBcAg) είναι το νουκλεοκαψίδιο που περικλείει το ιικό DNA. Όταν τα πεπτίδια που προέρχονται από HBcAg εκφράζονται στην επιφάνεια των ηπατοκυττάρων, προκαλούν μια κυτταρική ανοσοαπόκριση που είναι ζωτικής σημασίας για τη θανάτωση των μολυσμένων κυττάρων.^[403]

Δεν κυκλοφορεί ελεύθερο στον ορό, είναι δε πάντα καλυμμένο από HBsAg και απαντάται μόνο σε πλήρεις ιούς. Δεν μπορούμε με τις συνηθισμένες ορολογικές διαδικασίες να το ανιχνεύσουμε στον ορό. HBcAg και σωματίδια του πυρήνα έχουν

βρεθεί χρησιμοποιώντας τεχνικές ανοσοφθορισμού ή ηλεκτρονικό και ανοσοηλεκτρονικό μικροσκόπιο στον πυρήνα και το κυτταρόπλασμα ηπατοκυττάρων που προέρχονται από χρονίως πάσχοντα άτομα.^[404]

Επειδή το ανοσολογικό σύστημα αναγνωρίζει το HBcAg και παράγει αντισώματα έναντι αυτού, έχει λεχθεί ότι το HBcAg θα πρέπει να υπάρχει εξωκυττάρια μερικές φορές κατά τη διάρκεια της λοίμωξης, πιθανόν όταν μολυσμένα ηπατοκύτταρα λύνονται ή να εκφράζεται στην κυτταρική μεμβράνη.

Το αντίσωμα έναντι του αντιγόνου του πυρήνα του ιού της ηπατίτιδας Β ανιχνεύεται σε όλα τα στάδια της HBV λοίμωξης. Από τα πρώτα στάδια της οξείας φάσης μέχρι την πλήρη αποδρομή της νόσου.

Το αντι-core είναι ο πρώτος ανιχνεύσιμος ανοσολογικός δείκτης που δημιουργείται από τον ξενιστή στην HBV λοίμωξη. Παραμένει σε όλη την οξεία φάση της νόσου και για πολλές δεκαετίες μετά την ανάρρωση (σε χαμηλότερους τίτλους) στους περισσότερους ασθενείς. Στα αρχικά στάδια της οξείας λοίμωξης, εμφανίζονται αντι-HBc αντισώματα κλάσης IgM (IgM αντι-HBc) τα οποία παραμένουν σε υψηλούς δείκτες για 2 έως 12 μήνες σε αυτοπεριοριζόμενη λοίμωξη.^[405]

Κατά την περίοδο του παραθύρου η παρουσία IgM αντι-HBc αποτελεί τη μόνη ορολογική ένδειξη πρόσφατης οξείας ηπατίτιδας Β ενώ η απουσία υψηλού τίτλου IgM αντι-HBc αποκλείει τη πιθανότητα οξείας ηπατίτιδας Β.

Σε ασθενείς με χρόνια HBV λοίμωξη τα επίπεδα IgM αντι-HBc παραμένουν ανιχνεύσιμα παρουσιάζοντας σημαντικές διακυμάνσεις ανάλογα με την ενεργότητα της νόσου. Έτσι σε ασθενείς με σταθερά φυσιολογικές τιμές ALT (ανενεργοί φορείς) τα επίπεδα του IgM αντι-core διατηρούνται χαμηλά αντίθετα σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα Β (HBsAg+/-) οι τιμές του IgM αντι-core αυξομειώνονται ανάλογα με την ενεργότητα της νόσου φθάνοντας σε ορισμένες περιπτώσεις τιμές ανάλογες με αυτές της οξείας ηπατίτιδας Β.^[406]

Το IgG αντι-HBc εμφανίζεται στη διάρκεια της ανάρρωσης, αντικαθιστά το IgM αντίσωμα και είναι υπεύθυνο για την παραμονή του αντι-HBc για μεγάλο χρονικό διάστημα μετ'α την οξεία φάση. Είναι δυνατόν να είναι ο μοναδικός δείκτης μιας HBV λοίμωξης κατά την περίοδο <παραθύρου> όταν το HBsAg έχει παύσει να ανιχνεύεται αλλά δεν έχει ακόμα εμφανισθεί το αντι-HBs. Η ανίχνευση του με απουσία HBsAg δεν σημαίνει ότι έχει αναπτυχθεί ανοσία σθενή και το αντίσωμα αυτό δεν μπορεί να επαχθεί από τον εμβολιασμό.^[407]

Ορισμένα άτομα μπορεί να είναι θετικά για anti-HBc αλλά όχι για HBsAg ή anti-HBs. Η εύρεση απομονωμένου αντι-HBc μπορεί να συμβεί για διάφορους λόγους. (1) Το Anti-HBc μπορεί να είναι δείκτης χρόνιας λοίμωξης από HBV. Σε αυτά τα άτομα, το HBsAg είχε μειωθεί σε μη ανιχνεύσιμα επίπεδα, αλλά το HBV DNA παραμένει συχνά ανιχνεύσιμο, περισσότερο στο ήπαρ παρά στον ορό. Αυτή η κατάσταση δεν είναι ασυνήθιστη μεταξύ ατόμων από περιοχές με υψηλό επιπολασμό λοίμωξης από HBV και σε εκείνους με λοίμωξη από ιό ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας (HIV) ή ιό ηπατίτιδας C (HCV).^[408]

Το Anti-HBc μπορεί να είναι δείκτης ανοσίας μετά την ανάρρωση από προηγούμενη μόλυνση. Σε αυτά τα άτομα, τα αντι-HB είχαν μειωθεί σε μη ανιχνεύσιμα επίπεδα, αλλά μπορεί να παρατηρηθεί αναμνηστική ανταπόκριση μετά από μία δόση εμβολίου HBV.^[409]

Το Anti-HBc μπορεί να είναι ένα ψευδώς θετικό αποτέλεσμα δοκιμής ιδιαίτερα σε άτομα από περιοχές χαμηλού επιπολασμού χωρίς παράγοντες κινδύνου για λοίμωξη από HBV. Αυτά τα άτομα ανταποκρίνονται στον εμβολιασμό κατά της ηπατίτιδας B παρόμοια με άτομα χωρίς οροδείκτες HBV.^[410, 412, 413] Το Anti-HBc μπορεί να είναι ο μόνος δείκτης μόλυνσης από HBV κατά τη διάρκεια της φάσης παραθύρου της οξείας ηπατίτιδας B. Αυτά τα άτομα θα πρέπει να έχουν θετικό τεστ για αντι-HBc IgM.

Σε σπάνιες περιπτώσεις, η αντι-HBc-ανοσοσφαιρίνη (Ig) M μπορεί να είναι ο μόνος δείκτης HBV που ανιχνεύεται κατά την πρώιμη ανάρρωση ή την «περίοδο παραθύρου» όταν τα τεστ HBsAg και anti-HBs είναι αρνητικά. Επειδή οι τρέχουσες δοκιμές για το HBsAg είναι πολύ ευαίσθητες, ένα anti-HBc-IgM που είναι συνήθως θετικό με οξεία λοίμωξη από HBV δεν απαιτείται γενικά για τη διάγνωση της ενεργού λοίμωξης. Επειδή ορισμένοι χρόνιοι φορείς του HBV παραμένουν αντι-HBc-IgM θετικοί για χρόνια, οι επιδημιολογικές πληροφορίες είναι απαραίτητες για να επιβεβαιωθεί ότι η μόλυνση είναι πράγματι οξεία. Ένα αρνητικό αντι-HBc-IgM παρουσία θετικού HBsAg υποδηλώνει ότι η μόλυνση είναι πιθανόν χρόνια. Για τους λόγους αυτούς, ο τακτικός έλεγχος για την αντι-HBc-IgM δεν συνιστάται γενικά για έλεγχο για ασθενείς με οξεία μόλυνση.^[414]

12.1.4. Το αντιγόνο E(HBeAg)

Το αντιγόνο ηπατίτιδας B e (HBeAg), ένα πεπτίδιο που κυκλοφορεί προέρχεται από το γονίδιο του πυρήνα και στη συνέχεια τροποποιείται και εξάγεται από τα ηπατικά κύτταρα, χρησιμεύει ως δείκτης της ενεργού αντιγραφής του ιού.^[414] HBeAg μπορεί να

δράσει ως ανεκτικό, αφού η παρουσία του στην κυκλοφορία έχει συσχετιστεί με μειωμένη ανοσοαπόκριση λόγω της στενής ομοιότητάς του με το HBcAg, τον υποτιθέμενο στόχο της ανοσοαπόκρισης. Με λίγες εξαιρέσεις, το HBeAg υπάρχει μόνο σε άτομα που έχουν κυκλοφορούν DNA HBV ορού.

Χρησιμεύει ως ανοσοποιητικό δόλωμα και χειρίζεται άμεσα το ανοσοποιητικό σύστημα. έτσι εμπλέκεται στη διατήρηση της ιικής επιμονής. Το HBeAg μπορεί να ανιχνευθεί σε ασθενείς με κυκλοφορούντα HBV DNA ορού που έχουν λοίμωξη «άγριου τύπου». Καθώς ο ιός εξελίσσεται με την πάροδο του χρόνου υπό ανοσολογική πίεση, εμφανίζονται μεταλλάξεις πυρήνα και προγενέστερες μεταλλάξεις και τα επίπεδα του HBeAg μειώνονται έως ότου το επίπεδο δεν είναι μετρήσιμο με τυπικές δοκιμασίες.

Τα άτομα που έχουν μολυνθεί από τον ιό άγριου τύπου έχουν συχνά μικτές λοιμώξεις, με πυρήνες και προκαταρκτικές μεταλλάξεις έως και στο 50% των ατόμων. Συχνά υποτροπιάζουν με HBeAg-αρνητική νόσο μετά τη θεραπεία.^[415]

Παλαιότερες μελέτες έχουν συνδέσει τη παρουσία του HBeAg στον ορό με ενεργό πολλαπλασιασμό του ιού*. Κλινικοεργαστηριακά δεδομένα των τελευταίων 20 ετών έχουν δείξει ότι ο HBV διατηρεί την ικανότητα αναπαραγωγής του και σε απουσία του HBeAg.^[416] Τρεις ανοσολογικοί διαφορετικοί τύποι του HBeAg έχουν περιγραφεί. Η παρουσία του HBeAg συνήθως έχει HBV-DNA,σωμάτια του Dane που είναι ορατά με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο.

Καθώς το ανοσοποιητικό σύστημα καθαρίζει το HBV DNA, το HBeAg μειώνεται στην κυκλοφορία του αίματος καθώς εμφανίζεται το anti-HBe.^{416,417} Μεταλλάξεις σε ορισμένες περιπτώσεις μπορεί να έχουν ως αποτέλεσμα την παρουσία HBV DNA στην κυκλοφορία του αίματος απουσία HBeAg.^{418,419} Ωστόσο, επειδή δεν υπάρχει kit ELISA για τον προσδιορισμό της παρουσίας HBV DNA στον ορό, ορίσαμε τη μολυσματικότητα ως την παρουσία HBsAg και την απουσία anti-HBe. Η επιμονή του HBeAg στο αίμα συνδέεται πάντα με την πρόοδο προς μια ηπατική νόσο καθώς και με την αύξηση της πιθανότητας μετάδοσης του ιού. Παρόλο που υπάρχει ένας οδηγός διαχείρισης που προτάθηκε από τον ΠΟΥ το 2015, αυτός ο υψηλός επιπολασμός μολυσματικότητας μεταξύ των μολυσμένων HCW μπορεί να οφείλεται στο υψηλό κόστος που συνεπάγεται η διαχείριση της νόσου.^{420,421}

Το HBeAg ανιχνεύεται σχεδόν ταυτόχρονα στον ορό με το HBsAg μετά την έκθεση στον HBV. Σε ασθενείς που αναπτύσσουν οξεία αυτοπεριοριζόμενη ηπατίτιδα Β τα επίπεδα του HBeAg στον ορό μειώνονται γρήγορα και συνήθως είναι μη ανιχνεύσιμα

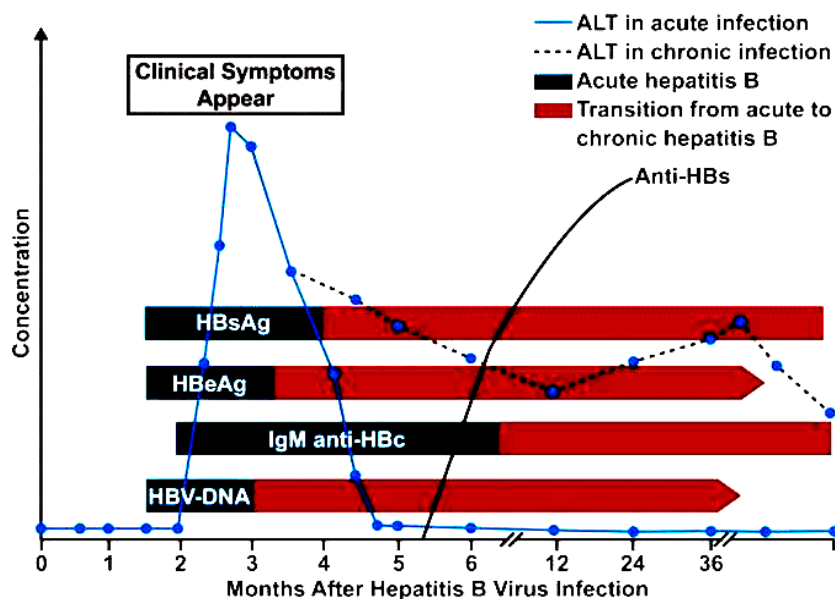
πριν την εξαφάνιση του HBsAg από την κυκλοφορία. Αντίθετα, σε ασθενείς που μολύνονται κατά τη γέννηση ή την πρώιμη παιδική ηλικία και αναπτύσσουν χρόνια λοίμωξη, το HBeAg παραμένει ανιχνεύσιμο για πολλές δεκαετίες (**φάση ανοσολογικής ανοχής ή HBeAg θετική φάση**).^[422]

Η περίοδος αυτή χαρακτηρίζεται από υψηλά επίπεδα ιαιμίας με φυσιολογικές τιμές αμινοτρανσφερασών. Η παρουσία της πρωτεΐνης e θεωρείται ότι συνδέεται με την ανάπτυξη ανοσολογικής ανοχής (immune tolerance) έναντι του αναπαραγόμενου ιού με επακόλουθο την απουσία ανοσολογικής απάντησης του ξενιστή.

Ακολουθεί η φάση της ανάπτυξης ανοσολογικής απάντησης έναντι της πρωτεΐνης e που συνοδεύεται από σταδιακή εμφάνιση αντισώματων έναντι του HBeAg (**αντι-HBe /φάση οροαναστροφής**). Στη φάση αυτή τα επίπεδα του HBV DNA και των αμινοτρανσφερασών παρουσιάζουν σημαντικές αυξομειώσεις ενδεικτικές υποκείμενης ηπατικής φλεγμονής.*Στην πλειοψηφία των ασθενών επιτυγχάνεται η σταδιακή κάθαρση του HBeAg από την κυκλοφορία που χαρακτηρίζει την επόμενη φάση (**HBeAg αρνητική ή αντι-HBe θετική φάση**).^[423]

Στη φάση αυτή τα επίπεδα του HBV DNA διατηρούνται σε χαμηλά επίπεδα ενώ παράλληλα οι τιμές των αμινοτρανσφερασών παραμένουν φυσιολογικές. Η φάση αυτή αναφέρεται από πολλούς ως (ανενεργή φάση ή **φάση φορείας του HBsAg**).^[424]

Σε ένα μικρό ποσοστό δεν επιτυγχάνεται η οροαναστροφή του HBeAg σε αντι-HBe με αποτέλεσμα τη παραμονή του HBeAg στη κυκλοφορία και την ανάπτυξη χρόνιας ηπατικής φλεγμονής (χρόνια HBe θετική ηπατίτιδα). Είναι αυτή η περίοδος κατά την οποία η παρουσία του HBeAg στον ορό είναι ενδεικτική ενεργού πολλαπλασιασμού του ιού και της ηπατικής φλεγμονής. Οι μέθοδοι ανίχνευσης του HBeAg είναι παρόμοιοι με αυτούς που χρησιμοποιούνται για την ανίχνευση του HBsAg και περιλαμβάνουν κυρίως ανοσοενζυμικές μεθόδους.



Ηπατίτιδα Β. Ορολογική πορεία μόλυνσης από ιό ηπατίτιδας Β (HBV). Οι επίπεδες ράβδοι δείχνουν τη διάρκεια της οροθετικότητας σε αυτοπεριοριζόμενη οξεία λοίμωξη από HBV. Οι μυτερές ράβδοι δείχνουν ότι το HBV DNA και το αντιγόνο e (HBeAg) μπορούν να γίνουν μη ανιχνεύσιμα κατά τη διάρκεια χρόνιας λοίμωξης. Μόνο τα αντισώματα ανοσοσφαιρίνης G (IgG) στο αντιγόνο πυρήνα HBV (anti-HBc) είναι προβλέψιμα ανιχνεύσιμα μετά την υποχώρηση της οξείας ηπατίτιδας ή κατά τη διάρκεια χρόνιας λοίμωξης. Το αντίσωμα του επιφανειακού αντιγόνου ηπατίτιδας Β (anti-HBs) είναι γενικά ανιχνεύσιμο μετά την επίλυση της οξείας λοίμωξης από HBV, αλλά μπορεί να εξαφανιστεί με την πάροδο του χρόνου. Σπάνια βρίσκεται μόνο σε ασθενείς με χρόνια λοίμωξη και δεν υποδηλώνει ότι θα συμβεί ανοσολογική ανάρρωση ή ότι ο ασθενής έχει καλύτερη πρόγνωση. ALT = τρανσαμινάση αλανίνη. (Προσαρμοσμένο από το Liaw YF, Chu CM. Λοίμωξη από τον ιό της ηπατίτιδας Β. *Lancet*. 2009; 373 (9663): 582-92.)

Η ορομετατροπή HBeAg είναι ένα καθιερωμένο θεραπευτικό τελικό σημείο για τη διαχείριση του HBeAg-θετικού CHB και σχετίζεται με μειωμένη νοσηρότητα και θνησιμότητα.^[425]

Η ποσοτικοποίηση του HBeAg αξιολογήθηκε πρόσφατα ως βιοδείκτης κατά τη διάρκεια της θεραπείας με PEGIFN.^[426] Σε μια μεγάλη μελέτη ασθενών με HBeAg-θετικό CHB, ένας βασικός τίτλος HBeAg ≤ 31 IU/mL Paul Ehrlich (PE) συσχετίστηκε με θετική προγνωστική αξία 54% για ορομετατροπή HBeAg μετά από 48 εβδομάδες θεραπείας.

Επιπλέον, η αποτυχία του τίτλου HBeAg να μειωθεί σε <100 PE IU/mL μετά από 24 εβδομάδες θεραπείας συνδέθηκε με αρνητική προγνωστική αξία για την ορομετατροπή HBeAg κατά 96%, μεγαλύτερη από εκείνη που ελήφθη από την παρακολούθηση των επιπέδων του HBV DNA στον ορό. Οι ποσοτικές ενζυμικές ανοσοδοκιμασίες (ΜΠΕ) για το HBeAg δεν διαθέτουν ευρεία εμπορική άδεια, και αυτό έχει συμβάλει σε αυτούς τους προσδιορισμούς να παραμείνουν ερευνητικά εργαλεία.

Ο τίτλος HBeAg και HBsAg έχουν προταθεί και οι δύο ως υποκατάστατα για μολυσμένη κυτταρική μάζα ήπατος ή HBV ομοιοπολικώς κλειστό κυκλικό DNA (cccDNA), η πυρηνική δεξαμενή ηπατοκυττάρων που είναι υπεύθυνη για την ιική επιμονή.^[427]

Αυτή η έννοια στηρίζει τη χρήση τους ως βιοδείκτες. Εάν το ηπατοκύτταρο θεωρηθεί μεμονωμένο, το HBsAg, το HBeAg και το HBV DNA του ορού αναμένεται να συσχετιστούν άμεσα μεταξύ τους και με το cccDNA του ήπατος, καθώς όλα μεταφράζονται από ξεχωριστές μεταγραφές (Pre-S1, Pre-S2/S, precore /πυρήνα, και προγεννητικό αγγελιοφόρο RNA [mRNA], αντίστοιχα) που προέρχεται απευθείας από το cccDNA.

Ωστόσο, τα δημοσιευμένα δεδομένα που περιγράφουν αυτές τις σχέσεις είναι περιορισμένα και αντικρουόμενα. Θετικές συσχετίσεις έχουν παρατηρηθεί μεταξύ του τίτλου HBeAg ή HBsAg και του HBV DNA του ορού σε ορισμένες μελέτες, αλλά όχι όλες.^[428, 429] Ομοίως, η θετική συσχέτιση μεταξύ του τίτλου HBsAg και του HBV cccDNA/ολικού ενδοηπατικού (IH) HBV DNA που έχει περιγραφεί προηγουμένως,^[430, 431] δεν παρατηρήθηκε σε δύο πρόσφατες μελέτες.^[432, 433]

Είναι σημαντικό ότι οι περισσότερες από τις μελέτες του HBsAg και του HBV cccDNA αφορούσαν μικρές ομάδες και περιορίζονταν από την ευαισθησία των διαθέσιμων δοκιμασιών για το HBV DNA του ορού. Επιπλέον, οι μελέτες που εξέτασαν τον ποσοτικό προσδιορισμό του HBsAg δεν συνέκριναν τους HBeAg θετικούς και τους HBeAg αρνητικούς πληθυσμούς, που είναι γνωστό ότι χαρακτηρίζονται από διακριτό ανοσολογικό περιβάλλον και διαφορετικά επίπεδα παραγωγικότητας του ιού.^[434,435]

Μελέτες για το HBeAg δεν είχαν προηγουμένως λάβει υπόψη την εμφάνιση παραλλαγών του βασικού πυρήνα A1726T/G1764A (BCP) ή G1896A precore (PC) που συνυπάρχουν με τον άγριο τύπο (WT) HBV στην ομάδα των ικών οιονεί ειδών. Τέτοιες παραλλαγές είναι γνωστό ότι εμφανίζονται στα χρόνια πριν από την ορομετατροπή HBeAg.^[436]

Παρόλο που οι παραλλαγές BCP και PC έχουν αποδειχθεί ότι μειώνουν ή καταργούν την παραγωγή HBeAg, αντίστοιχα, *in vitro*,^[437] ο αντίκτυπός τους στον τίτλο HBeAg *in vivo*, στο πλαίσιο της δεξαμενής ικών οιονεί ειδών και ενός ενεργού ανοσοποιητικού συστήματος, δεν έχει καθοριστεί. Το Η σχέση μεταξύ του τίτλου HBeAg και των δεικτών IH του HBV δεν έχει διερευνηθεί.

Αν και το αντιγόνο ηπατίτιδας Β ε (HBeAg) δεν απαιτείται για την αντιγραφή του HBV και η ακριβής λειτουργία του είναι ασαφής, μπορεί να παίζει ρόλο στη χρόνια

λοίμωξη από τον HBV καθώς το HBeAg στον ορό γενικά υποδεικνύει συνεχιζόμενη αντιγραφή του HBV και ηπατική νόσο.^[438,439] Η εμφάνιση αρνητικών παραλλαγών HBeAg συσχετίζεται με επιδείνωση της ηπατικής βλάβης και ακόμη και με κάθαρση του ιού σε ορισμένους ασθενείς.^[440]

Το HBeAg είναι υπεύθυνο για τη ρύθμιση της ανοσοαπόκρισης του ξενιστή κατά την εξέλιξη του CHB, αναστέλλει την έκφραση του TLR-2 και καταργεί την αντιική δράση της σηματοδότησης TLR μέσω της καταστολής της παραγωγής IFN-β και ISG ^[22, 23, 24, 25] Το Παρά τις σημαντικές κλινικές επιπτώσεις, η λειτουργία του HBeAg στη δράση του IFN και ο μοριακός μηχανισμός με τον οποίο το HBeAg ρυθμίζει την IFN παραμένει σε μεγάλο βαθμό άγνωστη.

Αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι το HBeAg είναι ένας βιοδείκτης του ενεργού πολλαπλασιασμού του ιού στα ηπατοκύτταρα, τη μολυσματικότητα και τη μετάδοση και σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο ηπατοκυτταρικού καρκινώματος.^[440] Στη Νιγηρία σε μία μελέτη που έγινε το 2012 όπου ήταν παρόν το HBeAg, συσχετίστηκε με ενεργό ηπατική νόσο, καρκίνο του ήπατος και θάνατο (441). Επομένως, οι δοκιμές για το HBeAg στη Νιγηρία μπορούν να βοηθήσουν στον εντοπισμό ατόμων με υψηλό κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου του ήπατος και στον προγραμματισμό της διαχείρισης των ασθενών. Αυτό μπορεί επίσης να παρέχει πληροφορίες για τη μελλοντική επιβάρυνση του καρκίνου του ήπατος που σχετίζεται με τον HBV.

Σε όλες τις ηλικιακές ομάδες, τα αρσενικά αντίστοιχα κυριάρχησαν όσον αφορά την οροθετικότητα του HBeAg, υποδηλώνοντας πιθανό χειρότερο αποτέλεσμα της μόλυνσης από HBV μεταξύ των ανδρών. Αυτή η μελέτη βασίστηκε σε κλινική και δεδομένου ότι άτομα με συμπτώματα λοίμωξης από HBV θα εμφανίζονταν συχνότερα σε κλινικές, δεν μπορούμε να δηλώσουμε κατηγορηματικά εάν οι διαφορές στην υπεροχή του φύλου ήταν πραγματικές ή λόγω διαφορών στις συμπεριφορές που αναζητούν υγειονομική περίθαλψη μεταξύ του βορειοκεντρικού Νιγηριανούς. Οι ασθενείς σε κλινικές συνθήκες είναι πιο πιθανό να έχουν ιατρικές καταστάσεις (συμπτώματα ηπατίτιδας), συμπεριλαμβανομένης της παρουσίας αντιγόνου ιού ηπατίτιδας B.^[442]

Σε αυτή τη μελέτη, αναφέρουμε ότι το 81,8% όλων των θετικών ατόμων με HBeAg ήταν άνδρες. Φαίνεται ότι υπάρχει υπεροχή για τα αρσενικά να έχουν ενεργές λοιμώξεις από HBV. Αυτό συσχετίζεται με μελέτες (από την πόλη Ενούγκου και Μπενίν, Νιγηρία), οι οποίες διαπίστωσαν ότι ο αριθμός των HBeAg θετικών αρσενικών ήταν υπερδιπλάσιος από τον αριθμό των γυναικών (443).

Φαίνεται ότι το HBeAg είναι διαδεδομένο σε περιοχές όπου ο γονότυπος E του HBV είναι κυρίαρχος. Σε αυτήν την περίπτωση, τα οικονομικά και ιατρικά οφέλη από τον έλεγχο ευρείας κλίμακας για HBeAg στον HBV γονότυπο Ημισέληνο (444) θα πρέπει να αξιολογηθούν και να ληφθούν προληπτικά μέτρα ενόψει μιας μεγάλης κλίμακας προληπτικών και θεραπευτικών αναγκών.

Έχουμε δείξει ότι περίπου το ένα πέμπτο των θετικών ατόμων με HbsAg είναι επίσης θετικά για το HbeAg, το οποίο είναι ένας δείκτης της ενεργού αντιγραφής και μετάδοσης του ιού. Αυτό μπορεί να ληφθεί ως ένδειξη ενεργού HBV στον πληθυσμό της Νιγηρίας. Αυτό είναι απαράδεκτο για μια ασθένεια, εναντίον της οποίας διατίθεται ένα αποτελεσματικό εμβόλιο από το 1982.

Είναι γνωστό ότι το HBeAg δεν απαιτείται για την αντιγραφή του HBV και η ακριβής λειτουργία του είναι ασαφής, αλλά μπορεί να παίζει ρόλο στη χρόνια λοίμωξη από τον HBV.^[445]

Η εμφάνιση αρνητικών. παραλλαγών HBeAg συσχετίζεται με επιδείνωση της ηπατικής βλάβης σε ορισμένους ασθενείς.^[446]

Το HBeAg φαίνεται να είναι κρίσιμο για τον προσδιορισμό της έκβασης των ανοσοθεραπειών σε χρόνιους ασθενείς με HBV. Μια ανοσοθεραπευτική προσέγγιση βασισμένη θα μπορούσε να ενδιαφέρει στις προσπάθειες αποκατάστασης της λειτουργικής αντιικής ανοσίας, η οποία είναι κρίσιμη για τον έλεγχο του ιού σε χρόνιους ασθενείς με HBV.^[446] Ωστόσο, παρά τις σημαντικές κλινικές και κυτταρικές επιπτώσεις, ο μοριακός μηχανισμός με τον οποίο το HBeAg ρυθμίζει την ανοσία του ξενιστή παραμένει σε μεγάλο βαθμό άγνωστος.

Οι περισσότερες μελέτες έχουν δείξει ότι περίπου το 30-40% των θετικών ασθενών με HBeAg ανταποκρίνονται στη θεραπεία με IFN-α. Ωστόσο, το ποσοστό θεραπείας με IFN-α για ασθενείς με HBeAg είναι διαφορετικό: ορισμένες μελέτες ανέφεραν ότι το ποσοστό απόκρισης IFN-α είναι έως 50%,^[447,448,449] ενώ άλλες έδειξαν ότι το ποσοστό απόκρισης μακροπρόθεσμου IFN-α είναι μικρότερο από 10%.^[450,451,452]

Η ανάγκη για θεραπεία σε ασθενείς με HBV-DNA μεγαλύτερη από 2000 IU/ml είναι πολύ γνωστή λόγω πιθανής ιστολογικής βλάβης.^[453] Τα τελευταία χρόνια, έχει αναγνωριστεί η ανάγκη για εργαλεία που θα μας βοηθήσουν να προβλέψουμε το αποτέλεσμα αυτών των ασθενών και η αξία της ποσοτικοποίησης του HBsAg γίνεται όλο και πιο σημαντική για τη διαφοροποίηση μεταξύ ανενεργών φορέων και ασθενών με CHB HBeAg (-).^[454]

13. ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΕΝΑΝΤΙ ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ Β

13.1. Anti-HBc

Το αντίσωμα έναντι του αντιγόνου του πυρήνα του ιού της ηπατίτιδας Β ανιχνεύεται σε όλα τα στάδια της HBV λοίμωξης. Από τα πρώτα στάδια της οξείας φάσης μέχρι την πλήρη αποδρομή της νόσου.

Το αντι-core είναι ο πρώτος ανιχνεύσιμος ανοσολογικός δείκτης που δημιουργείται από τον ξενιστή στην HBV λοίμωξη. Παραμένει σε όλη την οξεία φάση της νόσου και για πολλές δεκαετίες μετά την ανάρρωση (σε χαμηλότερους τίτλους) στους περισσότερους ασθενείς. Στα αρχικά στάδια της οξείας λοίμωξης, εμφανίζονται αντι-HBc αντισώματα κλάσης IgM (IgM αντι-HBc) τα οποία παραμένουν σε υψηλούς δείκτες για 2 έως 12 μήνες σε αυτοπεριοριζόμενη λοίμωξη.^[455]

Αρκετές πιθανές κλινικές ερμηνείες απομονωμένων αντι-HBc λαμβάνονται υπόψη στην αξιολόγηση των ορολογιών HBV, συμπεριλαμβανομένων 1) επιλυμένη HBV λοίμωξη με πολύ χαμηλά επίπεδα αντι-HBs μη ανιχνεύσιμα με τις τρέχουσες δοκιμασίες, λόγω φθίνουσας ανοσίας, ή 2) κρυφή HBV, παρουσία της ιαιμίας HBV, συχνά αποτέλεσμα μεταλλαγμένου HBsAg, το οποίο δεν ανιχνεύεται σε τυπικές ορολογικές δοκιμές για HBV 3) η περίοδος παραθύρου της οξείας λοίμωξης από HBV όπου κατακρημνίζονται ανοσοσυμπλέγματα από HBsAg και HBsAb, δημιουργώντας έτσι ένα προφανές απομονωμένο πρότυπο αντι-HBc που ορολογικά εξελίσσεται με το χρόνο και 4) ψευδώς θετικά τεστ, τα οποία μπορεί να βρεθούν σε πληθυσμούς χαμηλού επιπολασμού ή τεχνητές συνθήκες που σχετίζονται με την ποιότητα της ανάλυσης και την τεχνική προετοιμασία. Ο πιο συνηθισμένος λόγος για το μεμονωμένο μοτίβο anti-HBc είναι πιθανώς η μείωση της ανοσίας.^[456,457,458]

Οι προγνωστικοί παράγοντες του απομονωμένου προτύπου αντι-HBc περιλαμβάνουν λοίμωξη HIV,^[459, 460, 461] λοίμωξη από HCV,^[462] και συγκεκριμένα ιαιμία HCV,^[462] μεγαλύτερη ηλικία,^[463] πολλαπλούς σεξουαλικούς συντρόφους και αυξημένα επίπεδα HIV RNA.^[465] Το απομονωμένο μοτίβο anti-HBc είναι ιδιαίτερα συχνό στη συνλοίμωξη HIV/HCV, πιθανότατα λόγω κοινών οδών μετάδοσης και αλληλεπίδρασης ιών. Οι εκτιμήσεις του επιπολασμού του απομονωμένου anti-HBc μπορεί να είναι περιορισμένες λόγω διαφορών στη γεωγραφία, καθώς και λόγω ευαισθησίας διαφορετικών ανοσοπροσδιορισμών που χρησιμοποιούνται σε κάθε μελέτη. Αυτό έρχεται σε αντίθεση με τις HIV αρνητικές κοόρτες, όπου ο επιπολασμός του απομονωμένου anti-HBc κυμαίνεται από 5,3-31,6%.^[466]

Κατά την περίοδο του παραθύρου η παρουσία IgM αντι-HBc παραμένουν ανιχνεύσιμα παρουσιάζοντας σημαντικές διακυμάνσεις ανάλογα με την ενεργότητα της νόσου. Έτσι σε ασθενείς με σταθερά φυσιολογικές τιμές ALT (ανενεργοί φορείς) τα επίπεδα του IgM αντι-core διατηρούνται χαμηλά ενώ αντίθετα σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα B(HBeAg+/-) οι τιμές του IgM αντι-core αυξομειώνονται ανάλογα με την ενεργότητα της νόσου φθάνοντας σε ορισμένες περιπτώσεις τιμές ανάλογες με αυτές της οξείας ηπατίτιδας B.^[467]

Το IgM αντι-HBc εμφανίζεται στη διάρκεια της ανάρρωσης, αντικαθιστά το IgM αντίσωμα και είναι υπεύθυνο για την παραμονή του αντι-HBc για μεγάλο χρονικό διάστημα μετά την οξεία φάση. Είναι δυνατόν να είναι μοναδικός δείκτης μιας HBV λοίμωξης κατά την περίοδο <παραθύρου> όταν το HBsAg έχει παύσει να ανιχνεύεται αλλά δεν έχει ακόμα εμφανισθεί το αντι-HBs. Η ανίχνευση του με απουσία HBsAg δεν σημαίνει ότι έχει αναπτυχθεί ανοσία στον ασθενή και επίσης το αντίσωμα αυτό δεν μπορεί να επαχθεί από τον εμβολιασμό.

Παρά το γεγονός ότι έχει λεχθεί από μερικούς ερευνητές ότι η ανοσοποίηση του HBcAg μπορεί να οδηγήσει σε προστατευτική ανοσολογική απάντηση μέσω κυτταρικής ανοσίας,^[468] το αντι-HBc δεν είναι εξουδερωτικό αντίσωμα και η ανίχνευση του δεν σημαίνει αναγκαία εξαφάνιση της HBV λοίμωξης.

Επιμέμοντες υψηλοί τίτλοι αντι-HBc με απουσία HBsAg ή αντι-HBs πιθανόν να συνδέονται με παρουσία και συνεχιζόμενη αναπαραγωγή του HBV στο ήπαρ. Οροί τέτοιων ασθενών μπορεί να περιέχουν άθικτα HBV σωματίδια με δυνατότητα μετάδοσης της νόσου.^[469]

Είναι πολύ πιθανόν βέβαια η παρουσία μόνο αντι-HBc-IgM να υποδηλώνει ψευδώς θετικό αποτέλεσμα, άρα χρειάζεται επιβεβαίωση με δεύτερη μέτρηση.

Πίνακας 1

HBsAg	Anti-HBc IgM	Anti-HBc	Anti-HBs	Interpretation
Negative	---	Negative	Negative	Susceptible
Negative	---	Positive	Positive	Immune Due to Previous Infection
Negative	---	Negative	Positive	Immune Due to Hepatitis B Vaccination
Positive	Positive	Positive	Negative	Acute Infection
Positive	Negative	Positive	Negative	Chronic Infection
Negative	---	Positive	Negative	Isolated anti-HBc Pattern: (most 1. False-positive anti-HBc 2. “Low level” chronic infection i.e. occult HBV viremia 3. Resolving acute infection

Definitions: **HBsAg**: Hepatitis B surface antigen; **Anti-HBc IgM**: antibody to Hepatitis B core antigen; **Anti-HBs**: antibody to HBsAg

Αν και οι κλινικές κατευθυντήριες γραμμές υπάρχουν εδώ και αρκετό καιρό, εξακολουθεί να υπάρχει μεγάλη συζήτηση σχετικά με τη διαχείριση των ασθενών με ΙΑΗΒc που διατρέχουν κίνδυνο επανενεργοποίησης της ηπατίτιδας Β. Κυρίως, συνιστάται προφυλακτική θεραπεία για ασθενείς με τον υψηλότερο κίνδυνο επαναμόλυνσης/επανενεργοποίησης και βιολογική παρακολούθηση για άλλους ασθενείς.

Ο εμβολιασμός έχει προταθεί σε ορισμένες περιπτώσεις, αλλά δεν υπάρχει συναίνεση, παρόλο που την τελευταία δεκαετία, πολλοί ερευνητές έχουν μελετήσει το πιθανό ενδιαφέρον του εμβολιασμού σε ασθενείς με ΙΑΗΒc, ειδικά σε ασθενείς με λοίμωξη HIV και ταυτόχρονη λοίμωξη HIV/HCV.

13.2. Anti-HBe

Το αντίσωμα έναντι του αντιγόνου «e» του ιού της ηπατίτιδας Β εμφανίζεται μέσα σε λίγες εβδομάδες από την απώλεια του HBeAg. Δεν αντιδρά με άθικτα HBV σωματίδια, δεν είναι εξουδερωτικό αντίσωμα και HBV-DNA μπορεί να υπάρχει σε ορό απόμων αντι-HBe θετικών (προπυρηνικά μεταλλαγμένα στελέχη HBV). Τις περισσότερες φορές όμως η παρουσία αντι-HBe ανιχνεύεται σαν ελεύθερο κυκλοφορούν αντίσωμα στην οξεία φάση της νόσου συνήθως την 4 εβδομάδα μετά την είσοδο αντισωμάτων.

Η εξαφάνιση του HBeAg και η αύξηση του αντι-HBe σχετίζεται με μείωση του τίτλου ιαιμίας και αντικατάσταση του HBV άγριου τύπου από τους μεταλλάκτες του πυρήνα προαγωγέα και/ή τους προπυρηνικούς μεταλλάκτες. Ωστόσο, οι μεταλλάξεις του πυρήνα προαγωγέα γίνονται διαδοδόμενοι ακόμη και πριν από την άνοδο του αντι-HBe.

Το αντίσωμα anti-HBe δεν αναμένεται να εξουδετερώσει άμεσα τη μολυσματικότητα του ιού, επειδή το σωματίδιο του ιού δεν περιέχει HBeAg. Η μειωμένη ιαιμία μετά την ανάπτυξη anti-HBe θα μπορούσε να αποδοθεί στην απώλεια του HBeAg, η οποία απελευθερώνει την αντι-ικκή επίδραση της ανοσίας κατά του HBe.^[470] Εναλλακτικά, τα αντισώματα κατά του HBe θα μπορούσαν να καταστρέψουν τα μολυσμένα ηπατοκύτταρα αναγνωρίζοντας το HBeAg στην κυτταρική επιφάνεια, αν και αυτή η πτυχή παραμένει λίγο-πολύ εικαστική.

Η αντι-ικκή επίδραση της ανοσίας κατά του HBe μπορεί να εξηγήσει τη συχνή εμφάνιση παραλλαγών HBeAg σε ασθενείς με anti-HBe. Δεδομένου ότι η έκφραση HBeAg δεν είναι απαραίτητη για την αναπαραγωγή του ιού, ο απλούστερος τρόπος για να αποφύγει ο ιός την ανοσία κατά του HBe είναι να απενεργοποιήσει εντελώς την έκφραση HBeAg. Οι λεγόμενοι «προπυρηνικοί μεταλλάκτες» είναι οι πρώτοι που ανακαλύφθηκαν μείζονα μεταλλάγματα διαφυγής του HBV. Αυτά τα μεταλλάγματα χαρακτηρίζονται από μια ανόητη μετάλλαξη G1896A στην περιοχή προπυρήνα που περικόπτει την πρωτεΐνη προπυρήνα/πυρήνα σε ένα πεπτίδιο 28-aa.^[471,472,473,474]

Η επιλεκτική διακοπή της έκφρασης του HBeAg μέσω μεταλλάξεων που επηρεάζουν την περιοχή του προπυρήνα και όχι το γονίδιο του πυρήνα μπορεί εύκολα να γίνει κατανοητή από την άποψη του απαραίτητου ρόλου της πρωτεΐνης πυρήνα για την αντιγραφή του ιού.

Οι δεύτερες κοινές παραλλαγές HBeAg είναι οι μεταλλάξεις του πυρήνα προαγωγέα. Χαρακτηρίζονται από σημειακές μεταλλάξεις στον προαγωγέα τόσο για το mRNA του HBeAg όσο και για το mRNA της βασικής πρωτεΐνης (ονομάζεται επίσης

προγονιδιωματικό RNA).^[475] Οι μεταλλάξεις του πυρήνα προαγωγέα είναι το κυρίαρχο ικό είδος όχι μόνο στο στάδιο anti-HBe, αλλά και στο όψιμο στάδιο HBeAg της μόλυνσης.

Μεταξύ των παραλλαγών HBeAg, οι μεταλλάξεις του πυρήνα προαγωγέα αξίζουν ιδιαίτερης προσοχής. Πολλές περιπτώσεις κεραυνοβόλου ηπατίτιδας έχουν εντοπιστεί σε λοίμωξη με μεταλλάξεις του πυρήνα προαγωγέα. Ωστόσο, δεδομένου ότι η κεραυνοβόλος ηπατίτιδα είναι μια σπάνια μορφή οξείας λοίμωξης, οι περισσότερες αναφορές είναι περιγραφικές.^[476]

Απαιτείται μια μελέτη ελεγχόμενης περίπτωσης για να ελεγχθεί αυστηρά εάν οι μεταλλάξεις του πυρήνα προαγωγέα είναι πιο πιθανό να παράγουν κεραυνοβόλο ηπατίτιδα από τα απομονωμένα στελέχη άγριου τύπου από την ίδια περιοχή. Δεδομένου ότι ο HBV θεωρείται μη κυτταροκυτταρικός ιός, η ανοσολογική απόκριση παίζει κρίσιμο ρόλο στη δημιουργία ηπατικής βλάβης.^[477]

Επομένως, η συμβολή της γενετικής σύνθεσης του ξενιστή στην κεραυνοβόλο ηπατίτιδα δεν πρέπει να αγνοηθεί. Είναι επίσης απαραίτητο να επισημανθεί ότι μια μετάλλαξη πυρήνα προαγωγέα συχνά περιέχει πολλές άλλες γενετικές αλλοιώσεις εντός του ικού γονιδιώματος.

Ετσι, Ακόμη και όταν μια μετάλλαξη πυρήνα προαγωγέα προκαλεί κεραυνοβόλο ηπατίτιδα, μεταλλάξεις αλλού στο ικό γονιδίωμα θα μπορούσαν να είναι υπεύθυνες.

Σε μια καλά τεκμηριωμένη περίπτωση, η μετάδοση ενός μεταλλάγματος πυρήνα προαγωγέα οδήγησε σε ξέσπασμα κεραυνοβόλου ηπατίτιδας.^[478] Σε μια άλλη μελέτη, μια μετάλλαξη πυρήνα προαγωγέα που σχετίζεται με κεραυνοβόλο ηπατίτιδα βρέθηκε να προκαλεί πιο σοβαρή ηπατική βλάβη όταν εμβολιάζεται πειραματικά σε χιμπατζήδες.^[479] Αυτές οι παρατηρήσεις παρέχουν πειστικές αποδείξεις για την εγγενή λοιμογόνο δράση ορισμένων μεταλλαγμάτων του πυρήνα προαγωγέα.

Κατά τη διάρκεια της χρόνιας λοίμωξης, οι μεταλλάξεις του πυρήνα προαγωγέα έχουν συνδεθεί με πιο σοβαρές μορφές ηπατικών ασθενειών συμπεριλαμβανομένου του καρκίνου του ήπατος. Μια μελέτη από τη Νότια Αφρική αποκάλυψε επικράτηση μεταλλάξεων του πυρήνα προαγωγέα στο 66% των ασθενών με HCC, αλλά μόνο το 11% των ασυμπτωματικών φορέων ταιριάζουν σε ηλικία και κατάσταση HBeAg / anti-HBe.^[480] Ομοίως, μεταλλάξεις του πυρήνα προαγωγέα ήταν παρούσες μόνο στο 3% των ανενεργών φορέων της Ταϊβάν αλλά έως και στο 64% των ασθενών με HCC.^[481]

Ασφαλώς, θα χρειαστούν προοπτικές επιδημιολογικές μελέτες για να αποδειχθεί ότι η αύξηση των μεταλλάξεων του πυρήνα προαγωγέα προηγείται της ανάπτυξης καρκίνου.

Μια άλλη απόδειξη για την ενισχυμένη παθογένεια των μεταλλάξεων του πυρήνα προαγωγέα προήλθε από συγκριτικές μελέτες των γονότυπων του HBV.^[482]

Οι ασθενείς της Ανατολικής Ασίας μολύνονται κυρίως με γονότυπο C ή B του HBV, με μετάβαση από Βορρά προς Νότο. Είναι ενδιαφέρον ότι οι ασθενείς με γονότυπο C συχνά υποφέρουν από πιο σοβαρές ηπατικές ασθένειες, καθυστερημένη ορομετατροπή HBeAg σε anti-HBe και επιταχυνόμενη ανάπτυξη HCC σε σύγκριση με ασθενείς με γονότυπο B.^[483] Περαιτέρω ανάλυση αποκάλυψε ότι τα απομονωμένα στελέχη του γονότυπου C είναι πιο πιθανό να αναπτύξουν μεταλλάξεις του βασικού προαγωγέα από τον γονότυπο B.^[484, 485, 486]

Έχει προταθεί πρόσφατα ότι οι μεταλλάξεις του πυρήνα προαγωγέα, και όχι ο γονότυπος C per se, είναι ο κύριος παράγοντας κινδύνου για καρκίνο του ήπατος.^[487] Όπως και οι μεταλλάξεις του πυρήνα προαγωγέα, η G1896A HBeAg αρνητική προπυρήνα μετάλλαξη αναπτύσσεται αργά στην πορεία της μόλυνσης από HBV. Ωστόσο, ο επιπολασμός της μετάλλαξης προπυρήνα δεν ήταν αυξημένος σε ασθενείς με καρκίνο σε σχέση με τους αντίστοιχους ελέγχους.^[488] Έτσι, η συσχέτιση μεταξύ μεταλλάξεων του πυρήνα προαγωγέα και καρκίνου του ήπατος είναι γνήσια.

Ο Dr Zoulim από τη Γαλλία και η ομάδα του, πρόσφατα ανακάλυψε γονιδιώματα HBV που απαντώνται στη φύση με υψηλή ικανότητα αντιγραφής. Επιλέξανε HBeAg θετικούς ασθενείς έτσι ώστε να αποφύγουν την επίδραση της ανοσοαπόκρισης στους τίτλους του ιού. Μελετήθηκαν ασθενείς που είχαν μολυνθεί με γονότυπο A του HBV, είτε με πολύ υψηλούς είτε με πολύ χαμηλούς τίτλους ιαιμίας. Παραδόξως, οι κλώνοι που προέρχονται από ασθενείς με υψηλή ιαιμία εμφάνισαν ομοιόμορφα χαμηλή ικανότητα αντιγραφής, ενώ ορισμένοι κλώνοι που προέρχονται από ασθενείς με χαμηλή ιαιμία είχαν πολύ υψηλότερα επίπεδα αντιγραφής.^[489] Η ανάλυση αλληλουχίας αποκάλυψε μεταλλάξεις του πυρήνα προαγωγέα στους κλώνους υψηλής αναπαραγωγής αλλά όχι χαμηλής αναπαραγωγής. Τα ευρήματά μας υποδηλώνουν τη σταδιακή απώλεια της έκφρασης του HBeAg και την ενίσχυση της ικανότητας αναπαραγωγής του ιού κατά τη διάρκεια της χρόνιας λοίμωξης HBV.

Η ανάπτυξη της ανοσίας κατά του HBe μπορεί να θεωρηθεί ως σημείο καμπής στη μάχη μεταξύ του HBV και του ξενιστή του. Όποιος κι αν είναι ο μηχανισμός, το αντίσωμα anti-HBe βοηθά στον έλεγχο της αναπαραγωγής του ιού σε πολύ μειωμένο επίπεδο. Σίγουρα, η πλήρης εκκαθάριση της αντιγραφής του HBV θα περίμενε την άνοδο του αντισώματος anti-HBs, το οποίο αποτρέπει την εξάπλωση της μόλυνσης από τον ιό. Η ασυνήθιστη παρατήρηση ότι ορισμένοι μεσογειακοί ασθενείς διατηρούν υψηλούς τίτλους ιαμίας παρά την παρουσία αντισώματος anti-HBe έδωσε ώθηση για μελέτες που οδήγησαν στην ανακάλυψη των προπυρήνων μεταλλάξεων με ελαττωματική έκφραση HBeAg.^[490, 491]

Είναι πλέον σαφές ότι η εμφάνιση μεταλλαγμάτων προπυρήνα G1896A είναι ένα κοινό χαρακτηριστικό για τους περισσότερους ιικούς γονότυπους, καθώς βελτιώνει αντί να διαταράσσει ένα ζεύγος βάσεων στο σήμα ενθυλάκωσης του προγονιδιώματος.^[492] Ωστόσο, στους περισσότερους ασθενείς ο τίτλος της ιαμίας μειώνεται σημαντικά παρά την εμφάνιση τέτοιων «μεταλλαγμάτων ανοσολογικής διαφυγής». Ο λόγος για τον μειωμένο πολλαπλασιασμό του ιού στους περισσότερους ασθενείς παρά την προπυρηνική μετάλλαξη παραμένει άγνωστος.

Αν και τα μεταλλάγματα του πυρήνα προαγωγέα αναγνωρίστηκαν αρχικά ως παραλλαγές HBeAg, έχουν συσχετιστεί με κεραυνοβόλο ηπατίτιδα και καρκίνο του ήπατος *in vivo* και βρέθηκε ότι εμφανίζουν ενισχυμένη αντιγραφή και μερικές φορές μειωμένη έκκριση λοιμογόνου σωματιδίου *in vitro*.^[493] Είναι δελεαστικό να προτείνουμε ότι η ενισχυμένη ικανότητα αντιγραφής και η μειωμένη έκκριση ιοσωμάτων μπορεί να αυξήσουν το ιικό φορτίο στο ήπαρ, προκαλώντας έτσι ηπατική βλάβη είτε άμεσα είτε έμμεσα μέσω της ανοσολογικής απόκρισης.

Όταν συμβαίνει μαζική ηπατική βλάβη κατά τη διάρκεια οξείας λοίμωξης, μπορεί να επέλθει κεραυνοβόλος ηπατίτιδα. Όταν συμβαίνει μια τέτοια βλάβη κατά τη διάρκεια χρόνιας λοίμωξης, αυξάνει την κυκλοφορία των ηπατοκυττάρων, προκαλεί ίνωση και ενισχύει την πιθανότητα ηπατοκυτταρικού μετασχηματισμού και κακοήθειας. Αυτή η υπόθεση εξετάζεται καλύτερα σε ένα μοντέλο *in vivo*, όπως τα διαγονιδιακά ποντίκια HBV, αν και Δεν γνωρίζουμε εάν ο υψηλός φαινότυπος αντιγραφής των μεταλλαγμάτων του πυρήνα προαγωγέα θα διατηρηθεί στο ήπαρ του ποντικού.^[494]

Χρειάζεται επίσης να χαρακτηρίσουμε πιο φυσικά απαντώμενους μεταλλάκτες πυρήνα προαγωγέα για να προσδιορίσουμε Η ανάπτυξη της ανοσίας κατά του HBe μπορεί να θεωρηθεί ως σημείο καμπής στη μάχη μεταξύ του HBV και του ξενιστή του.

Όποιος κι αν είναι ο μηχανισμός, το αντίσωμα anti-HBe βοηθά στον έλεγχο της αναπαραγωγής του ιού σε πολύ μειωμένο επίπεδο. Σίγουρα, η πλήρης εκκαθάριση της αντιγραφής του HBV θα περίμενε την άνοδο του αντισώματος anti-HBs, το οποίο αποτρέπει την εξάπλωση της μόλυνσης από τον ιό. Η ασυνήθιστη παρατήρηση ότι ορισμένοι μεσογειακοί ασθενείς διατηρούν υψηλούς τίτλους ιαιμίας παρά την παρουσία αντισώματος anti-HBe έδωσε ώθηση για μελέτες που οδήγησαν στην ανακάλυψη των προπυρήνων μεταλλάξεων με ελαττωματική έκφραση HBeAg.^[495,496] Είναι πλέον σαφές ότι η εμφάνιση μεταλλαγμάτων προπυρήνα G1896A είναι ένα κοινό χαρακτηριστικό για τους περισσότερους ιικούς γονότυπους, καθώς βελτιώνει αντί να διαταράσσει ένα ζεύγος βάσεων στο σήμα ενθυλάκωσης του προγονιδιώματος.^[497]

Ωστόσο, στους περισσότερους ασθενείς ο τίτλος της ιαιμίας μειώνεται σημαντικά παρά την εμφάνιση τέτοιων «μεταλλαγμάτων ανοσολογικής διαφυγής». Ο λόγος για τον μειωμένο πολλαπλασιασμό του ιού στους περισσότερους ασθενείς παρά την προπυρηνική μετάλλαξη παραμένει άγνωστος.

Αν και τα μεταλλάγματα του πυρήνα προαγωγέα αναγνωρίστηκαν αρχικά ως παραλλαγές HBeAg, έχουν συσχετιστεί με κεραυνοβόλο ηπατίτιδα και καρκίνο του ήπατος *in vivo* και βρέθηκε ότι εμφανίζουν ενισχυμένη αντιγραφή και μερικές φορές μειωμένη έκκριση λοιμογόνου σωματιδίου *in vitro*. Είναι δελεαστικό να προτείνουμε ότι η ενισχυμένη ικανότητα αντιγραφής και η μειωμένη έκκριση ιοσωμάτων μπορεί να αυξήσουν το ιικό φορτίο στο ήπαρ, προκαλώντας έτσι ηπατική βλάβη είτε άμεσα είτε έμμεσα μέσω της ανοσολογικής απόκρισης. Όταν συμβαίνει μαζική ηπατική βλάβη κατά τη διάρκεια οξείας λοίμωξης, μπορεί να επέλθει κεραυνοβόλος ηπατίτιδα.

Όταν συμβαίνει μια τέτοια βλάβη κατά τη διάρκεια χρόνιας λοίμωξης, αυξάνει την κυκλοφορία των ηπατοκυττάρων, προκαλεί ίνωση και ενισχύει την πιθανότητα ηπατοκυτταρικού μετασχηματισμού και κακοήθειας. Αυτή η υπόθεση εξετάζεται καλύτερα σε ένα μοντέλο *in vivo*, όπως τα διαγονιδιακά ποντίκια HBV, αν και Δεν γνωρίζουμε εάν ο υψηλός φαινότυπος αντιγραφής των μεταλλαγμάτων του πυρήνα προαγωγέα θα διατηρηθεί στο ήπαρ του ποντικού. Χρειάζεται επίσης να χαρακτηρίσουμε πιο φυσικά απαντώμενους μεταλλάκτες πυρήνα προαγωγέα για να προσδιορίσουμε εάν η εξασθενημένη έκκριση ιοσωμάτων είναι ένα κοινό χαρακτηριστικό τέτοιων μεταλλαγμάτων.

13.3. Anti-HBs

Το αντίσωμα έναντι του αντιγόνου επιφανείας του ιού της ηπατίτιδας Β εμφανίζεται συνήθως μετά την παρέλευση 1 έως 4 μηνών από την εμφάνιση των κλινικών συμπτωμάτων και αποτελεί ένδειξη αποδρομής της νόσου και ακολούθως ανάπτυξης ανοσίας έναντι του HBV.^[498]

Πιθανόν το αντι-HBs να συντίθεται νωρίτερα στην πορεία της οξείας HBV λοίμωξης. Κυκλοφορούντα άνοσα συμπλέγματα, HBsAg και anti-HBs μπορούν να ανιχνεύονται στο τέλος του χρόνου επώασης και νωρίς στην οξεία φάση της νόσου. Κατά την περίοδο αυτή αντι-HBs δεν ανιχνεύεται σαν ελεύθερο κυκλοφορούν αντίσωμα επειδή το HBsAg παράγεται σε περίσσεια

Το αντι-HBs είναι εξουδερωτικό, προστατευτικό αντίσωμα. Αντιδρά με HBsAg στην επιφάνεια άθικτων HBV σωματίων (σωμάτιο Dane) και με το HBsAg που ευρίσκεται υπό μορφή σωληνοειδών σχηματισμών και σφαιρικών σωματιδίων 22nm.^[499]

Τα θετικά σε αντι-HBs άτομα είναι ανοσολογικά ικανά έναντι της λοίμωξης από τον HBV. Αυτή η ανοσία καθορίζεται από τα επίπεδα αντισωμάτων στην κυκλοφορία του αίματος μετά την επίλυση της φυσικής μόλυνσης ή μετά τον εμβολιασμό. Τα επίπεδα αντισωμάτων κατά του HBs έχουν παρατηρηθεί να μειώνονται κάτω από το προστατευτικό επίπεδο χρόνια μετά τη φυσική μόλυνση ή τον εμβολιασμό και υπάρχει λόγος να αμφιβάλλουμε ότι η προστατευτική ανοσία έναντι του HBV διατηρείται μετά από αυτό.^[500]

Έχουν αναφερθεί παράγοντες που επηρεάζουν τη διατήρηση των επιπέδων αντισωμάτων anti-HBs στην κυκλοφορία του αίματος.

Διατήρηση της ανοσίας στον HBV έχει αναφερθεί σε άτομα αρνητικά έναντι του HBs και σε άτομα με ανιχνεύσιμα αλλά χαμηλά επίπεδα μετά από φυσική μόλυνση ή μετά τον εμβολιασμό. Από την άλλη πλευρά, έχει επίσης παρατηρηθεί ανίχνευση αντισωμάτων anti-HBs χωρίς προστατευτική δράση. Η παρουσία ή η απουσία αντισωμάτων κατά του HBs στο πλαίσιο της ανοσίας του HBV έχει αποτελέσει αντικείμενο εκτενούς συζήτησης και κλινικού, εργαστηριακού και επιδημιολογικού ενδιαφέροντος.

ΠΙΝΑΚΑΣ. Αξιολόγηση του συνδυασμού παρουσίας των ορολογικών και ιολογικών δεικτών της HBV λοίμωξης

HBV-DNA	HBsAg	HBeAg	Αντι-HBc ολικό	Αντι-HBcIgM	Αντι-HBs	Αντι-HBe	Πιθανή ερμηνεία
-	-	-	-	-	-	-	Ευαίσθητο άτομο ή πολύ νωρίς στην επώαση
-	-	+/-	-	-	-	-	Πρώιμη επωαστική περίοδος της HBV λοίμωξης
+	+	+	+	+	-	-	Πρώιμο στάδιο οξείας HBV λοίμωξης
+/-	+	-	+	-	-	+	Χρόνιος φορέας HBsAg
+	+	+	+	-	-	-	Χρόνιος φορέας υψηλής μολυσματικότητας
-	+	-	+	+/-	-	+	Πρώιμο στάδιο αποδρομής της νόσου
-	-	-	-	+/-	-	+	
-	-	-	+	+/-	+	+/-	Πρόσφατη αποδρομή της νόσου(περίοδο παραθύρου)
-	-	-	+	-	+	+/-	Πρόσφατη αποδρομή και έναρξη ανοσοποίησης
-	-	-	+	-	-	+/-	Ανοσία έναντι του HBV, ένδειξη παλαιάς λοίμωξης Περίοδο παραθύρου, πιθανόν ψευδώς αντι -HBc χρονία HBV λοίμωξη με χαμηλού βαθμού παραγωγή HBsAg
-	-	-	-	-	+	-	Επιτυχής εμβολιασμός. χορήγηση υπεράνοσης γ-σφαιρίνης, προηγούμενη λοίμωξη από HBV με απώλεια του αντι-HBc

14. HBV-DNA (Μοριακές Τεχνικές)

Ο προσδιορισμός του **HBV-DNA** γίνεται με τη μέθοδο της κηλίδας(dot-blot),με υβριδισμό υγρής φάσης όπως και με την αλυσιδωτή αντίδραση της πολυμεράσης(PCR).

ΤΟ HBV-DNA εμφανίζεται ταυτόχρονα ή λίγες μέρες αργότερα από την εμφάνιση του HBeAg στον ορό.Τυπικά οι HBeAg(+) ασθενείς είναι και HBV-DNA(+). Τ ο HBV-DNA μαζί με το HBeAg και την HBV-DNA-πολυμεράση είναι δείκτες μολυσματικότητας και ενεργού πολλαπλασιασμού του ιού και ενδέχεται να μείνουν ανιχνεύσιμοι σε ασθενείς στους οποίους η νόσος μεταπίπτει σε χρόνια. ^[501] Η μείωση του τίτλου HBV-DNA είναι η πρώτη ένδειξη υποχώρησης της λοίμωξης είτε αυτομάτως είτε μετά από επιτυχή θεραπεία και προηγείται της εξαφάνισης του HBeAg. ^[502]

Πολύ πρόσφατα διαπιστώθηκε η ύπαρξη ενός αριθμού ποικιλιών του HBV, ορισμένες από τις οποίες χαρακτηρίζονται από μια μετάλλαξη στην προπυρηνική περιοχή (precore region) του γονιδιώματος του ιού, μετάλλαξη η οποία αναστέλλει την έκφραση του HBeAg. Κατά συνέπεια οι ασθενείς που είναι μολυσμένοι από τους ιούς αυτούς, ενδέχεται να είναι HBeAg –αρνητικοί και παρ' όλα να είναι μολυσματικοί και να παρουσιάζουν ενεργό πολλαπλασιασμό. Συνεπώς τα επίπεδα του HBV-DNA στον ορό αποτελούν τον πλέον ευαίσθητο δείκτη του συνεχιζόμενου ιικού πολλαπλασιασμού. ^[503]

Η ανίχνευση του HBV-DNA χρησιμεύει πρωτίστως για ερευνητικούς σκοπούς. Είναι δυνατόν να αποβεί μια σημαντική μέθοδος εκτίμησης της αποτελεσματικότητας της αντικής θεραπείας για την HBV λοίμωξη. ^[504]

15. ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ ΤΟΥ HBV

15.1. ΠΑΘΟΓΟΝΟΣ ΔΡΑΣΗ ΤΟΥ HBV

15.1.1. Οξεία Ηπατίτιδα Β

Ορολογία-χαρακτηριστικά της νόσου

Η οξεία Ηπατίτιδα χαρακτηρίζεται από οξεία φλεγμονή του ηπατικού παρεγχύματος ή τραυματισμό των ηπατοκυττάρων με αποτέλεσμα αυξημένους δείκτες ηπατικής λειτουργίας. Γενικά, η ηπατίτιδα ταξινομείται ως οξεία ή χρόνια με βάση τη διάρκεια της φλεγμονής και την προσβολή του ηπατικού παρεγχύματος. Εάν η περίοδος φλεγμονής ή ηπατοκυτταρικής βλάβης διαρκεί λιγότερο από έξι μήνες, που χαρακτηρίζεται από ομαλοποίηση των δοκιμασιών ηπατικής λειτουργίας, ονομάζεται οξεία ηπατίτιδα.^[505]

Αντίθετα, εάν η φλεγμονή ή η ηπατοκυτταρική βλάβη επιμένει πέραν των έξι μηνών, ονομάζεται χρόνια ηπατίτιδα. Η οξεία ηπατίτιδα είναι ένας όρος που χρησιμοποιείται για να περιγράψει μια ευρεία ποικιλία καταστάσεων που πιο κοινή λοιμώδης αιτία οξείας ηπατίτιδας είναι δευτερογενής σε ιογενή λοίμωξη (οξεία ιογενής ηπατίτιδα).^[506] Παρ'όλα αυτά, η οξεία ηπατίτιδα μπορεί να προκύψει από μια ευρεία ποικιλία μη μολυσματικών αιτιών που περιλαμβάνουν αλλά δεν περιορίζονται σε φάρμακα (ηπατίτιδα που προκαλείται από φάρμακα), αλκοόλ (αλκοολική ηπατίτιδα), ανοσολογική (αυτοάνοση ηπατίτιδα, πρωτοπαθής χολική χολαγγειίτιδα) ή ως αποτέλεσμα έμμεσης προσβολής δευτερογενούς δυσλειτουργίας της χοληφόρου οδού (χολοστατική ηπατίτιδα), ηπατική δυσλειτουργία που σχετίζεται με την εγκυμοσύνη, σοκ ή μεταστατική νόσο.^[507]

Η οξεία ηπατική φλεγμονή μπορεί να προκληθεί από πολλές μολυσματικές και μη μολυσματικές αιτίες, εκ των οποίων οι πιο κοινές αιτίες είναι δευτερογενείς σε ιογενή λοίμωξη ή ηπατική βλάβη που προκαλείται από φάρμακα. Παρακάτω είναι ένας κατάλογος κοινών αιτιών για οξεία ηπατίτιδα και οξεία ηπατική ανεπάρκεια.^[508, 509]

Λοιμώδη αίτια:

- **Ηπατοτροπικοί ιοί:**
 - Ιός ηπατίτιδας Α (HAV)
 - Ιός ηπατίτιδας Β (HBV)
 - Ιός ηπατίτιδας C (HCV)
 - Ιός ηπατίτιδας D (HDV)
 - Ιός ηπατίτιδας Ε (HEV)

- **Μη ηπατοτροπικός ιός:**
 - ο Ιός Epstein-Barr (EBV)
 - ο Κυτταρομεγαλοϊός (CMV)
 - ο Ιός απλού έρπητα (HSV)
 - ο Ιός Coxsackie
 - ο Αδενοϊός
 - ο Ιός δάγκειου πυρετού
 - ο Κορωνοϊός-19(COVID-19)
- **Βακτήρια, μύκητες και παράσιτα**

Τοξίνη ή αιτίες που σχετίζονται με ουσίες περιλαμβάνουν:

- **Σχετιζόμενα με το αλκοόλ:** λιπώδης ηπατική νόσος, οξεία αλκοολική ηπατίτιδα ή αλκοολική κίρρωση
- **Ναρκωτικά και τοξίνες**
 - ο Δοσοεξαρτώμενη, π.χ. ακεταμινοφαίνη (παρακεταμόλη)
 - ο Μη δοσοεξαρτώμενη, π.χ. ιδιοσυγκρασιακή αντίδραση φαρμάκου που συνήθως σχετίζεται με αντιβιοτικά και αντισπασμωδικά αλλά και στατίνες, ΜΣΑΦ, φυτικά / συμπληρώματα διατροφής
 - ο Άλλες τοξίνες, π.χ. *μανιτάρια (Amanita phalloides)*, φυτικά και διαιτητικά συμπληρώματα, τετραχλωράνθρακας, τσίμπημα θαλάσσιας ανεμώνης

Ανοσολογικές ή φλεγμονώδεις καταστάσεις

- Αυτοάνοση ηπατίτιδα
- Χολική νόσος όπως πρωτοπαθής χολική χολαγγειίτιδα ή πρωτοπαθής σκληρυντική χολαγγειίτιδα.

Μεταβολική ή κληρονομική

- Μη αλκοολική λιπώδης νόσος του ήπατος
- Αιμοχρωμάτωση
- Νόσος του Wilson

Σχετικά με την εγκυμοσύνη

- Προεκλαμψία
- Οξύ λιπώδες ήπαρ της εγκυμοσύνης
- Σύνδρομο HELLP

Ισχαιμικό και αγγειακό

- Καρδιογενές/Διανεμητικό σοκ
- Υπόταση
- Θερμοπληξία
- Κοκαΐνη, μεθαμφεταμίνη, εφεδρίνη
- Οξύ σύνδρομο Budd-Chiari
- Σύνδρομο ημιτονοειδούς απόφραξης

Διάφορος

- Οξύ λιπώδες ήπαρ της εγκυμοσύνης
- Κακοήθειας
- Εκλαμψία
- Σύνδρομο HELLP
- Σύνδρομο Reye

Επιδημιολογία

Η επιδημιολογία όλων των πιθανών αιτιών της οξείας ηπατίτιδας είναι πέρα από το πεδίο εφαρμογής αυτής της ανασκόπησης. Υπάρχουν ορισμένα δεδομένα αναφοράς για συγκεκριμένες καταστάσεις που προκαλούν οξεία ηπατίτιδα, ιδιαίτερα την ηπατοτροπική ιογενή ηπατίτιδα A (HAV), B (HBV), C (HCV), D (HDV) και E (HEV). Άλλες καταστάσεις που προκαλούν οξεία ηπατίτιδα είναι πιθανό να μην αναφέρονται επαρκώς, όπως μη ηπατοτροπικές ιογενείς λοιμώξεις, ηπατική βλάβη που προκαλείται από φάρμακα (DILI), αυτοάνοσες ασθένειες κ.λπ. Με βάση τα αναφερόμενα δεδομένα, η ιογενής και φαρμακευτική ηπατική βλάβη είναι οι πιο κοινές αιτίες οξείας ηπατίτιδας και οξείας ηπατικής ανεπάρκειας.^[510]

Γενικά, τα ποσοστά ιογενούς ηπατίτιδας είναι χαμηλά σε περιοχές υψηλού εισοδήματος και υψηλά σε περιοχές με φτωχούς πόρους. Η συχνότητα εμφάνισης του ιού της ηπατίτιδας A (HAV) έχει μειωθεί σημαντικά κατά περίπου 95% από την εισαγωγή του εμβολίου ηπατίτιδας A το 1995. Τα τελευταία πέντε χρόνια σημειώθηκε μικρή αύξηση των κρουσμάτων, κυρίως από μεμονωμένες εστίες που σχετίζονται με τρόφιμα, άτομα που κάνουν χρήση ναρκωτικών και άστεγο πληθυσμό. Όπως και η HAV, οι περιπτώσεις οξείας HBV έχουν μειωθεί σημαντικά από την εισαγωγή του εμβολίου το 1990.

Επί του παρόντος, η ηλικιακή ομάδα 40 ετών και άνω έχει το υψηλότερο ποσοστό οξείας ηπατίτιδας Β, που σχετίζεται με τους παράγοντες κινδύνου της χρήσης ενέσιμων ναρκωτικών, των πολλαπλών σεξουαλικών συντρόφων και της έλλειψης προηγούμενου εμβολιασμού. Η ηπατίτιδα C αυξάνεται σταθερά από το 2010, ιδίως στην ηλικιακή ομάδα 20 έως 40 ετών, η οποία θεωρείται δευτερεύουσα σε σχέση με τη χρήση ενέσιμων ναρκωτικών που σχετίζεται με την κρίση των οπιοειδών και τη βελτίωση της επιτήρησης.^[511]

Παγκοσμίως, ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας εκτιμά ότι 1 στους 3 ανθρώπους έχουν μολυνθεί είτε με HBV είτε με HCV. Σε περιοχές υψηλής ενδημίας, η HAV έχει επηρεάσει περισσότερο από το 90% των παιδιών μέχρι την ηλικία των 10 ετών. Και πάλι, η πλειονότητα των περιπτώσεων είναι σε περιοχές χαμηλού εισοδήματος.^[512]

Η πιο σοβαρή επιπλοκή της οξείας ηπατίτιδας είναι η οξεία ηπατική ανεπάρκεια που απαιτεί μεταμόσχευση ήπατος και σπάνια συμβαίνει με δεδομένα που αναφέρονται μόνο από κέντρα μεταμόσχευσης ήπατος. Αυτά τα κέντρα μπορεί να επιλέξουν έναν ασθενέστερο πληθυσμό ασθενών και να υποαναφέρουν ασθενείς που αναρρώνουν αυθόρμητα ή δεν έχουν πρόσβαση σε αυτά τα εξειδικευμένα κέντρα. Δεδομένων αυτών των περιορισμών, η επιδημιολογία της οξείας ηπατικής ανεπάρκειας ποικίλλει στις διάφορες χώρες.

Στο Ηνωμένο Βασίλειο, τις ΗΠΑ και την Αυστραλία, η ηπατική ανεπάρκεια που προκαλείται από φάρμακα από ακεταμινοφαίνη (παρακεταμόλη) προκαλεί το 39 έως 50% των περιπτώσεων, ενώ οι ηπατοτροπικοί ιοί προκαλούν μεταξύ 7 και 15% των περιπτώσεων. Σε παγκόσμιο επίπεδο, η ηπατίτιδα Α, Β και Ε πιθανώς προκαλεί τις περισσότερες περιπτώσεις οξείας ηπατικής ανεπάρκειας που αναφέρθηκαν ως 50% των περιπτώσεων στην Ιαπωνία, 68% των περιπτώσεων στην Ινδία και 91% των περιπτώσεων στο Μπαγκλαντές.^[513, 514]

Η φυσική πορεία της λοίμωξης από τον ιό της ηπατίτιδας Β και η προκύπτουσα ηπατική βλάβη καθορίζεται από το βαθμό αντιγραφής του ιού και την ένταση της ανοσοαπόκρισης του ξενιστή. Κατά την έκθεση στον ιό της ηπατίτιδας Β (HBV), τα άτομα με έντονη και ευρεία ανοσολογική απόκριση αναπτύσσουν οξεία αυτοπεριοριζόμενη λοίμωξη, η οποία μπορεί να οδηγήσει σε οξεία ηπατίτιδα. Ωστόσο, με αυστηρές δοκιμές για HBV και καθολικές προφυλάξεις, ο οξύς HBV είναι μάλλον σπάνιος. Η επανενεργοποίηση του HBV εμφανίζεται συχνότερα ως οξεία ηπατίτιδα Β (AVH-B) και κλινικά, είναι δύσκολο να διαφοροποιηθεί η AVH-B από την επανενεργοποίηση της χρόνιας ηπατίτιδας Β (CHB) και απαιτεί υψηλό δείκτη υποψίας.

Παρουσία υψηλού HBV DNA ($>2 \times 10^4$ IU/ml) η υποκείμενη ηπατική νόσος θα πρέπει να διερευνάται με βιοψία ήπατος, ενδοσκόπηση και/ή απεικόνιση. Ο βαθμός ηπατικής ανεπάρκειας συχνά εξαρτάται από τη σοβαρότητα της οξείας προσβολής και το στάδιο της υποκείμενης χρόνιας ηπατικής νόσου. Οι μεταλλάξεις στο γονιδίωμα του HBV, η ανοσοκατασταλτική θεραπεία και ο τραυματισμός που προκαλείται από ιούς ή φάρμακα είναι κοινές αιτίες επανενεργοποίησης. Καθώς οι περισσότεροι ασθενείς με AVH-B επιλύουν τη λοίμωξη αυθόρμητα, η αντική θεραπεία δεν ενδείκνυται σε αυτούς.^[515]

Αξιολόγηση

Κατά την αξιολόγηση ασθενών με οξεία ηπατίτιδα, είναι πολύ σημαντικό να γίνει διάκριση μεταξύ οξείας ηπατίτιδας και χρόνιας ηπατίτιδας. Οι βιοχημικές εξετάσεις όπως AST, ALT, αλκαλική φωσφατάση, GGT, γαλακτική αφυδρογονάση, χολερυθρίνη, PT/INR και λευκωματίνη καθορίζουν τη φυσιολογική λειτουργία του ήπατος και τυχόν ανωμαλίες σε αυτές τις εξετάσεις είναι ενδεικτικές βλάβης των ηπατοκυττάρων από μολυσματικά και μη λοιμώδη αίτια όπως περιγράφεται παραπάνω. Η πιθανή αιτιολογία και σοβαρότητα της ηπατοκυτταρικής βλάβης μπορεί να προσδιοριστεί με βάση την ανωμαλία μιας ή περισσότερων από αυτές τις βιοχημικές εξετάσεις που εμπλέκονται στην εκτέλεση μιας συγκεκριμένης ηπατικής λειτουργίας.^[516,517]

Επίσης, είναι πολύ σημαντικό να διατηρηθεί η υποψία για μια εξωηπατική διαδικασία που θα μπορούσε να συμβάλει σε μη φυσιολογικές δοκιμασίες ηπατικής λειτουργίας όπως εγκυμοσύνη, γαλακτική οξέωση, σηψαιμία και καρδιακή δυσλειτουργία.

Δείκτες μεταβολικών/καταβολικών δραστηριοτήτων ηπατοκυττάρων

- **Αυξημένη χολερυθρίνη ορού:** Συντίθεται κυρίως στα δικτυοενδοθηλιακά κύτταρα από τη διάσπαση των πρωτεϊνών που περιέχουν αίμη. Μπορεί να αυξηθεί ασυνήθιστα σε ασθένειες του ήπατος δευτερογενώς σε μειωμένη πρόσληψη, μειωμένη σύζευξη ή δευτερογενώς σε διαρροή από κατεστραμμένα ηπατοκύτταρα ή χοληφόρους πόρους.
- **Αυξημένη αμμωνία:** αυξάνεται επειδή το ήπαρ αποτυγχάνει να μεταβολίσει την αμμωνία.

Δείκτες που υποδηλώνουν ηπατοκυτταρική βλάβη

- **Η αύξηση των τρανσαμινασών ορού** όπως οι αμινοτρανσφεράσες, η ασπαρτική αμινοτρανσφεράση (AST), που ονομάζεται επίσης γλουταμική-οξαλοξική

τρανσαμινάση ορού (SGOT) και η αμινοτρανσφεράση της αλανίνης (ALT), που ονομάζεται επίσης γλουταμινική πυροσταφυλική τρανσαμινάση ορού (SGPT) υποδηλώνει ηπατοκυτταρική βλάβη.

- ο Σημαντικές αυξήσεις μεγαλύτερες από πέντε φορές το ανώτατο φυσιολογικό όριο ή μεγαλύτερες από 500 IU/L υποδηλώνουν εκτεταμένη ηπατοκυτταρική βλάβη. Συναντάται συνήθως σε οξεία ηπατίτιδα, ηπατική βλάβη που προκαλείται από φάρμακα, όπως υπερβολική δόση ακεταμινοφαίνης, βαθιά ισχαιμία στο ήπαρ, ηπατική νέκρωση ή περιπτώσεις σοβαρής αυτοάνοσης ηπατίτιδας.
- ο Ηπιότερες αυξήσεις θεωρούνται λιγότερο από πέντε φορές το ανώτατο φυσιολογικό όριο ή λιγότερο από 500 IU / L και μπορεί να προκύψουν από μια ποικιλία ηπατικών τραυματισμών ή διαταραχών. Ορισμένες από αυτές τις διαταραχές μπορεί να επικαλύπτονται με οξείες αιτίες, αλλά συχνά σχετίζονται με πιο χρόνια ηπατίτιδα ή μη ηπατικά αίτια, παραδείγματα των οποίων περιλαμβάνουν φλεγμονή που σιγοκαίει από αυτοάνοσες διαταραχές, αιμοχρωμάτωση, νόσο Wilson, ανεπάρκεια άλφα-1 αντιθρυψίνης, αλκοολική ηπατική νόσο, μη αλκοολική λιπώδη ηπατική νόσο και ηπατική βλάβη που προκαλείται από φάρμακα.

Δείκτες ηπατικής βλάβης δευτερογενούς στη χολόσταση

- Η αύξηση της αλκαλικής φωσφατάσης (AP) και της γ-γλουταμυλοτρανσφεράσης (GGT) αντικατοπτρίζει την υποκείμενη χολόσταση δευτερογενή στην εξασθενημένη ικανότητα του ήπατος να εκκρίνει χολή, η οποία μπορεί να είναι δευτερογενής σε διάφορες ενδοηπατικές ή εξωηπατικές αιτίες. Συχνές αιτίες περιλαμβάνουν χοληδολιθίαση, κακοήθεια, πρωτοπαθή χολική κίρρωση, ή πρωτοπαθή σκληρυντική χολαγγειίτιδα.

Δείκτες συνθετικής λειτουργίας

- **Αυξημένος χρόνος προθρομβίνης (PT):** Αυτό συμβαίνει όταν η ηπατική βλάβη οδηγεί σε μειωμένη συνθετική λειτουργία των εξαρτώμενων από τη βιταμίνη K παραγόντων πήξης (II, VII, IX, X). Η παράταση της διεθνούς ομαλοποιημένης αναλογίας (INR) περισσότερο από 1,5 θεωρείται κακό προγνωστικό σημάδι και βασικό συστατικό για τη διάγνωση οξείας ηπατικής ανεπάρκειας.^[518] Η παράταση του PT/INR συμβαίνει μέσα σε λίγες ώρες έως ημέρες από ηπατική βλάβη, καθιστώντας τον καλύτερο δείκτη από την αλβουμίνη για τον προσδιορισμό της συνθετικής λειτουργίας του ήπατος.

- **Μειωμένη αλβουμίνη:** Αυτό δεν είναι ειδικό για ηπατική βλάβη και η χρησιμότητά του στη διάγνωση της οξείας ηπατίτιδας είναι περιορισμένη. Αυτές οι εξετάσεις μπορεί να γίνουν ανώμαλες μέσα σε λίγες μέρες, καθιστώντας αυτό έναν καλύτερο δείκτη για οξεία ηπατική δυσλειτουργία από την αλβουμίνη.

Αν και οι δοκιμασίες ηπατικής λειτουργίας δίνουν μια αρχική ιδέα για την πιθανή αιτιολογία και τη σοβαρότητα της υποκείμενης ηπατοκυτταρικής βλάβης, συνιστάται περαιτέρω αξιολόγηση με ειδικές διαγνωστικές εξετάσεις για να εξακριβωθεί η αιτιολογία της οξείας ηπατίτιδας. Με βάση τις κατευθυντήριες οδηγίες που δημοσιεύθηκαν από το Αμερικανικό Κολέγιο Γαστρεντερολογίας (ACG) για την αξιολόγηση ασθενών με μη φυσιολογικές δοκιμασίες ηπατικής λειτουργίας.^[519] Η αρχική προσέγγιση εξαρτάται από το βαθμό ανύψωσης των ALT και AST.

- **Ήπια αύξηση των τρανσαμινασών ορού (<5 φορές το ανώτατο φυσιολογικό όριο):** Οι κατευθυντήριες οδηγίες ACG συνιστούν τον έλεγχο μιας γενικής αίματος, AST, ALT, αλκαλικής φωσφατάσης, ολικής χολερυθρίνης, λευκωματίνης, PT / INR, περιεκτικής ομάδας ηπατίτιδας που περιλαμβάνει αντίσωμα ηπατίτιδας A IgM, επιφανειακό αντιγόνο ηπατίτιδας B, αντισωμάτων πυρήνα ηπατίτιδας B (IgM), επιφανειακό αντίσωμα ηπατίτιδας B και αντίσωμα ηπατίτιδας C και πάνελ σιδήρου (σίδηρος ορού, ολική ικανότητα δέσμευσης σιδήρου, κορεσμός τρανσφερρίνης ορού και φερριτίνη ορού) και απεικόνιση με κοιλιακή υπερηχογραφική εξέταση.
- **Σοβαρή αύξηση των τρανσαμινασών ορού (>15 φορές το ανώτερο φυσιολογικό όριο) ή μαζικές (ALT πάνω από 10000 U/L) αυξήσεις:** Οι κατευθυντήριες γραμμές ACG συνιστούν τον έλεγχο για τον ιό Epstein-Barr (EBV), τον κυτταρομεγαλοϊό (CMV), την κερουλοπλασμίνη, αυτοάνοσους δείκτες (αντιπυρηνικά αντισώματα, αντισώματα κατά των λείων μυών, μικροσωμικά αντισώματα κατά του ήπατος / νεφρού, IgG), δοκιμή πάνελ φαρμάκων που περιλαμβάνει ακεταμινοφαίνη και τοξικολογία ούρων. Οι κατευθυντήριες γραμμές συνιστούν επίσης την εκτέλεση μιας υπερηχογραφικής μελέτης *Doppler* της ηπατικής φλέβας, της πυλαίας φλέβας και της ηπατικής αρτηρίας για να αποκλειστεί η αγγειακή απόφραξη, π.χ. Σύνδρομο Budd-Chiari.
- **Απεικόνισης:** Ο υπερηχογραφικός έλεγχος κοιλίας είναι η καλύτερη αρχική επιλογή απεικονιστικής μελέτης σε ασθενείς που παρουσιάζουν εργαστηριακές ανωμαλίες που υποδηλώνουν χολόσταση. Τα ευρήματα της διάταξης των χοληφόρων υποδηλώνουν εξωηπατικά αίτια χολόστασης (χολόλιθοι ή μάζες), ενώ η απουσία

διάτασης των χοληφόρων πόρων υποδηλώνει ενδοηπατικά αίτια χολόστασης όπως ηπατική βλάβη που προκαλείται από φάρμακα, PBC και PSC.^[520]

- **Βιοψία ήπατος:** Αν και δεν εκτελείται συστηματικά, η βιοψία ήπατος ενδείκνυται εάν η διάγνωση δεν είναι σαφής, όπως ασθενείς που παρουσιάζουν άτυπα κλινικά χαρακτηριστικά, συνυπάρχουσα χρόνια ηπατική νόσο, ασαφή εκτεταμένη βιοχημική εξέταση, πυρετό άγνωστης προέλευσης και ανωμαλίες σε απεικονιστικές μελέτες αβέβαιης αιτιολογίας. Οι συνήθεις μέθοδοι βιοψίας ήπατος περιλαμβάνουν διαδερμικές, CT/US-καθοδηγούμενες, διασφαγιτιδικές (διαφλέβιες) και ενδοσκοπικές υπερηχογραφικές (EUS) καθοδηγούμενες βιοψίες.^[521]

Η διάγνωση της οξείας ηπατίτιδας B βασίζεται στην ανίχνευση των HBsAg και IgM anti-HBc. Κατά την αρχική φάση, υπάρχουν δείκτες αντιγραφής του HBV, HBeAg και HBV DNA. Η επίλυση της λοίμωξης συνοδεύεται από την εξαφάνιση του HBV DNA, της ορομετατροπής HBeAg σε anti-HBe και στη συνέχεια ορομετατροπής HBsAg σε anti-HBs. Καθώς η οξεία ηπατίτιδα B υποχωρεί, το anti-HBe εμφανίζεται μετά το anti-HBc, αλλά πριν από τα anti-HBs. Συνήθως εξαφανίζεται νωρίτερα από τα αντι-HB.

Οι ασθενείς σπάνια παρουσιάζονται κατά την περίοδο παραθύρου όταν το HBsAg έχει γίνει αρνητικό, αλλά τα αντι-HB δεν είναι ακόμη θετικά. Σε αυτό το πλαίσιο, το οποίο είναι πιο συχνό σε ασθενείς με κεραυνοβόλο ηπατίτιδα B με ταχεία κάθαρση, το IgM anti-HBc είναι ο μοναδικός δείκτης οξείας λοίμωξης HBV.

Κατά τη διάρκεια της οξείας μόλυνσης, οι συγκεντρώσεις HBsAg αυξάνονται εκθετικά για εβδομάδες έως μήνες από μη ανιχνεύσιμες σε τυπικές τελικές συγκεντρώσεις 10 000–100 000 ng/ml με χρόνο διπλασιασμού 2–4 ημερών.^[522] Εάν ο οξύς HBV υποχωρήσει, το HBsAg μειώνεται με αρχικό χρόνο ημιζωής 8 ημερών έως ότου εξαφανιστεί εντελώς από τον ορό μετά από εβδομάδες έως μήνες. Στο 25% περίπου των περιπτώσεων οξείας ηπατίτιδας B που υποχωρεί, το HBsAg εξαφανίζεται πολύ πιο γρήγορα, έτσι ώστε τα δείγματα που λαμβάνονται στην όψιμη οξεία φάση μπορεί να είναι αρνητικά HBsAg.^[524]

Μια μείωση στις συγκεντρώσεις του HBsAg κατά περισσότερο από 50% μέσα στις πρώτες 4 εβδομάδες υποδηλώνει την επίλυση της οξείας λοίμωξης σε >95% των περιπτώσεων.^[525] Ως εκ τούτου, η ποσοτική ανάλυση του υψηλής συγκέντρωσης HBsAg είναι ένας εξαιρετικός προγνωστικός δείκτης, που υποδεικνύει εξέλιξη σε χρονιότητα εάν οι τιμές παραμείνουν σταθερές ή αυξηθούν.

Η ανοσοσφαιρίνη Anti-HBc [IgM anti-HBc] μπορεί να είναι χρήσιμη σε δύο περιπτώσεις: (α) για τη διάκριση της οξείας ηπατίτιδας που προκαλείται από HBV από μια ηπατίτιδα διαφορετικής αιτιολογίας σε έναν ασθενή με χρόνια λοίμωξη HBV. και (β) για τον εντοπισμό οξείας ηπατίτιδας σε ορισμένους ασθενείς με ηπατίτιδα B, ιδιαίτερα σε αυτούς με κεραυνοβόλο ηπατίτιδα B ή συνλοίμωξη HDV, όπου το HBsAg μπορεί να έχει εξαλειφθεί πολύ γρήγορα. Η κυρίαρχη ανοσοαπόκριση TH1 στο AVH-B ευνοεί την κυτταρομεσολαβητική ιική κάθαρση, ενώ η προκαλούμενη από TH2 ανοσοαπόκριση στο CHB ευνοεί την παραγωγή αντισωμάτων.

Τα αντιγόνα HBV προκαλούν ηπατική βλάβη που προκαλείται από ανοσοποιητικό με δοσοεξαρτώμενο τρόπο. Επομένως^[525] οι εξετάσεις πρέπει να είναι ποσοτικές γιατί το anti-HBc IgM είναι επίσης θετικό στη χρόνια ηπατίτιδα B και κατά τη διάρκεια της ανάρρωσης. Επίπεδα >600 μονάδες Paul–Ehrlich/mL ή IgM anti-HBc (>1:1000) υποδηλώνουν οξεία λοίμωξη HBV με υψηλή φλεγμονώδη δράση.^[526] Σε όλες τις άλλες περιπτώσεις, οι συγκεντρώσεις είναι χαμηλότερες ή μη ανιχνεύσιμες.

Σε μια ελληνική μελέτη,^[527] το IgM anti-HBc χαμηλού μοριακού βάρους (7–8S) παρατηρήθηκε πιο συχνά σε υπερ-λοίμωξη από HDV και σχετιζόταν με χαμηλή θνησιμότητα. Από την άλλη πλευρά, το 19S IgM anti-HBc παρατηρήθηκε πιο συχνά στην αυθόρμητη επανενεργοποίηση της χρόνιας ηπατίτιδας B και σχετιζόταν με υψηλή θνησιμότητα.

15.1.1.1. Πρόδρομη φάση

Η Πρόδρομη ή προικτερική φάση διαρκεί από ημέρες έως περισσότερο από μία εβδομάδα και προηγείται της εκδηλώσεως του ίκτερου. Στη φάση αυτή περισσότερο από 50% των ασθενών εμφανίζει ελαφρύ πυρετό, κόπωση, μυαλγία, ανορεξία, ναυτία, εμέτους. Η ανορεξία είναι ένα από τα πιο συχνά συμπτώματα και η παρουσία μόνο της τροφής προκαλεί αηδία. Επίσης, απέχθεια για κάπνισμα και άλλες οσμές. Δυσκοιλιότητα ή διάρροια εμφανίζεται στο ¼ των ασθενών.^[528] Στους ενήλικες και τα μεγάλα παιδιά παρατηρείται κάποιος πόνος στο άνω τεταρτημόριο της κοιλιακής χώρας, λόγω της ηπατομεγαλίας που προηγείται του ίκτερου.

15.1.1.2. Ικτερική φάση

Τα ούρα γίνονται σκουρόχρωμα καφέ στους ασθενείς με ίκτερο και αυτό συμβαίνει μία ή μερικές ημέρες πριν την εμφάνιση του ικτέρου στα μάτια ή στο δέρμα. Ακολουθούν οι

βλεννογόνοι και το δέρμα. Αποχρωματισμός κοπράνων παρατηρείται την πρώτη εβδομάδα του ικτέρου σε 20-40% των ασθενών με ίκτερο. Η επανεμφάνιση φυσιολογικών κοπράνων είναι σημείο ανάρρωσης.^[529]

Μετά την εμφάνιση του ικτέρου τα συμπτώματα μειώνονται και η θερμοκρασία του ασθενούς επανέρχεται στο φυσιολογικό. Το ήπαρ είναι ψηλαφητό σε 70% των ασθενών και ο σπλήνας σε 20%. *Η ικτερική φάση διαρκεί μία έως 4 εβδομάδες και ακολουθεί ανάρρωση.

15.1.1.3. Κεραυνοβόλος ηπατίτιδα B

Ο HBV παραμένει μια σημαντική αιτία κεραυνοβόλου ηπατίτιδας (FH). Μπορεί να προκαλέσει μεταξύ 5 και 18% των περιπτώσεων κεραυνοβόλου ηπατίτιδας (FH) στην Ευρώπη, μεταξύ 13 και 15% στο Μπαγκλαντές και την Ινδία και 22% των περιπτώσεων FH στο Σουδάν. Στις ΗΠΑ, το HBV αντιπροσωπεύει μόνο το 7% των περιπτώσεων FH. Στη Γαλλία, ο HBV ήταν η δεύτερη πιο κοινή αιτία FH που απαιτούσε οι ασθενείς να καταγραφούν για επείγουσα LT μεταξύ 1998 και 2010 (12,7%), μετά την παρακεταμόλη (22,2%).^[530]

Σχετιζόμενη με τον HBV FH μπορεί να εμφανιστεί σε ασθενείς που δεν είχαν προηγούμενη επαφή με τον ιό (πρωτοπαθής λοίμωξη) και σε εκείνους που πάσχουν από χρόνια λοίμωξη από HBV. Σε αυτή την τελευταία περίπτωση, η ALF οφείλεται σε επιδείνωση (έξαρση) του χρόνιου HBV (επανενεργοποίηση), είτε αυθόρμητα είτε μετά την έναρξη ή τη διακοπή της ανοσοκατασταλτικής θεραπείας.

Ενώ οι οξείες λοιμώξεις από HBV τείνουν να μειώνονται, οι επανενεργοποιήσεις του HBV αυξάνονται λόγω των πολυάριθμων ανοσοκατασταλτικών θεραπειών που ξεκινούν σε ασθενείς που παρουσιάζουν συμπαγείς ή αιματολογικούς κακοήθεις όγκους.^[531] Ο κίνδυνος αυτός είναι ακόμη υψηλότερος σε περιοχές όπου ο HBV είναι ενδημικός.^[532] Επομένως, ο κανόνας είναι να ελέγχονται συστηματικά οι ασθενείς που έχουν μολυνθεί από τον HBV και οι οποίοι διατρέχουν κίνδυνο επανενεργοποίησής του πριν ξεκινήσουν οποιαδήποτε χημειοθεραπεία ή άλλη ανοσοκατασταλτική θεραπεία.

Η πορεία της ηπατίτιδας B διαφέρει ως συνάρτηση της ηλικίας. Ο κίνδυνος χρονιότητας έχει αποδειχθεί ότι είναι πολύ υψηλός σε περίπτωση νεογνικής λοίμωξης (> 90%) και μειώνεται σημαντικά σε μη ανοσοκατεσταλμένους νεαρούς ενήλικες (< 5%).^[533] Ωστόσο, υπάρχει πολύ υψηλότερος κίνδυνος κεραυνοβόλου HBV σε νεαρούς ενήλικες.

Η λοίμωξη από HBV μπορεί να εμφανίσει διάφορους κλινικούς φαινότυπους. Μπορεί να είναι ασυμπτωματική ή ραυκίσυμπτωματική, χωρίς ή χωρίς τρανσαμινάσες, ή αντίθετα προκαλούν οξεία ηπατική βλάβη (ALI) ή κεραυνοβόλο ηπατίτιδα.

Μια μελέτη περιπτώσεων ελέγχου αξιολόγησε τους παράγοντες κινδύνου για μια κορυφαία πορεία σε ένα ξέσπασμα μεταξύ χρηστών ενέσιμων ναρκωτικών. Σε σύγκριση με τους ασθενείς ελέγχου, οι ασθενείς με περιστατικά ήταν πιο πιθανό να είχαν χρησιμοποιήσει ακεταμινοφαίνη κατά τη διάρκεια της ασθένειάς τους ($P = 0,08$), να χρησιμοποιούσαν περισσότερο αλκοόλ και μεθαμφεταμίνη και να έχασαν περισσότερο βάρος τους έξι μήνες πριν από την ασθένεια. Επιπλέον, και τα εννέα απομονωμένα στελέχη ήταν γονότυπου D.^[534]»

Μια πιο ολοκληρωμένη μελέτη από την Ομάδα Μελέτης Οξείας Ηπατικής Ανεπάρκειας των ΗΠΑ που συνέκρινε 34 ασθενείς με σχετιζόμενη με τον HBV οξεία ηπατική ανεπάρκεια με μια ομάδα 530 ασθενών με χρόνια λοίμωξη HBV έδειξε υψηλότερο επιπολασμό του γονότυπου D στην ομάδα οξείας ηπατικής ανεπάρκειας (32% έναντι. 16%) ακόμη και μετά την αντιστοίχιση για τη φυλή και την κατάσταση HBeAg.^[535]

Αυτά τα αποτελέσματα υποδεικνύουν ότι οι γονότυποι του HBV μπορεί να παίζουν ρόλο στην έκβαση της οξείας μόλυνσης. Η οξεία ηπατική βλάβη (ALI) ορίζεται από INR υψηλότερο από 1,5 χωρίς σχετιζόμενη ηπατική εγκεφαλοπάθεια.

Κεραυνοβόλος ηπατίτιδα (FH) ή οξεία ηπατική ανεπάρκεια (ALF) ορίζεται από ένα INR $> 1,5$ και την παρουσία ηπατικής εγκεφαλοπάθειας, αλλά την απουσία χρόνιας, υποκείμενης (ή προηγούμενης) νόσου. Ο χρόνος μέχρι την εμφάνιση της νόσου πρέπει να είναι μικρότερος από 26 εβδομάδες.^[536] Η FH HVV είναι συχνότερη στην υπεροξεία ALF (ίκτηρος-εγκεφαλοπάθεια για λιγότερο από 7 ημέρες) ή ALF (ίκτηρος-εγκεφαλοπάθεια για λιγότερο από 2 μήνες) από ό, τι στην υποξεία ALF (ίκτηρος-εγκεφαλοπάθεια > 2 μήνες).

Μια οξεία επιδείνωση της χρόνιας λοίμωξης από HBV (επανενεργοποίηση) μπορεί να αναπτυχθεί με τη μορφή κεραυνοβόλου ηπατίτιδας (ταχύτητα της πορείας της, πολυοργανική ανεπάρκεια, εγκεφαλικό οίδημα κλπ.). Ως αποτέλεσμα, παρόλο που αυτή η οντότητα δεν αποτελεί μέρος του ορισμού του ALF ή του FH, είναι παρόμοια λόγω του προοδευτικού προφίλ της.

Η επανενεργοποίηση του HBV ορίζεται από την αύξηση των επιπέδων HBV DNA κατά περισσότερο από 1 log σε έναν ασθενή που είχε προηγουμένως παρουσιάσει θετικό HBV DNA ή την επανεμφάνιση του HBV DNA σε έναν ασθενή του οποίου το ιικό φορτίο ήταν προηγουμένως αρνητικό.

Σε ποσοστό 50% περίπου των περιπτώσεων που καταλήγουν σε θάνατο, η κύρια αιτία θανάτου είναι η ανάπτυξη μη αναστρέψιμου εγκεφαλικού οιδήματος.^[537] Η εμφάνιση της κευρανοβόλου ηπατίτιδας Β εμφανίζεται περίπου στο 1% των ασθενών με οξεία συμπτωματική HBV λοίμωξη.^[538] Τα προπυρηνικά μεταλλαγμένα στελέχη του HBV σχετίζονται συχνότερα με την εμφάνιση κευρανοβόλου ηπατίτιδας, παρά τα φυσικά στελέχη του ιού.^[539]

Στις περισσότερες περιπτώσεις κευρανοβόλου HBV, το HBV δεν ανιχνεύεται στον ορό, γεγονός που σημαίνει απουσία ιικού πολλαπλασιασμού.^[540]

Εξωηπατικές εκδηλώσεις παρατηρούνται σε ένα ποσοστό 10-20% των ασθενών. Παροδικό ερύθημα μπορεί να εμφανιστεί σε μικρό αριθμό ασθενών. Επίσης αρθρίτιδα η οποία φαίνεται ότι οφείλεται σε εναπόθεση ανώσων συμπλεγμάτων αντιγόνων-αντισωμάτων του HBV σε αγγεία δέρματος.*Λεμφανεδοπάθεια είναι συχνή και η ηπατίτιδα είναι συνήθως ανικτερική.

15.1.1.4. Χρόνια HBV λοίμωξη (Χρόνια ηπατίτιδα Β)

Η χρόνια λοίμωξη με τον ιό της ηπατίτιδας Β (HBV) είναι η πιο κοινή αιματογενής λοίμωξη και η κύρια αιτία ηπατικής νόσου παγκοσμίως. Επηρεάζει σχεδόν 300 εκατομμύρια ανθρώπους παγκοσμίως και προκαλεί 884.000 θανάτους κάθε χρόνο από καρκίνο του ήπατος και κίρρωση.^[540,541] Ενώ το ~4% του παγκόσμιου πληθυσμού ζει με χρόνια ηπατίτιδα Β (CHB), ο επιπολασμός της δεν είναι ομοιόμορφα κατανεμημένος. Οι οριζόμενες από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας περιοχές της Αφρικής, του Δυτικού Ειρηνικού, της Ευρώπης, της Ανατολικής Μεσογείου, της Νοτιοανατολικής Ασίας και της Αμερικής έχουν εκτιμήσει τα ποσοστά επικράτησης της CHB σε 8,8, 5,3, 3,0, 2,1, 1,9 και 0,8% αντίστοιχα.^[542] Υπάρχει αξιοσημείωτη διακύμανση στον επιπολασμό μεταξύ και εντός των χωρών κάθε περιοχής, με τη CHB να επηρεάζει δυσανάλογα άτομα που ζουν σε φτωχές κοινωνικοοικονομικές περιοχές και ευάλωτους πληθυσμούς (π.χ. άτομα που είναι έγκλειστοι και χρήστες ενέσιμων ναρκωτικών), πιθανόν λόγω ανεπαρκούς πρόσβασης σε υπηρεσίες υγείας και κίνδυνος έκθεσης.^[543, 544, 545, 546]

Ως χρόνια ηπατίτιδα Β ορίζεται η ηπατίτιδα στην οποία η λοίμωξη επιμένει πέρα των 6 μηνών λόγω αδυναμίας του ανοσολογικού συστήματος να καθαρίσει τον ιό από τον οργανισμό. Οι ασθενείς λοιπόν που διατηρούν το HBsAg στον ορό τους πάνω από 6 μήνες, μετά από οξεία λοίμωξη θεωρούνται χρόνιοι φορείς του HBV.^[547]

Το 2017, η Ευρωπαϊκή Ένωση για τη Μελέτη του Ήπατος (EASL) πρότεινε μια νέα ταξινόμηση για τη χρόνια λοίμωξη HBV. Η ταξινόμηση περιλαμβάνει τέσσερα κύρια στάδια, τα οποία δεν είναι απαραίτητα διαδοχικά, και ένα επιπλέον πέμπτο στάδιο για την κρυφή λοίμωξη από HBV (OBI) (Τραπέζι 1).^[548]

Ως εκ τούτου, ο ιός συνεχίζει να σκοτώνει πάνω από 700.000 ανθρώπους ετησίως. Είναι σημαντικό ότι ο αριθμός των ασθενειών του ήπατος τελικού σταδίου που προκαλούνται από τον HBV και των καρκίνων του ήπατος αυξάνεται, κατατάσσοντας τον HBV ως μία από τις πιο κοινές αιτίες θανάτου παγκοσμίως.¹

Το πρώτο στάδιο αναφέρεται σε χρόνια λοίμωξη με θετικά αντιγόνα περιβλήματος ηπατίτιδας B (HBeAg), υψηλά επίπεδα HBV DNA και φυσιολογικά επίπεδα ασπαρτικής-αμινοτρανσφεράσης (AST) και αλανίνης-αμινοτρανσφεράσης (ALT).

Το δεύτερο στάδιο είναι η χρόνια ηπατίτιδα με θετικό HBeAg, χαμηλό επίπεδο HBV DNA και κυμαινόμενα επίπεδα ALT και AST.

Το τρίτο στάδιο αναφέρεται σε χρόνια λοίμωξη με αρνητικό HBeAg, ασθενή αντιγραφή του HBV και φυσιολογικά επίπεδα ALT και AST (ανενεργοί φορείς). Το τέταρτο στάδιο είναι η χρόνια ηπατίτιδα με αρνητικό HBeAg και κυμαινόμενα επίπεδα HBV DNA, AST και ALT.

New classification of the phases of HBV infection.

	<i>Positive HBeAg</i> <i>Chronic Infection Chronic</i> <i>Hepatitis</i>		<i>Negative HBeAg</i> <i>Chronic Infection Chronic</i> <i>Hepatitis</i>		<i>Occult</i> <i>HBV</i> <i>Infection</i>
HBsAg	High	High/Intermediate	Low	Intermediate	Negative
HBV DNA¹	≥10 ⁷ IU/mL	10 ⁴ –10 ⁷ IU/mL	<2000 IU/mL	>2000 IU/mL	Positive
ALT/AST	Normal	Elevated	Normal	Elevated	Normal
Liver disease	None/Minimal	Moderate/Severe	None	Moderate/Severe	Variable
Old terminology	Immune tolerant	Immune reactive HBeAg positive	Inactive carrier	HBeAg negative chronic hepatitis	/

¹ HBV DNA in blood HBsAg: Hepatitis B surface Antigen; HBeAg: soluble antigen “e”; HBV DNA: Hepatitis B deoxyribonucleic acid; ALT: alanine-aminotransferase; AST: aspartate-aminotransferase; IU: International Units.

Η μετάδοση του ιού γίνεται κατά την περιγενέθλια φάση,τη σεξουαλική επαφή και την παρεντερική οδό(ειδικά των χρηστών ενδοφλέβιων ουσιών και παρόλο που τα προϊόντα αίματος συνιστούν ένα παράγοντα κινδύνου μετάδοσης, η περίπτωση αυτή είναι πολύ σπάνια στις Δυτικές χώρες). Μόνο ένα πολύ μικρό μέρος των προσβληθέντων ενηλίκων αναπτύσσουν χρόνια ηπατίτιδα αλλά στα παιδιά κάτω του 1 έτους,το ποσοστό αγγίζει το 90%.

Γενικά, η διάγνωση της CHB γίνεται χρόνια έως δεκαετίες μετά την αρχική λοίμωξη λόγω μιας μακράς ασυμπτωματικής φάσης (συχνά διαρκεί μέχρι τα τελευταία στάδια της ηπατικής νόσου όταν είναι διαθέσιμη περιορισμένη θεραπεία). Ακόμα κι αν η διάγνωση γίνει έγκαιρα, ο κίνδυνος εξέλιξης της νόσου δεν εξαλείφεται εντελώς, αλλά μειώνεται μόνο με τις τρέχουσες θεραπείες (οι οποίες καταστέλλουν την αναπαραγωγή του ιού χωρίς να καθαρίζουν τα μολυσμένα κύτταρα).^[550] Επί του παρόντος δεν υπάρχει θεραπεία για τη CHB.

Η Πορεία της χρόνιας ηπατίτιδας ποικίλλει. Οι χρόνιοι φορείς δίχως ενεργή ηπατοπάθεια ή βακτηριακή αντιγραφή γενικά εμφανίζουν μια ήπια πορεία με πολύ μικρή πιθανότητα να εξελιχθεί σε κίρρωση ήπατος. Οι ασθενείς που συνεχίζουν να εμφανίζουν υψηλά επίπεδα του HBV DNA και του HBeAg στον ορό μπορεί να φθάσουν στο τελευταίο στάδιο ηπατοπάθειας.^[551]

Οι άντρες καθίστανται χρόνιοι φορείς περισσότερο από τις γυναίκες.^[552] Επίσης ιδιαίτερο κίνδυνο μετάπτωσης της λοίμωξης σε χρόνια διατρέχουν άτομα που εμφανίζουν ανοσοκαταστολή, άτομα που υπόκεινται σε αιμοκάθαρση, που έχουν υποβληθεί σε μεταμόσχευση νεφρού,^[553] παιδιά τα οποία πάσχουν από το σύνδρομο Down, ασθενείς που πάσχουν από λευχαιμία και ομοφυλόφιλοι με HIV λοίμωξη.^[554]

Λαμβάνοντας υπόψη την παρουσία του HBeAg, των επιπέδων του HBV DNA, των τιμών της αμινοτρανσφεράσης της αλανίνης (ALT) και επίσης την ύπαρξη ή απουσία φλεγμονής του ήπατος, η χρόνια λοίμωξη από HBV μπορεί να ταξινομηθεί σε πέντε στάδια:

i) HBeAg-θετική χρόνια λοίμωξη HBV χαρακτηρίζεται από την παρουσία HBeAg ορού, πολύ υψηλά επίπεδα HBV DNA (>107 IU/ml) και ALT εντός του φυσιολογικού εύρους. Στο ήπαρ, δεν υπάρχει ή υπάρχει ελάχιστη ηπατική νεκροφλεγμονή ή ίνωση, αλλά υψηλό επίπεδο ενσωμάτωσης του HBV DNA και κλωνικής επέκτασης ηπατοκυττάρων. Λόγω των υψηλών επιπέδων του HBV DNA, οι ασθενείς είναι εξαιρετικά μεταδοτικοί. (555)

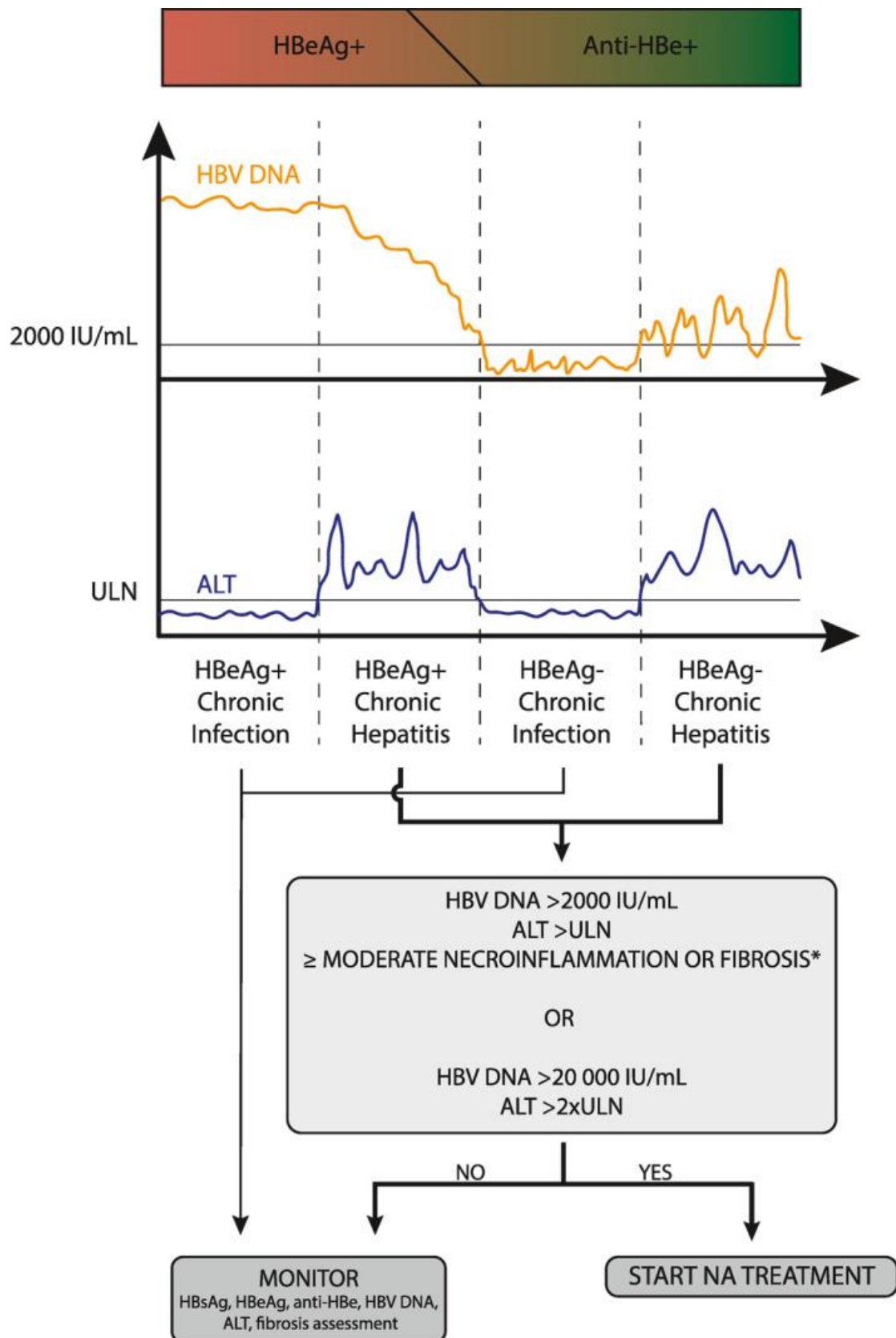
ii) **HBeAg-θετική χρόνια ηπατίτιδα Β** χαρακτηρίζεται από την παρουσία HBeAg ορού, υψηλά επίπεδα HBV DNA (10^4 - 10^7 IU/ml) και αυξημένη ALT. Στο ήπαρ, υπάρχει μέτρια ή σοβαρή ηπατική νεκροφλεγμονή και ταχεία ανάπτυξη ίνωσης. (556)

iii) **HBeAg-αρνητική χρόνια λοίμωξη HBV** χαρακτηρίζεται από την παρουσία anti-HBe, επίπεδα HBV DNA < 2.000 IU/ml και φυσιολογική ALT. Στο ήπαρ, ελάχιστη νεκροφλεγμονώδης δραστηριότητα και χαμηλή ίνωση.

iv) **Η HBeAg-αρνητική χρόνια ηπατίτιδα Β** χαρακτηρίζεται από την έλλειψη HBeAg ορού, συνήθως με ανιχνεύσιμο anti-HBe, και μέτρια έως υψηλά επίπεδα HBV DNA ορού (>2.000 IU/ml), παράλληλα με αυξημένες τιμές ALT. Όσον αφορά το ήπαρ, υπάρχει νεκροφλεγμονή και ίνωση.^[557]

v) **HBsAg-αρνητική φάση** χαρακτηρίζεται από αρνητικό HBsAg ορού και θετικό anti-HBc, με ή χωρίς ανιχνεύσιμα αντι-HB. Αυτή η φάση είναι ευρέως γνωστή ως «απόκρυφη λοίμωξη HBV». Σε αυτή τη φάση, έχουμε φυσιολογικές τιμές ALT και συνήθως μη ανιχνεύσιμο HBV DNA ορού. Το HBV DNA (cccDNA) μπορεί να ανιχνευθεί συχνά στο ήπαρ. (1

	HBeAg positive		HBeAg negative	
	Chronic infection	Chronic hepatitis	Chronic infection	Chronic hepatitis
HBsAg	High	High/intermediate	Low	Intermediate
HBeAg	+	+	-	-
HBV DNA	> 10^7 IU/ml	10^4 - 10^7 IU/ml	<2.000 IU/ml	>2.000 IU/ml
ALT	Normal	Elevated	Normal	Elevated
Liver disease	None or minimal	Moderate/severe	None	Moderate/severe



Ως εκ τούτου, υπάρχει επείγουσα ανάγκη να καθοριστεί ο υποπληθυσμός που ωφελείται περισσότερο από τη διακοπή της θεραπείας. Επιπλέον, οι νέες θεραπείες και οι μελλοντικές προσεγγίσεις θα πρέπει να επικεντρωθούν στην εξάλειψη του HBV cccDNA από μολυσμένα κύτταρα και στην αύξηση των λειτουργικών ποσοστών θεραπείας.⁵⁵⁸ Επιπλέον, οι ανανεωμένες και καινοτόμες προσεγγίσεις για τη βελτίωση του προσυμπτωματικού ελέγχου και της σύνδεσης με την περίθαλψη είναι άλλοι θεμελιώδεις παράγοντες με στόχο την επίτευξη του στόχου του ΠΟΥ για εξάλειψη της ηπατίτιδας Β έως το 2030.^[559]

16. ΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΚΡΥΦΗΣ ΛΟΙΜΩΞΗΣ HBV(OBI)

Η λανθάνουσα λοίμωξη από τον ιό της ηπατίτιδας Β (HBV) (OBI) ορίζεται γενικά ως η παρουσία HBV DNA ικανού για αντιγραφή (δηλαδή, HBV ομοιοπολικό κλειστό κυκλικό DNA [cccDNA]) στο ήπαρ ή / και HBV DNA στο αίμα ατόμων που είναι αρνητικά για επιφανειακό αντιγόνο ηπατίτιδας Β (HBsAg) σύμφωνα με τις διαθέσιμες δοκιμασίες. Σύμφωνα με το προφίλ ειδικών αντισωμάτων HBV, ο OBI μπορεί να χωριστεί σε οροθετικό OBI με θετικό βασικό αντίσωμα ηπατίτιδας Β (anti-HBc) ή/και επιφανειακό αντίσωμα ηπατίτιδας Β (anti-HBs) και οροαρνητικό OBI με αρνητικό anti-HBc και anti-HBs. Μεταξύ αυτών, ο οροαρνητικός OBI αντιπροσωπεύει περίπου το 1% έως 20% όλων των περιπτώσεων OBI

Ο OBI αποτελεί παράγοντα κινδύνου για μετάγγιση ή μετάδοση μολυσμένου, επανενεργοποίηση μετά από ανοσοκαταστολή ή χημειοθεραπεία, εξέλιξη χρόνιας ηπατικής νόσου και ηπατοκαρκινογένεση. Λόγω της σταθερότητας του ομοιοπολικού κλειστού κυκλικού DNA (cccDNA) και του μεγάλου χρόνου ημίσειας ζωής των ηπατοκυττάρων, η ύπαρξη του OBI είναι εκτεταμένη και παρατεταμένη, ενώ η χαμηλή ή/και διαλείπουσα αντιγραφή του HBV σε ασθενείς με OBI οι περιορισμοί της ευαισθησίας των ορολογικών εξετάσεων και η μη τυποποιημένη και επεμβατική φύση της ιστολογίας του ήπατος καθορίζουν ότι οι «κοινώς χρησιμοποιούμενες» ορολογικές εξετάσεις είναι αναξιόπιστες και η ιστολογία του ήπατος «χρυσού κανόνα» δεν είναι πρακτική.

Η πιθανή παρουσία λοίμωξης από τον ιό της ηπατίτιδας Β (HBV) σε άτομα που δοκιμάζονται αρνητικά για τους δείκτες ορού που χρησιμοποιούνται συνήθως για τη διάγνωση της ηπατίτιδας τύπου Β υπάρχει υποψία από τις αρχές της δεκαετίας του 1970, όπως ανασκοπήθηκε στο^[1]. Ωστόσο, μόλις το 1999 το θέμα απέκτησε σχετικό και γενικό επιστημονικό ενδιαφέρον, όταν δημοσιεύθηκε ένα έγγραφο ορόσημο στο New England Journal of Medicine,^[2] που δείχνει την παρουσία γονιδιωμάτων HBV σε δείγματα βιοψίας ήπατος από αρνητικούς ασθενείς με χρόνια ηπατική νόσο (CLD) επιφανειακό αντιγόνο HBV (HBsAg). Αυτή η μελέτη αποκάλυψε - για πρώτη φορά - ότι τα άτομα με CLD κυρίως λόγω του ιού της ηπατίτιδας C (HCV) και της λανθάνουσας λοίμωξης HBV (OBI) διέτρεχαν υψηλότερο κίνδυνο εξέλιξης προς κίρρωση από τους ασθενείς χωρίς OBI και ότι η ιική γενετική ετερογένεια δεν ήταν υπεύθυνη για μειωμένη αντιγραφή του ιού ή μειωμένη σύνθεση HBsAg. Μετά από αυτό, μια σειρά μελετών από πολλές περιοχές του κόσμου έχουν παράσχει περαιτέρω, αδιάσειστα στοιχεία σχετικά τόσο με τη βιολογία όσο και με τις κλινικές επιπτώσεις του OBI. Δεδομένου του αυξανόμενου

ενδιαφέροντος για το θέμα, πραγματοποιήθηκαν δύο διεθνή εργαστήρια στην Ταορμίνια (Ιταλία) το 2008 και το 2018,^[3,4] οδηγώντας στην παραγωγή και την επακόλουθη ανταλλαγή δηλώσεων από μεγάλο αριθμό συμμετεχόντων διεθνών εμπειρογνομόνων στον τομέα. Εδώ, θα θέλαμε να ανασκοπήσουμε τις υπάρχουσες γνώσεις σχετικά με τις ιολογικές και κλινικές πτυχές του OBI, επισημαίνοντας τόσο τις πραγματικές αντιπαραθέσεις όσο και τις αναδυόμενες προοπτικές.

Τα πρακτικά αποτελέσματα της έρευνας για τον μηχανισμό σχηματισμού, διάγνωσης και μεταμόσχευσης ή μετάγγισης του OBI δείχνουν έντονα ότι αν και υπάρχει ένα ορισμένο ποσοστό οροαρνητικού OBI, εφόσον το αντι-HBc είναι θετικό, τότε υπάρχει μεγάλη πιθανότητα παρουσίας OBI, και ο «εναλλακτικός» δείκτης αντι-HBc test είναι η πιο αξιόπιστη και πρακτική μέθοδος για τη διάγνωση του OBI. Διερευνούμε τα παραπάνω ζητήματα όσον αφορά τον ορισμό του OBI, τον μηχανισμό κάθαρσης του ομοιοπολικά κλειστού κυκλικού DNA (cccDNA), τους περιορισμούς των διαγνωστικών μεθόδων και τα πρακτικά ευρήματα της μεταμόσχευσης/μετάγγισης HBV μετάδοσης.

Επαρκής και απαραίτητη προϋπόθεση για τη διάγνωση του OBI είναι η ανίχνευση HBV DNA ικανού για αντιγραφή στο ήπαρ ή/και HBV DNA στο αίμα HBsAg-αρνητικών ατόμων.

Μεταξύ αυτών, ο «χρυσός κανόνας» για τη διάγνωση είναι η ανίχνευση του HBV DNA στον ηπατικό ιστό, η «κοινώς χρησιμοποιούμενη» μέθοδος είναι η ανίχνευση του HBV DNA στο αίμα και η δοκιμή anti-HBc στο αίμα είναι μια «εναλλακτική» μέθοδος για τη διάγνωση του OBI. Στην ορολογική διάγνωση του OBI, πολλοί ειδικοί και κατευθυντήριες γραμμές συνιστούν επί του παρόντος μια εξαιρετικά ευαίσθητη μέθοδο HBV DNA με χαμηλότερο όριο ανίχνευσης (10-20 IU / ml) (το οποίο θα πρέπει στην πραγματικότητα να είναι το κατώτερο όριο ποσοτικοποίησης), ευρύτερο γραμμικό εύρος και υψηλότερη ειδικότητα. Ωστόσο, λόγω του γεγονότος ότι το HBV DNA σε ασθενείς με OBI είναι συνήθως <200 IU/ml, εκ των οποίων το 80%-90% είναι <20 IU/ml, με διαλείπουσα αύξηση/θετικά χαρακτηριστικά, μαζί με την επίδραση της αποτελεσματικότητας και της μεθόδου της δοκιμής, του όγκου εκχύλισης ορού/πλάσματος, του όγκου δείγματος, της κάλυψης γονότυπου, της ρύθμισης εσωτερικών προτύπων και των διαφορών κόστους, αντιμετωπίζοντας ελλείψεις όπως μόλυνση από νουκλεϊκά οξέα, έλλειψη ρύθμισης και τυποποίησης της βιομηχανίας, επομένως οι περιορισμοί της εξέτασης HBV DNA ορού για τη διάγνωση του OBI είναι εμφανείς το πιο σημαντικό από τα οποία είναι η ευαισθησία της ανάλυσης.

Η διαλείπουσα θετικότητα του HBV DNA ορού σε ασθενείς με OBI που καταδεικνύεται στην αξιολόγηση διαχρονικών μελετών υποδηλώνει επίσης ότι η αρνητικότητα του HBV DNA ορού δεν αποκλείει την ύπαρξη OBI ακόμη και με τη χρήση των πιο ευαίσθητων ορολογικών μεθόδων. Η ευαισθησία του ποσοτικού ελέγχου HBV DNA ορού για τη διάγνωση του OBI δεν είναι ικανοποιητική, δηλαδή οι ορολογικές μέθοδοι, αν και χρησιμοποιούνται συνήθως, δεν είναι αξιόπιστες.

Το DNA του ιού της ηπατίτιδας B (HBV) μπορεί να βρεθεί μόνο στον ορό ή στο ήπαρ σε περιπτώσεις κρυφής λοίμωξης από ηπατίτιδα B (OBI) όπου η εξέταση επιφανειακών αντιγόνων ηπατίτιδας B είναι αρνητική. Αυτό περιγράφεται ως η ύπαρξη ανιχνεύσιμου HBV DNA με αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR) σε ασθενείς που το τεστ είναι αρνητικό για HBsAg.

Σε μια μικρή μειοψηφία ατόμων με OBI, η απουσία HBsAg ορού μπορεί να συσχετιστεί με μόλυνση με γενετικές παραλλαγές HBV που περιέχουν μεταλλάξεις στο επίπεδο γονιδίου S που έχουν ως αποτέλεσμα την παραγωγή τροποποιημένου HBsAg που δεν μπορεί να ανιχνευθεί ακόμη και με εμπορικά ευαίσθητες δοκιμές. Σε αυτές τις περιπτώσεις, τα επίπεδα HBV DNA στον ορό μπορεί να είναι τόσο υψηλά όσο εκείνα που συνήθως ανιχνεύονται σε άτομα με «φανερή» λοίμωξη θετική στο HBsAg. Επίσης, το HBV DNA μπορεί να ενσωματωθεί στο γονιδίωμα του ξενιστή σε άτομα με OBI. Ωστόσο, οι ενσωματωμένες ικές αλληλουχίες δεν εμπλέκονται στην αντιγραφή του HBV και η ύπαρξή τους δεν επηρεάζει τη διάγνωση του OBI, καθώς ο OBI εμφανίζεται συνήθως σε περιπτώσεις με επιμονή του DNA του HBV με ικανότητα αναπαραγωγής. (561)

Σύμφωνα με την παρουσία δεικτών ορού έκθεσης στον HBV, η κρυφή ηπατίτιδα B μπορεί να κατηγοριοποιηθεί ως οροθετική ή οροαρνητική OBI, με βάση τα ορολογικά προφίλ. Περίπου το 80% όλων των περιπτώσεων OBI αναφέρονται ως οροθετικές, που ορίζονται ως εκείνες που έχουν αντισώματα στο αντιγόνο του πυρήνα του HBV (anti-HBc) ή/και αντισώματα έναντι του HBsAg (anti-HBs) που είναι ανιχνεύσιμα στον ορό. Ένα μικρότερο ποσοστό (μεταξύ 1% και 20% των περιπτώσεων) των OBIs αναφέρονται ως οροαρνητικά OBI. (562)

Αν και τα κλινικά χαρακτηριστικά που διακρίνουν τις οροθετικές από τις οροαρνητικές περιπτώσεις OBI παραμένουν εντελώς κρυπτικά, το OBI μπορεί να εκτεθεί σε μία από τις τρεις κλινικές μορφές:

-Κατά τη διάρκεια μιας περιόδου παραθύρου οξείας λοίμωξης HBV

-Σε HBV DNA που μπορεί να ανιχνευθεί και HBsAg που δεν μπορεί να ανιχνευθεί στον ορό ενός ασθενούς που δεν έχει ιστορικό εμφανούς HBV λοίμωξης

-Σε άτομα που έχουν ιστορικό χρόνιας λοίμωξης από HBV. (563)

Ο κύριος λόγος πίσω από το αυξανόμενο ενδιαφέρον για το OBI σχετίζεται με τη συσσώρευση στοιχείων για την κλινική του επίδραση. Πράγματι, (α) μπορεί να μεταδοθεί στον λήπτη, κυρίως μέσω μετάγγισης αίματος ή μεταμόσχευσης ήπατος. (β) σε περίπτωση ανοσοκαταστολής μπορεί να οδηγήσει σε επανενεργοποίηση του ιού. (γ) μπορεί να έχει επιζήμια επίδραση στην εξέλιξη της χρόνιας ηπατικής νόσου διαφόρων αιτιών σε πιο προχωρημένα κλινικά στάδια· (δ) Συμβάλλει σημαντικά στην ανάπτυξη του HCC. (564)

16.1. ΕΠΙΠΟΛΑΣΜΟΣ ΚΡΥΦΗΣ ΛΟΙΜΩΞΗΣ HBV

Αν και η κρυφή λοίμωξη από ηπατίτιδα Β περιγράφηκε για πρώτη φορά πριν από περισσότερα από 30 χρόνια (567), υπάρχουν αρκετές σημαντικές πτυχές αυτής της νόσου, συμπεριλαμβανομένης της φυσικής της ιστορίας, των παραγόντων που εμπλέκονται και των αποτελεσματικών διαγνωστικών εργαλείων, που δεν έχουν ακόμη αποσαφηνιστεί πλήρως. Η κρυφή λοίμωξη από ηπατίτιδα Β είναι ευρέως διαδεδομένη παγκοσμίως, με υψηλό επιπολασμό σε πληθυσμούς υψηλού κινδύνου για HBV ή που ζουν σε περιοχές όπου η λοίμωξη από HBV είναι διαδεδομένη. (568)

Η κρυφή λοίμωξη από ηπατίτιδα Β συνδέεται συνήθως με την κλασική ηπατίτιδα Β σε μολυσμένα άτομα σύμφωνα με την αναμενόμενη κλινική εικόνα (δηλαδή με τυπικά ορολογικά και κλινικά πρότυπα μόλυνσης). Μπορεί να εμφανιστεί σε πολλαπλές κλινικές καταστάσεις, όπως περιπτώσεις όπου η λοίμωξη από HBV επανενεργοποιείται μετά την ανάπτυξη ανοσοανεπάρκειας, η οποία μπορεί να οδηγήσει σε οξεία ηπατίτιδα ή κεραινοβόλο ηπατίτιδα.(569)

Η ευαισθησία των αναλύσεων HBsAg και HBV DNA, η ύπαρξη παραγόντων κινδύνου για την έκθεση στον HBV, ο επιπολασμός του HBV στον γενικό πληθυσμό σε διαφορετικές γεωγραφικές περιοχές, η ύπαρξη και η τήρηση προγραμμάτων αντι-HBV εμβολιασμού σε διάφορες χώρες και η παρουσία και η σοβαρότητα της ηπατικής νόσου στους εξεταζόμενους πληθυσμούς είναι μόνο μερικά από τα πολλά παράγοντες που επηρεάζουν την παγκόσμια επιδημιολογία του OBI.(570)

Στην πραγματικότητα, η πλειονότητα των μελετών σχετικά με τον επιπολασμό του OBI έχει πραγματοποιηθεί σε ασθενείς με ηπατική νόσο και αιμοδότες, επομένως δεν αντιπροσωπεύουν πραγματικά τον πληθυσμό στο σύνολό του. Υπάρχουν μερικές μελέτες που υποδεικνύουν χαμηλό επιπολασμό OBI σε περιοχές της Ασίας και της Αφρικής με υψηλή ενδημικότητα της λοίμωξης HBV, παρά το γεγονός ότι ο επιπολασμός του OBI είναι υψηλότερος σε περιοχές του κόσμου όπου η ηπατίτιδα Β είναι ενδημική. Υψηλός επιπολασμός OBI έχει βρεθεί σε ομάδες ασθενών με παράγοντες κινδύνου για λοίμωξη από HBV, για παράδειγμα, χρήστες ενδοφλέβιας αγωγής ναρκωτικών (45%), άτομα με συνλοίμωξη HCV (15-33%) ή συνλοίμωξη HIV (10-45%), ασθενείς σε αιμοκάθαρση (27%) και ασθενείς με συνυπάρχουσα ηπατική νόσο, για παράδειγμα, ασθενείς με HCC (63%), κρυπτογενή κίρρωση (32%) ή ασθενείς με μεταμόσχευση ήπατος (64%). (570)

Ο σχετικά υψηλός επιπολασμός που αναφέρεται σε πληθυσμούς με λοίμωξη από HCV ή HIV και σε ασθενείς με HCC μπορεί να είναι προκατειλημμένος από το γεγονός ότι οι κλινικές έρευνες διεξάγονται συχνότερα σε αυτούς τους πληθυσμούς. Τα ορολογικά προφίλ του ιού της ηπατίτιδας Β υποδηλώνουν ότι το εκτιμώμενο ποσοστό OBI σε ασθενείς με θετικούς αντι-HBc κυμαίνεται μεταξύ 4% και 25%. (562,563)

16.1.2. Βιολογία του OBI

Η σταθερότητα των χρωματισμένων επισωμάτων HBV cccDNA και η ικανότητά τους για μακροχρόνια παραμονή στον πυρήνα των μολυσμένων ηπατοκυττάρων είναι τα κύρια μοριακά χαρακτηριστικά του OBI. Αυτή η σταθερότητα, μαζί με τον μεγάλο χρόνο ημίσειας ζωής των ηπατοκυττάρων, καθιστά πιθανό ότι η λοίμωξη από HBV - μόλις συμβεί - μπορεί να διαρκέσει μια ζωή ακόμη και υπό συνθήκες ισχυρής αναστολής των ιικών λειτουργιών. Η μη ανιχνευσιμότητα του HBsAg σε ασθενείς με OBI, παρά την επιμονή του cccDNA, θεωρείται γενικά ότι οφείλεται στην καταστολή της αντιγραφής του ιού και της γονιδιακής έκφρασης που ασκείται από επιγενετικούς μηχανισμούς ή/και από τον ανοσολογικό έλεγχο του ξενιστή.

Ορισμένες μελέτες έχουν δείξει ότι ορισμένοι ασθενείς με OBI φέρουν μεγαλύτερο ποσοστό μεταλλάξεων στην περιοχή προ-S/S από τους ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα Β (CHB), γεγονός που μπορεί να προκαλέσει μείωση της αντιγονικότητας για την ανίχνευση HBsAg ή μεταβολή στην παραγωγή ή έκκριση HBsAg.^[571] Ωστόσο, το

cccDNA στις περιπτώσεις του OBI είναι πλήρως αρμόδιο για την αντιγραφή.^[572] Επιπλέον, ο ιός μπορεί να μεταδοθεί μέσω μεταγγίσεων αίματος και μεταμοσχεύσεων οργάνων,^[573] προσδιορίζοντας την εμφανή λοίμωξη από HBV στους λήπτες, και μπορεί να επανενεργοποιηθεί σε ασθενείς που υποβάλλονται σε ανοσοκαταστολή.^[574]

Τέλος, ο OBI έχει αποδοθεί σε μεταλλάξεις που προκαλούν αλλοιωμένη αντιγραφή του ιού σε πολύ λίγες περιπτώσεις.^[575] Συνολικά, αυτές οι εκτιμήσεις υποδηλώνουν ότι οι ξενιστές και όχι οι ιικοί παράγοντες είναι πιο σημαντικοί για τον προσδιορισμό της εμφάνισης του OBI. Ο OBI σχετίζεται κυρίως με χαμηλές συγκεντρώσεις cccDNA στον πυρήνα των ηπατοκυττάρων, με αποτέλεσμα χαμηλές ποσότητες μεταγραφών HBV και πρωτεϊνικής έκφρασης και, κατά συνέπεια, μη ανιχνευσιμότητα HBsAg.^[576] Η παρουσία μεταγραφικά σιωπηλού cccDNA υποδηλώνει ότι η γονιδιακή έκφραση μπορεί να ρυθμιστεί από επιγενετικούς μηχανισμούς σε άτομα με OBI. Ωστόσο, τα δεδομένα σχετικά με μια τέτοια επιγενετική ρύθμιση της μεταγραφής του HBV σε ασθενείς με OBI είναι λίγα. Μία μελέτη έδειξε ότι τα πρότυπα μεθυλίωσης στα νησιά HBV CpG ήταν διαφορετικά σε ασθενείς με λανθάνουσα και σε εκείνους με εμφανή χρόνια λοίμωξη από HBV, γεγονός που υποδηλώνει διαφορετικούς μηχανισμούς επιγενετικού ελέγχου σε ασθενείς με OBI και CHB.^[577]

Συγκεκριμένα, οι ασθενείς με OBI εμφάνισαν υψηλότερη πυκνότητα μεθυλίωσης στις νησίδες HBV CpG, μια κατάσταση που είναι γνωστό ότι σχετίζεται με χαμηλή δραστηριότητα αντιγραφής του ιού σε HBsAg-θετικούς/HBeAg-αρνητικούς ασθενείς.^[578] Ένας άλλος μηχανισμός που ρυθμίζει τη μεταγραφή του HBV είναι η μετα-μεταφραστική τροποποίηση των ιστονών που συνδέονται με το cccDNA.^[579] Το cccDNA οργανώνεται ως νουκλεοσώματα, μινιχρωμοσωμικές δομές με ιστόνες και άλλες κυτταρικές ή ιικές πρωτεΐνες.^[580] Τόσο in vitro όσο και in vivo μελέτες έχουν δείξει ότι οι μεταγραφικές και αναπαραγωγικές δραστηριότητες του HBV ρυθμίζονται από την κατάσταση της ακετυλίωσης των δεσμευμένων με cccDNA ιστονών (H3/H4).^[581]

Ένας σημαντικός αριθμός μελετών έχει δείξει ότι ένας αριθμός πρωτεϊνών που συνδέονται με το cccDNA, όπως οι πρωτεΐνες HBc και ηπατίτιδας Β Χ (HBx), μεταγραφικοί παράγοντες, όπως η πρωτεΐνη δέσμευσης στοιχείων απόκρισης cAMP (CREB) και οι παράγοντες μεταγραφής σήματος 1 και 2, και πολλοί άλλοι είναι σε θέση να ρυθμίζουν τη μεταγραφική δραστηριότητα του HBV.^[579,580,581] Ωστόσο, ακόμη και αν όλοι αυτοί οι επιγενετικοί μηχανισμοί μπορούν να οδηγήσουν σε σημαντικό έλεγχο της

αντιγραφής του ιού και, κατά συνέπεια, σε πολύ χαμηλά επίπεδα HBV DNA και μη ανιχνευσιμότητα HBsAg, εξακολουθεί να υπάρχει έλλειψη άμεσων στοιχείων σε ασθενείς με OBI.

Ο ρόλος που παίζει η ανοσολογική απόκριση στον HBV στον OBI υποδηλώνεται έμμεσα από στοιχεία επανενεργοποίησης του HBV σε ασθενείς με OBI που υποβάλλονται σε ανοσοκατασταλτικές θεραπείες ή μεταμόσχευση αιμοποιητικών βλαστικών κυττάρων. Ωστόσο, οι μηχανισμοί που εμπλέκονται στο ανοσολογικό σενάριο που υπάρχει στις περιπτώσεις του OBI δεν έχουν διευκρινιστεί επαρκώς μέχρι στιγμής.

Σε ασθενείς με αυθόρμητα υποχωρούσα οξεία λοίμωξη από HBV, έχει αποδειχθεί μακροχρόνια ανταπόκριση HBV T-κυττάρων που οδηγεί στον έλεγχο της αντιγραφής του HBV.^[582,583] Τέτοια απόκριση HBV T-κυττάρων έχει παρατηρηθεί σε υψηλότερα επίπεδα σε άτομα με OBI από ό, τι σε άτομα με HBsAg-θετικό CHB.^[584] Μια άλλη μελέτη έδειξε διαφορετικά πρότυπα απόκρισης των T-κυττάρων έναντι των επιτόπων HBV σε οροθετικούς και οροαρνητικούς ασθενείς με OBI.^[585] Ενώ η *ex vivo* ανταπόκριση ήταν συγκριτικά ασθενής και στις δύο ομάδες, η *in vitro* επέκταση των T-κυττάρων μετά από διέγερση ήταν πιο αποτελεσματική σε οροθετικά από ό,τι σε οροαρνητικά άτομα με OBI.^[586] Ομοίως, μια οξεία λοίμωξη WHV μπορεί να υποχωρήσει με την επακόλουθη μακροχρόνια επιμονή μιας οροθετικής λανθάνουσας λοίμωξης.^[587,588] Ως σημείωση, στο μοντέλο woodchuck της λοίμωξης από τον ιό hepadnavirus, η έκθεση σε πολύ χαμηλές, ακόμη και αν πολλαπλές, δόσεις WHV οδηγεί σε οροαρνητική λανθάνουσα λοίμωξη WHV.

16.1.3. Διάγνωση OBI

Η διάγνωση του OBI βασίζεται στην ανίχνευση του HBV DNA στο ήπαρ ή στο αίμα ατόμων που είναι αρνητικά για HBsAg. Ο χρυσός κανόνας θεωρείται η ανίχνευση γονιδιωμάτων HBV σε εκχυλίσματα DNA ήπατος. Ωστόσο, ο έλεγχος HBV DNA στο αίμα είναι μια πολύ πιο εύκολη τεχνική και μια πολύ πιο συχνά χρησιμοποιούμενη διαγνωστική προσέγγιση. Πάνω απ' όλα, με σκοπό τον εντοπισμό πιθανών οροθετικών ατόμων με OBI σε περιπτώσεις δωρεάς αίματος, ιστών ή οργάνων και όταν πρέπει να ξεκινήσει ανοσοκατασταλτική θεραπεία, μπορεί να υιοθετηθεί η χρήση αντι-HBc testing ως υποκατάστατος δείκτης για τη διάγνωση του OBI.^[589,590]

Έτσι, η έγκυρη διάγνωση του OBI βασίζεται στην ευαισθησία των εξετάσεων που χρησιμοποιούνται για την ανίχνευση HBsAg και HBV DNA. Το κατώτερο όριο ανίχνευσης (LLOD) πολλών εμπορικά διαθέσιμων δοκιμασιών HBsAg είναι 0,05 IU/ml και έχει αποδειχθεί ότι έως και το 48% των αρνητικών δειγμάτων που ελέγχονται με τέτοιες δοκιμασίες γίνονται θετικά χρησιμοποιώντας πιο ευαίσθητες δοκιμές HBsAg (LLOD 0,005 IU/mL). Επιπλέον, οι ανιχνευτές αντι-HBs που κατευθύνονται εναντίον διαφόρων επιτόπων του HBsAg θα πρέπει να είναι υποχρεωτικοί για όλες τις δοκιμασίες HBsAg για να ενισχυθεί η ανίχνευση των παραλλαγών διαφυγής S.^[591]

Οι δοκιμασίες HBV DNA θα πρέπει να λειτουργούν με συνέπεια μεταξύ των γονότυπων και υποτύπων HBV και η πραγματική LLOD πολλών εμπορικά διαθέσιμων δοκιμασιών είναι 10-20 IU/mL. Λαμβάνοντας υπόψη ότι το HBV DNA ορού είναι συχνά παρόν σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις σε ασθενείς με OBI και ότι μπορεί να αποκαλυφθεί κατά διαστήματα, η διάγνωση του OBI απαιτεί τη λήψη δειγμάτων αίματος σε διάφορα χρονικά σημεία και τον έλεγχο εκχυλισμάτων DNA από τουλάχιστον 1 mL ορού ή πλάσματος.^[591]

Στο πλαίσιο της αιμοδοσίας, χρησιμοποιούνται πολύ ειδικές (99,9%) και ευαίσθητες (LLOD 2-4 IU / mL) δοκιμασίες για δοκιμές νουκλεϊκών οξέων (NAT). Ωστόσο, όταν ο έλεγχος NAT πραγματοποιείται σε μικρές δεξαμενές πολλαπλών δωρεών, η ευαισθησία μειώνεται σημαντικά.^[592]

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, η ανίχνευση του ικανού για αντιγραφή HBV DNA στο ήπαρ φαίνεται να είναι η ιδανική προσέγγιση για τη διάγνωση. Ωστόσο, δεν υπάρχουν ακόμη τυποποιημένες δοκιμασίες με εσωτερική και εξωτερική επικύρωση. Οι συνιστώμενες προσεγγίσεις είναι τεχνικές ένθετης PCR που στοχεύουν στην ενίσχυση τουλάχιστον τριών διαφορετικών γονιδιωματικών περιοχών HBV, τεχνικές PCR σε πραγματικό χρόνο ή ψηφιακές δοκιμασίες PCR σταγονιδίων.

Η σωστή επεξεργασία των φρέσκων (καλύτερα από φορμαλίνη) κατεψυγμένων δειγμάτων ήπατος είναι σημαντική για την αποφυγή διασταυρούμενης μόλυνσης, και κατάλληλη αρνητική και θετική. Θα πρέπει να περιλαμβάνονται έλεγχοι VE για την επιβεβαίωση της ειδικότητας και την επικύρωση της ευαισθησίας των δοκιμασιών.^[593]

17. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΟΒΙ

Η παγκόσμια επιδημιολογία του ΟΒΙ είναι αρκετά μεταβλητή, καθώς εξαρτάται από πολλούς παράγοντες, όπως η ευαισθησία των δοκιμασιών HBsAg και HBV DNA, εάν υπάρχουν παράγοντες κινδύνου για έκθεση στον HBV, ο επιπολασμός του HBV στον γενικό πληθυσμό στις διάφορες γεωγραφικές περιοχές, τα προγράμματα εμβολιασμού κατά του HBV στις διάφορες χώρες και η παρουσία και σοβαρότητα της ηπατικής νόσου στους εξεταζόμενους πληθυσμούς.^[593,594]

Πράγματι, οι περισσότερες μελέτες σχετικά με τον επιπολασμό του ΟΒΙ πραγματοποιήθηκαν σε αιμοδότες και σε ασθενείς με ηπατική νόσο. Έτσι, δεν είναι πραγματικά αντιπροσωπευτικά του γενικού πληθυσμού. Δεδομένου ότι ο επιπολασμός του ΟΒΙ είναι υψηλότερος σε περιοχές του κόσμου όπου η ηπατίτιδα Β είναι ενδημική,^[595] θα πρέπει να σημειωθεί ότι υπάρχουν λίγες μελέτες που αναφέρουν χαμηλό επιπολασμό του ΟΒΙ σε περιοχές της Ασίας και της Αφρικής με υψηλή ενδημικότητα της λοίμωξης από τον ιό HBV.^[596]

Υψηλός επιπολασμός του ΟΒΙ έχει βρεθεί σε ομάδες ασθενών με παράγοντες κινδύνου για λοίμωξη από HBV, όπως άτομα που έκαναν ενέσιμη χρήση ναρκωτικών (45%),^[597] άτομα με συν-λοίμωξη από τον ιό της ηπατίτιδας C (HCV) (15–33%)^[598] ή συν-λοίμωξη από τον ιό της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας (HIV) (10–45%),^[598,599,600,601] και ασθενείς σε αιμοκάθαρση (27%).^[602]

Υψηλότερα ποσοστά επιπολασμού του ΟΒΙ έχουν επίσης βρεθεί σε ασθενείς με συνυπάρχουσα ηπατική νόσο, όπως εκείνοι με ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα (HCC) (63%),^[603] κρυπτογενή κίρρωση (32%)^[604] ή ασθενείς με μεταμόσχευση ήπατος (64%).^[605] Πρόσφατα, δύο μελέτες αξιολόγησαν τον επιπολασμό του ΟΒΙ σε ασθενείς με μη αλκοολική λιπώδη ηπατική νόσο (NAFLD), μία χρησιμοποιώντας αντι-HBc ως υποκατάστατο δείκτη και δείχνοντας επιπολασμό 15,5%^[606] και μία χρησιμοποιώντας το χρυσό πρότυπο ανίχνευσης HBV DNA στους ιστούς του ήπατος νοσηρά παχύσαρκων ασθενών που υποβλήθηκαν σε βαριατρική χειρουργική επέμβαση, η οποία έδειξε επιπολασμό 12,8%.^[607] Μία μελέτη διερεύνησε την παρουσία HBV DNA στους ιστούς του ήπατος ασθενών από διαφορετικές περιοχές της Ιταλίας και χωρίς ηπατική νόσο που υποβλήθηκαν σε χειρουργική επέμβαση στην κοιλιακή χώρα, δείχνοντας επιπολασμό του ΟΒΙ 16%.^[608]

Ο ΟΒΙ σπάνια εντοπίζεται σε αιμοδότες. Σε καλά διεξαχθείσες μελέτες σε αυτή την κατηγορία ατόμων, το HBV DNA έχει βρεθεί στο 0-4,6% των HBsAg-αρνητικών/αντι-HBc-θετικών ατόμων, με διάμεσο επιπολασμό 1%.

18. ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΕΠΙΠΤΩΣΕΙΣ ΟΒΙ

Ο κύριος λόγος πίσω από το αυξανόμενο ενδιαφέρον για τον ΟΒΙ σχετίζεται με τη συσσώρευση στοιχείων για τον κλινικό του αντίκτυπο. Πράγματι, (α) ο ΟΒΙ μπορεί να μεταδοθεί, κυρίως μέσω μετάγγισης αίματος ή μεταμόσχευσης ήπατος, οδηγώντας σε ηπατίτιδα Β στον λήπτη. β) μπορεί να οδηγήσει σε επανενεργοποίηση του ιού σε περίπτωση ανοσοκαταστολής· γ) μπορεί να έχει επιζήμια επίδραση στην εξέλιξη της CLD διαφορετικής αιτιολογίας προς προχωρημένα κλινικά στάδια· δ) διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη της Επιτροπής Ανταγωνισμού.

19. ΚΙΝΔΥΝΟΣ ΜΕΤΑΓΓΙΣΗΣ OBI

Πολλά στοιχεία έχουν δείξει ότι οι φορείς του OBI μπορούν να μεταδώσουν τη λοίμωξη HBV μέσω μετάγγισης αίματος, με επακόλουθη την ανάπτυξη τυπικής ηπατίτιδας Β στον λήπτη.^[608,609,610] Τα τελευταία 30 χρόνια, ο κίνδυνος μετάδοσης του HBV με μετάγγιση αίματος έχει μειωθεί σημαντικά, χάρη στα πιο ευαίσθητα διαγνωστικά εργαλεία που χρησιμοποιούνται για τον έλεγχο του αίματος.

Ωστόσο, η μετάδοση του HBV από αιμοδότες με OBI παραμένει ένα σημαντικό πρόβλημα υγείας σε χώρες χαμηλού και μεσαίου εισοδήματος, όπου τα τεστ κατά του HBc και το NAT δεν διαδίδονται ευρέως. Ελάχιστος κίνδυνος μετάδοσης του OBI με μετάγγιση εξακολουθεί επίσης να υπάρχει στις ανεπτυγμένες χώρες, επειδή η ελάχιστη δόση μολυσματικού HBV DNA είναι κάτω από το LLOD των διαθέσιμων δοκιμασιών NAT. Εάν ο δότης είναι φορέας του OBI, η μετάδοση της λοίμωξης εξαρτάται από πολλούς παράγοντες, όπως η ποσότητα πλάσματος που μεταγγίζεται, η ανοσολογική κατάσταση του λήπτη και η ορολογική κατάσταση HBV τόσο του δότη όσο και του λήπτη.

Επιπλέον, λαμβάνοντας υπόψη ότι ο OBI χαρακτηρίζεται από φάσεις παροδικής ιαιμίας που εναλλάσσονται με φάσεις απουσίας αντιγραφής του ιού ορού, ένας φορέας OBI μπορεί να είναι κατά διαστήματα μολυσματικός. Έχει αποδειχθεί ότι οι HBV-DNA-θετικοί δότες του OBI με απομονωμένο ορολογικό δείκτη αντι-HBc είναι πιο μολυσματικοί από τους αντι-HBs-θετικούς φορείς του OBI^[612] και ότι η θετικότητα του λήπτη κατά του HBs μειώνει σημαντικά τον κίνδυνο μόλυνσης.^[613]

Μια πρόσφατη μελέτη έδειξε ότι τρεις επαναλαμβανόμενοι HBsAg-αρνητικοί αιμοδότες με HBV DNA ορού μη ανιχνεύσιμο μέσω εξαιρετικά ευαίσθητου NAT μετέδωσαν λοίμωξη HBV σε εννέα λήπτες αίματος.^[614] Αυτή η μελέτη επανεξέτασε την εκτίμηση της ελάχιστης μολυσματικής δόσης HBV από τις προηγούμενες 20 IU/ml σε περίπου 3,0 IU/ml HBV DNA.^[614] Έτσι, η ευαισθησία στο NAT που απαιτείται για την πρόληψη της μετάδοσης του HBV μέσω μετάγγισης θα πρέπει να μειωθεί από τα πραγματικά 3,4 IU/ml σε ένα νέο LLOD 0,15 IU/ml.^[615]

19.1. ΜΕΤΑΜΟΣΧΕΥΣΗ ΗΠΑΤΟΣ

Είναι γνωστή η πιθανότητα μετάδοσης του HBV από οροθετικό δότη ήπατος του OBI σε ευαίσθητο, οροαρνητικό λήπτη με επακόλουθη ανάπτυξη ηπατίτιδας Β.^[616,617,618] Αυτοί οι λήπτες θα πρέπει να λαμβάνουν μακροχρόνια προφυλακτική αντιική θεραπεία με νουκλεο(τ)ιδικά ανάλογα (NUCs), όπως entecavir ή tenofovir.

Ωστόσο, ακόμη και αν μια τυπική, «εμφανής», HBsAg-θετική λοίμωξη εμποδίζεται με προφύλαξη από NUC, μπορεί να μην είναι σε θέση να αποτρέψει την ανάπτυξη OBI στον λήπτη.^[619,620] Επιπλέον, οι ασθενείς που έλαβαν μεταμόσχευση ήπατος για «εμφανή» λοίμωξη από HBV μπορεί να αναπτύξουν OBI του ηπατικού μοσχεύματος ακόμη και αν έλαβαν αντιική προφύλαξη.

Έτσι, συνιστάται δια βίου θεραπεία NUC σε αυτούς τους ασθενείς.^[621,622] Το αν ο OBI μπορεί να έχει αντίκτυπο στη μακροπρόθεσμη έκβαση των μεταμοσχευμένων ασθενών είναι θέμα συζήτησης, ακόμη και αν τα στοιχεία δείχνουν ότι μπορεί να είναι υπεύθυνη για την ταχύτερη εξέλιξη της ηπατικής νόσου μετά από μεταμόσχευση σε ασθενείς θετικούς στον ιό HCV.^[623]

19.2. ΕΠΑΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ OBI

Τα άτομα με χρόνια λοίμωξη από HBV που υποβάλλονται σε ανοσοκαταστολή διατρέχουν υψηλό κίνδυνο επανενεργοποίησης του ιού, η οποία μπορεί να οδηγήσει σε σοβαρή κλινική έκβαση, ακόμη και συμπεριλαμβανομένης της κεραυνοβόλου ηπατίτιδας.^[625] Μια τέτοια επανενεργοποίηση μπορεί να συμβεί τόσο σε HBsAg-θετικά όσο και σε άτομα με OBI. Έτσι, η ισχυρή καταστολή της αντιγραφής του ιού που είναι χαρακτηριστική της κατάστασης του OBI μπορεί να σταματήσει στην περίπτωση της ανοσοκαταστολής λόγω της απώλειας του ανοσολογικού ελέγχου των δραστηριοτήτων του ιού, με επακόλουθη επανενεργοποίηση του ιού. Πρόκειται για μια πολύ σημαντική, αν και έμμεση, απόδειξη του ρόλου που διαδραματίζει η ανοσολογική απόκριση στην πρόκληση της κατάστασης του OBI. Η διάγνωση της επανενεργοποίησης του HBV σε ασθενείς με OBI μπορεί να γίνει στην περίπτωση (α) επανεμφάνισης HBsAg και/ή τουλάχιστον 1 λογαριθμικής αύξησης πάνω από το LLOD του HBV DNA ορού σε ένα άτομο με προηγουμένως μη ανιχνεύσιμο HBsAg και HBV DNA ορού και (β) τουλάχιστον 1 λογαριθμική αύξηση του HBV DNA ορού σε ένα άτομο με προηγουμένως ανιχνεύσιμο HBV DNA.^[626]

Επανεργοποίηση του HBV μπορεί να συμβεί σε έως και 40% των ασθενών με OBI που λαμβάνουν ανοσοκατασταλτικές θεραπείες ή/και χημειοθεραπείες καρκίνου, αν και η συχνότητα εμφάνισης είναι χαμηλότερη από αυτή που παρατηρείται σε HBsAg-θετικούς ασθενείς. Υψηλότερος κίνδυνος (>10%) παρατηρείται σε ασθενείς με OBI που λαμβάνουν αντι-CD20 σχήματα και μυελοαφανιστικές θεραπείες για μεταμόσχευση αιμοποιητικών βλαστικών κυττάρων.^[627,628]

Μέτριος (1-10%) ή χαμηλός (<1%) κίνδυνος παρατηρείται σε ασθενείς με OBI που λαμβάνουν θεραπεία με άλλες αντικαρκινικές θεραπείες, υψηλές δόσεις κορτικοστεροειδών, αντι-TNF-α ή φάρμακα κατά της απόρριψης που χρησιμοποιούνται μετά από μεταμόσχευση συμπαγών οργάνων.^[629,630] Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει χαμηλό κίνδυνο επανενεργοποίησης σε ασθενείς με OBI που λαμβάνουν θεραπεία με αναστολείς του παράγοντα νέκρωσης όγκων,^[631] καθώς και σε εκείνους που λαμβάνουν αντιικά φάρμακα άμεσης δράσης για λοίμωξη από HCV.^[632,633]

Λαμβάνοντας υπόψη την ανοσολογική ανεπάρκεια που προκαλείται από τον HIV, η επανενεργοποίηση του ιού έχει παρατηρηθεί συχνότερα σε ασθενείς με OBI με σύνδρομο επίκτητης ανοσοανεπάρκειας.^[634] Ωστόσο, δεδομένης της ευρείας χρήσης των αντιρετροϊκών θεραπειών, οι οποίες περιλαμβάνουν φάρμακα με αντι-HBV δράση, ο κίνδυνος επανενεργοποίησης του HBV σε ασθενείς με HIV συν-μολυσμένο OBI έχει καταστεί αμελητέος.^[635]

Στην πλειονότητα των μελετών για την επανενεργοποίηση του HBV, η διάγνωση του OBI βασίστηκε στην ανίχνευση αντι-HBc. Ωστόσο, μελέτες που έχουν ελέγξει το HBV DNA στο αίμα έχουν δείξει υψηλότερο κίνδυνο επανενεργοποίησης του ιού σε ασθενείς με OBI με ανιχνεύσιμο HBV DNA, ακόμη και αν ο κίνδυνος εξακολουθεί να υπάρχει σε άτομα με μη ανιχνεύσιμο HBV DNA.^[636]

Η επανενεργοποίηση του ιού μπορεί επίσης να συμβεί σε ασθενείς θετικούς σε αντι-HBs-/αντι-HBc, ιδιαίτερα σε εκείνους στους οποίους τα αντι-HBs αντισώματα μειώνονται προοδευτικά κατά τη διάρκεια της ανοσοκαταστολής.^[637] Οι τελευταίες κατευθυντήριες γραμμές της Ευρωπαϊκής Ένωσης για τη Μελέτη του Ήπατος (EASL) σχετικά με τη διαχείριση της λοίμωξης από HBV προτείνουν τη θεραπεία με προφυλακτική αντιική θεραπεία όλων των HBsAg-αρνητικών/αντι-HBc-θετικών ασθενών που υποβάλλονται σε ανοσοκατασταλτικές θεραπείες υψηλού κινδύνου και τη συνέχιση αυτής της θεραπείας για τουλάχιστον 18 μήνες μετά τον τερματισμό της ανοσοκαταστολής (η λαμβουδίνη μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε αυτό το περιβάλλον).^[638]

Προτείνουν περαιτέρω προληπτική θεραπεία σε HBsAg-αρνητικούς/αντι-HBc-θετικούς ασθενείς που υποβάλλονται σε μέτρια ή χαμηλού κινδύνου ανοσοκατασταλτικές θεραπείες.

Πρακτικά, αυτοί οι ασθενείς θα πρέπει να παρακολουθούνται συχνά και τελικά να αντιμετωπίζονται με NUC σε περίπτωση επανεμφάνισης HBsAg ή/και ανίχνευσης HBV DNA ορού.^[639]

20. ΟΡΟΛΟΓΙΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ ΤΗΣ HBV ΛΟΙΜΩΞΗΣ

Η διάγνωση της ηπατίτιδας B βασίζεται στο κατάλληλο ιατρικό ιστορικό, τη φυσική εξέταση και την αξιολόγηση της ορολογίας του HBV. Η ορολογία του HBV είναι συνήθως ανιχνεύσιμη 1 έως 12 εβδομάδες μετά την αρχική λοίμωξη με τον πρωταρχικό ιικό δείκτη να είναι επιφανειακό αντιγόνο ηπατίτιδας B (HBsAg).

Η παρουσία HBsAg σπάνια επιμένει μετά από έξι μήνες μετά τη μόλυνση και συνήθως προηγείται ανιχνεύσιμων ποσοτήτων του αντίστοιχου αντισώματος έναντι επιφανειακού αντιγόνου ηπατίτιδας B (αντι-HB).^[640] Η περίοδος μεταξύ της εξαφάνισης του HBsAg και της εμφάνισης των αντι-HB ονομάζεται «περίοδος παραθύρου» ή «ορολογικό κενό».^[641]

Κατά τη διάρκεια του χρονικού διαστήματος, μπορεί επίσης να μην ανιχνευθεί άλλη ιολογική ορολογία. Το HBsAg είναι ο πρώτος ιολογικός δείκτης που ανιχνεύεται και είναι ενδεικτικός μιας οξείας λοίμωξης.

Η καταστροφή του νουκλεοκαψιδίου που προκαλείται από το ανοσοποιητικό επιτρέπει την έκθεση του αντιγόνου του πυρήνα (HBcAg) ή του αντιγόνου (HBeAg) με επακόλουθη ανάπτυξη αντισωμάτων. Τα ηπατικά ένζυμα συνήθως αυξάνονται στο τελευταίο μέρος της αντιγραφικής φάσης της μόλυνσης λόγω ενεργών φλεγμονωδών διεργασιών.^[642] Διαφορετικά, οι τρανσαμινάσες του ήπατος θα μπορούσαν επίσης να βρίσκονται εντός των ορίων αναφοράς τους.

Ως εκ τούτου, οι τρανσαμινάσες του ήπατος δεν πρέπει να αποτελούν τον μοναδικό οδηγό για τη διάγνωση μιας υποψίας λοίμωξης από HBV. Η παρουσία αντισωμάτων κατά του HBsAg υποδηλώνει ανοσοποιημένη κατάσταση, ενώ η παρουσία αντισωμάτων κατά του HBeAg αναφέρεται σε πιθανή κατάσταση χρόνιας λοίμωξης. Η ορομετατροπή αναφέρεται στη μετάβαση μεταξύ οξείας, ανοσο-ενεργού φάσης σε αδρανή κατάσταση φορέα και χαρακτηρίζεται από την αυθόρμητη ανάπτυξη αντισωμάτων έναντι του HBeAg.^[643]

Η προηγούμενη ορομετατροπή έχει συσχετιστεί με ευνοϊκότερα αποτελέσματα,^[644] Η εμμονή του HBsAg στον ορό για έξι μήνες ή περισσότερο οριοθετεί την οξεία λοίμωξη από ηπατίτιδα B από χρόνια λοίμωξη από ηπατίτιδα B.

Η λοίμωξη από HBV οδηγεί σε ένα ευρύ φάσμα ηπατικών παθήσεων που κυμαίνονται από οξεία ηπατίτιδα (συμπεριλαμβανομένης της οξείας ηπατικής ανεπάρκειας) έως χρόνια ηπατίτιδα, κίρρωση και ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα (HCC).^[645]

Η διάγνωση της λοίμωξης από HBV και της σχετιζόμενης νόσου βασίζεται σε έναν αστερισμό κλινικών, βιοχημικών, ιστολογικών και ορολογικών ευρημάτων. Ένας αριθμός ικών αντιγόνων και τα αντίστοιχα αντισώματα τους μπορούν να ανιχνευθούν στον ορό μετά τη μόλυνση με HBV και η σωστή ερμηνεία των αποτελεσμάτων είναι απαραίτητη για τη

Κατά την οξεία Ηπατίτιδα Β το αντιγόνο επιφανείας HBsAg είναι ο πρώτος ορολογικός δείκτης που 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.^[646] Ο υψηλός δείκτης βέβαια και όχι η απλή ανίχνευση του θέτει την οριστική διάγνωση της πραγματικής οξείας ηπατίτιδας εφόσον IgM αντι-core σε χαμηλούς τίτλους ανιχνεύεται συχνά και στον ορό ασθενών με χρόνια HBV λοίμωξη.^[647]

Το HBeAg εμφανίζεται σχεδόν ταυτόχρονα με το HBsAg αλλά συνήθως εξαφανίζεται ταχύτερα. Η πρόιμη 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.^[648]

Το ολικό αντι-HBc ανιχνεύεται πρώιμα στον ορό και ο τίτλος του αυξάνεται ταχύτατα. Αρχικά είναι κυρίως 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.

Αντι-HBs αντισώματα εμφανίζονται συνήθως στον ορό περίπου δύο μήνες μετά την εξαφάνιση του HBsAg (η γνωστή περίοδο παραθύρου) και υποδηλώνουν ανάρρωση και ανοσία σε HBV-επαναμόλυνση.^[649]

Αντι-HBs δεν παράγονται ή παράγονται σε χαμηλούς μη ανιχνεύσιμους τίτλους σε ποσοστό 10-15% των ασθενών μετά την οξεία λοίμωξη αλλά φαίνεται ότι και τα άτομα αυτά συνήθως διατηρούν ανοσία έναντι του ιού.

20.1. ΟΡΟΛΟΓΙΚΟΙ ΚΑΙ ΙΟΛΟΓΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΙΟΥ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ Β

HBsAg	HBV μόλυνση, οξεία και χρόνια
HBeAg	Υψηλού επιπέδου αντιγραφή και μολυσματικότητα του HBV. δείκτης για ανταπόκριση στη θεραπεία
HBV DNA	Επίπεδο αντιγραφής HBV. πρωτογενής ιολογικός δείκτης για ανταπόκριση στη θεραπεία
Anti-HBc (IgM)	Οξεία λοίμωξη από HBV. θα μπορούσε να παρατηρηθεί σε έξαρση χρόνιας ηπατίτιδας Β
Anti-HBc (IgG)	Ανακτημένη ή χρόνια λοίμωξη από HBV
Anti-HBs	Ανακτήθηκε μόλυνση HBV ή δείκτης εμβολιασμού HBV. ανοσία στη μόλυνση από HBV (ο τίτλος μπορεί να μετρηθεί για να εκτιμηθεί η αποτελεσματικότητα του εμβολίου)
Anti-HBe	Χαμηλού επιπέδου αντιγραφή και μολυσματικότητα του HBV. δείκτης για ανταπόκριση στη θεραπεία
Anti-HBc (IgG) και anti-HBs	Προηγούμενη λοίμωξη από HBV. μπορεί να χάσει αντι-HB
Anti-HBc (IgG) και HBsAg	Χρόνια λοίμωξη από HBV
Anti-HBc (IgG) ή/και anti-HBs και HBV DNA (PCR)	Λανθάνουσα ή απόκρυφη λοίμωξη από HBV

Η τυπική πορεία της οξείας ηπατίτιδας Β φαίνεται στο Εικ. 4Α. Το HBV DNA που ακολουθείται αμέσως μετά από το HBsAg και το HBeAg είναι οι πρώτοι ιικοί δείκτες που ανιχνεύθηκαν στον ορό.^[650] Το HBsAg μπορεί να ανιχνευθεί ήδη 1-2 εβδομάδες ή 11-12 εβδομάδες μετά την έκθεση, και η επιμονή του είναι ένας δείκτης χρονιότητας. Το HBeAg συσχετίζεται με την παρουσία υψηλών επιπέδων αντιγραφής του HBV και μολυσματικότητας.^[652]

Μέσα σε λίγες εβδομάδες από την εμφάνιση ικών δεικτών, τα επίπεδα της αλανίνης και της ασπαρτικής αμινοτρανσφεράσης (ALT, AST) αρχίζουν να αυξάνονται και μπορεί να εμφανιστεί ίκτερος.

Το HBeAg συνήθως διαγράφεται νωρίς, στο απόγειο της κλινικής ασθένειας, ενώ το HBsAg και το HBV DNA συνήθως παραμένουν στον ορό για τη διάρκεια των κλινικών συμπτωμάτων και διαγράφονται με την ανάρρωση. Τα αντισώματα έναντι των

πρωτεϊνών HBV προκύπτουν με διαφορετικά σχήματα κατά τη διάρκεια της οξείας ηπατίτιδας B. Το αντίσωμα έναντι του HBcAg (anti-HBc) εμφανίζεται γενικά λίγο πριν την έναρξη της κλινικής ασθένειας, με το αρχικό αντίσωμα να είναι ως επί το πλείστον κατηγορία ανοσοσφαιρίνης M (IgM), το οποίο στη συνέχεια μειώνεται στον τίτλο ως επίπεδα του IgG anti-HBc προκύπτουν.^[653]

Το αντίσωμα έναντι του HBeAg (anti-HBe) συνήθως εμφανίζεται λίγο μετά την κάθαρση του HBeAg, συχνά στο αποκορύφωμα της κλινικής νόσου. Έτσι, η απώλεια του HBeAg και η εμφάνιση του αντι-HBe είναι ένας ευνοϊκός ορολογικός δείκτης κατά τη διάρκεια της οξείας ηπατίτιδας B, υποδεικνύοντας την έναρξη της ανάρρωσης.

Το αντίσωμα στο HBsAg εμφανίζεται αργά κατά τη διάρκεια της μόλυνσης, συνήθως κατά τη διάρκεια της ανάρρωσης ή της ανάρρωσης μετά την κάθαρση του HBsAg. Τα αντι-HB παραμένουν μετά την ανάρρωση, είναι το αντίσωμα που σχετίζεται με την ανοσία έναντι του HBV. Ωστόσο, μεταξύ 10% και 15% των ασθενών που αναρρώνουν από ηπατίτιδα B δεν αναπτύσσουν ανιχνεύσιμα αντι-HB και έχουν αντι-HBc μόνο ως δείκτη προηγούμενης λοίμωξης.^[654]

Για το λόγο αυτό, ο έλεγχος κατά του HBc είναι το πιο αξιόπιστο μέσο εκτίμησης προηγούμενης μόλυνσης από HBV, ενώ ο έλεγχος anti-HBs χρησιμοποιείται για την αξιολόγηση της ανοσίας και της ανταπόκρισης στο εμβόλιο HBV. Τα αντι-HB παραμένουν μετά την ανάρρωση, είναι το αντίσωμα που σχετίζεται με την ανοσία έναντι του HBV. Ωστόσο, μεταξύ 10% και 15% των ασθενών που αναρρώνουν από ηπατίτιδα B δεν αναπτύσσουν ανιχνεύσιμα αντι-HB και έχουν αντι-HBc μόνο ως δείκτη προηγούμενης λοίμωξης.^[655]

Για το λόγο αυτό, ο έλεγχος κατά του HBc είναι το πιο αξιόπιστο μέσο εκτίμησης προηγούμενης μόλυνσης από HBV, ενώ ο έλεγχος anti-HBs χρησιμοποιείται για την αξιολόγηση της ανοσίας και της ανταπόκρισης στο εμβόλιο HBV.^[656]

Ασθενείς που αναπτύσσουν χρόνια ηπατίτιδα B (Εικ. 4B) έχουν παρόμοιο αρχικό σχήμα ορολογικών δεικτών με εμφάνιση HBV DNA, HBsAg, HBeAg και anti-HBc. Σε αυτά τα άτομα, ωστόσο, η αντιγραφή του ιού συνεχίζεται και τα HBsAg, HBeAg και HBV DNA εξακολουθούν να είναι ανιχνεύσιμα στον ορό, συχνά σε υψηλούς τίτλους.^[657]

Η επακόλουθη πορεία της χρόνιας ηπατίτιδας B είναι αρκετά μεταβλητή. Τα περισσότερα άτομα παραμένουν θετικά στο HBsAg για χρόνια αν όχι εφ' όρου ζωής και έχουν κάποιο βαθμό χρόνιας ηπατικής βλάβης (χρόνια ηπατίτιδα) που μπορεί να οδηγήσει σε σημαντική ίνωση και κίρρωση.^[658]

Με αυτόν τον βαθμό ευαισθησίας, το HBV DNA μπορεί να ανιχνευθεί νωρίς κατά τη διάρκεια της μόλυνσης, που προκύπτει πριν από την εμφάνιση άλλων ορολογικών δεικτών, όπως το HBsAg ή το anti-HBc. Κατά συνέπεια, ο έλεγχος για HBV DNA έχει αναδειχθεί ως πρωταρχική προσέγγιση στη διάγνωση και τη διαχείριση της λοίμωξης από HBV. Ο έλεγχος του HBV DNA έχει πλέον χρησιμοποιηθεί τακτικά για τον έλεγχο προϊόντων αίματος (δοκιμή νουκλεϊκού οξέος)^[659] και την παρακολούθηση ασθενών με HBV κατά τη διάρκεια της θεραπείας.^[660]

Τα επίμονα υψηλά επίπεδα HBV DNA μετά από ανάλυση της ηπατίτιδας μπορεί να είναι ενδεικτικά αποτυχίας ελέγχου της λοίμωξης και εξέλιξης σε χρόνια λοίμωξη.^[661]

Αξίζει να σημειωθεί μία έρευνα που έγινε πρόσφατα κ δημοσιεύτηκε στο *Journal Gastroenterology* το 2020 στο Τμήμα Γαστρεντορολογίας κ Ηπατολογίας του Ρόντερνταμ, Ολλάνδιας σε συνεργασία με την Ιατρική σχολή του Πανεπιστημίου της Αμβέρσας στο Βέλγιο για τις αποκρίσεις των B-κυττάρων σε χρόνιους ασθενείς Ηπατίτιδας B.^[661]

Διαπιστώθηκε λοιπόν ότι τα κυκλοφορούντα B κύτταρα πιο συχνά στοχεύουν το αντιγόνο του πυρήνα της ηπατίτιδας B παρά το επιφανειακό αντιγόνο της ηπατίτιδας. Επιπλέον, αυτά τα ειδικά για τον πυρήνα της ηπατίτιδας B κύτταρα της ηπατίτιδας B συνδέονται με το φυσικό ιστορικό του χρόνιου HBV και οι αποκρίσεις τους μειώνονται κατά την αποτελεσματική αντική θεραπεία.^[662]

21. Η ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ HBV

Η κάθαρση του ιού και η παθογένεση της νόσου διαμεσολαβούνται σε μεγάλο βαθμό από την προσαρμοστική ανοσοαπόκριση στη μόλυνση από HBV.^[663] Για να επιμείνει ο HBV, πρέπει είτε να μην προκαλεί ανταπόκριση είτε πρέπει να τον κατακλύσει, να τον αποφύγει ή να τον εξουδετερώσει.

Είναι ενδιαφέρον ότι ο HBV «διαφεύγει» την έμφυτη ανοσολογική απόκριση απλά μην την επάγει, ενεργώντας ως μυστικός ιός από αυτή την άποψη.^[664] Από την άλλη πλευρά, ιική επιμονή χαρακτηρίζεται από μια κατάσταση σχετικής υποαποκρισιμότητας του HBV-ειδικών T κυττάρων.^[665,666] Αρκετές ικές πρωτεΐνες έχει αποδειχθεί ότι ρυθμίζουν την προσαρμοστική ανοσοαπόκριση στον HBV (όπως περιγράφεται παρακάτω) υποδηλώνοντας ότι ο HBV μπορεί να χρησιμοποιεί στρατηγικές ενεργητικής διαφυγής που στοχεύουν την προσαρμοστική ανοσοαπόκριση.^[667,668, 669]

Πράγματι, έχει αποδειχθεί ότι η αντιική θεραπεία μπορεί να ξεπεράσει την υπεραντιδραστικότητα των κυττάρων CD8⁺ T σε χρόνια λοίμωξη από HBV, υποδηλώνοντας ότι τα T κύτταρα υπάρχουν σε αυτά τα άτομα αλλά καταστέλλονται.^[670,671] Είναι σημαντικό ότι μια πρόσφατη μελέτη προτείνει ότι η επαγωγή μιας αποτελεσματικής απόκρισης των CD8⁺ T κυττάρων ειδικών για τον HBV εξαρτάται από την πρόιμη εκκίνηση των CD4⁺ T κυττάρων που μπορεί να ρυθμιστεί από το μέγεθος του ιικού εμβολίου.^[672]

Παραδόξως, το προφίλ έκφρασης της ενδοηπατικής γονιδιακής έκφρασης σε οξεία μολυσμένους με HBV χιμπατζήδες αποκάλυψε ότι ο HBV δρα σαν μυστικός ιός νωρίς μετά τη μόλυνση, καθώς δεν προκαλεί καμία έκφραση κυτταρικού γονιδίου συμπεριλαμβανομένων των ISG καθώς εξαπλώνεται μέσω του ήπατος.^[673,674]

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Τις τελευταίες δεκαετίες, η περιοχή της Ηπείρου παρουσιάζει ιδιαίτερο επιδημιολογικό ενδιαφέρον ως προς τις ηπατίτιδες, δεδομένου ότι είναι ο κύριος αποδέκτης φυγάδων από την γειτονική Αλβανία, χώρα με αυξημένη επίπτωση ιογενών ηπατίτιδων. Η καταγραφή επομένως της κατάστασης που επικρατεί σήμερα στην περιοχή μας, είναι αναγκαία προκειμένου να φανούν μελλοντικές μεταβολές, λαμβάνοντας υπόψη ότι δεν υπάρχουν ακριβή επιδημιολογικά δεδομένα.

Η μελέτη αυτή σχεδιάστηκε με διπλό σκοπό (α) να προσδιορίσει τον επιπολασμό των δεικτών της λοίμωξης από τον ιό της ηπατίτιδας Β στον αιμοδοτικό πληθυσμό και στους ασθενείς Παθολογικής, Γαστρεντερολογικής Κλινικής στην περιοχή της Ηπείρου και ταυτόχρονα να ελέγξει αν υπάρχουν διαφορές ανάλογα με την παρουσία των παραπάνω δεικτών σε κλινικές, βιοχημικές, βιολογικές και ιστολογικές παραμέτρους και β) να διερευνήσει εάν στους αιμοδότες και στους ασθενείς αυτής της περιοχής υπάρχει συσχέτιση μεταξύ της παρουσίας αντι-HBc σαν μόνου δείκτη HBV λοίμωξης ή μαζί με αντι-HBs σε τίτλο $<20 \text{ mIU/ml}$ και HBV ιαμίας, για έλεγχο της υπόθεσης αν έχει αξία ο επιπλέον έλεγχος αιμοδοτών για αντι-HBc για πρόληψη της μετάδοσης HBV με μετάγγιση αίματος, που παρά τον έλεγχο για HBsAg εξακολουθεί να εμφανίζεται.

2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1. ΠΛΗΘΥΣΜΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Η συγχρονική αυτή μελέτη πραγματοποιήθηκε στην Αιμοδοσία του Π.Π.Ν.Ι από τον Απρίλιο του 2018 έως τον του 2022. Στη μελέτη συμπεριλήφθησαν ασθενείς και αιμοδότες. Οι ασθενείς προερχόταν από την Α Παθολογική Κλινική του Π.Π.Ν.Ι και από το Εξωτερικό ιατρείο και την κλινική Γαστρεντερολογίας του Π.Π.Ν.Ι. Συνολικά δηλαδή ελέγχθησαν 700 δείγματα ασθενών και 240 δείγματα αιμοδοτών. Η επιλογή των αιμοδοτών γίνεται όπως ορίζουν οι διεθνείς κανόνες Αιμοδοσίας. Ιδιαίτερη σημασία δίνεται στον αποκλεισμό αιμοδοτών με ιστορικό ηπατίτιδας, ενδοφλέβιας χρήσης ναρκωτικών ουσιών καθώς και πρόσφατης μετάγγισης αίματος και παραγώγων.

Ο πληθυσμός των ασθενών αφορά τους νομούς της Ηπείρου που διέμεναν τα τελευταία 5 χρόνια στην περιοχή αυτή. Σαν αστικές περιοχές θεωρήθηκαν οι πρωτεύουσες των 4 νομών της Ηπείρου (Ιωάννινα, Άρτα, Πρέβεζα, Ηγουμενίτσα). Σύμφωνα με την Εθνική Στατιστική Υπηρεσία Ελλάδας αστικές περιοχές θεωρούνται εκείνες που έχουν >10.000 κατοίκους. Όλες οι πρωτεύουσες πληρούν αυτή την προϋπόθεση, πλην της Ηγουμενίτσας.

Συνοπτικά, πρέπει να αναφέρουμε ότι η Ήπειρος είναι μια γεωγραφικά απομονωμένη και ημι-αγροτική περιοχή της Ελλάδας. Στα Ιωάννινα, υπάρχουν δύο νοσοκομεία δυναμικότητας 1200 κλινών. Ένα είναι Πανεπιστημιακό το οποίο ξεκίνησε την λειτουργία του το 1977 και αποτελεί τη βασικότερη υγειονομική μονάδα (τριτοβάθμια φροντίδα) για όλη την περιοχή της Ηπείρου.

2.2. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Ορισμός περίπτωσης

Σε αυτή τη μελέτη, η έκθεση ορίστηκε ως θετική για το anti-HBc μόνο, η φυσική ανοσία (προηγούμενη/επιλυμένη λοίμωξη) ήταν θετική για anti-HBc και anti-HBs, η τρέχουσα λοίμωξη ορίστηκε ως θετική για HBsAg, μολυσμένα άτομα ήταν αυτά που βρέθηκαν θετικά σε HBsAg και αρνητικά για αντι-HBe, τα εμβολιασμένα άτομα ήταν εκείνα που ήταν θετικά μόνο σε αντι-HB ενώ τα ευαίσθητα (παρελθόν) άτομα ήταν αυτά που ήταν αρνητικά για όλους τους ορολογικούς δείκτες HBV. Το ότι ελέγχθηκαν θετικά σημαίνει ότι ήταν αντιδραστικά για τον δείκτη ενδιαφέροντος.

Μέγεθος δείγματος και αιτιολόγηση

Η έρευνα μας (NGPDS) διενεργήθηκε μεταξύ 2019 και 2023, στην Τράπεζα Αίματος του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ιωαννίνων, η οποία είναι η σημαντικότερη μονάδα φύλαξης αίματος σε όλη την περιοχή της Ηπείρου. Ο σημαντικότερος στόχος ήταν να προσδιορίσει την ακριβή εξάπλωση των ιών στο αίμα σε έναν υγιή πληθυσμό αιμοδοτών αλλά και ασθενών που εισήχθησαν στο νοσοκομείο μας στις Παθολογικές Κλινικές κυρίως και στην Γαστρεντερολογική Κλινική. Ο συνολικός πληθυσμός με την απογραφή του 2022 είναι 319.543 κάτοικοι, μειωμένος κατά 5,1% σε σύγκριση με την απογραφή του 2021. Ο νομός Ιωαννίνων είναι ο πιο μεγάλος και βρίσκεται βορειότερα από τους υπολοίπους συνορεύοντας με την Αλβανία. Ο συνολικός πληθυσμός του νομού των Ιωαννίνων ανέρχεται στους 160.054 κατοίκους. Το μέγεθος του δείγματος προσδιορίστηκε χρησιμοποιώντας τον τύπο που πρότεινε ο Scott Smith για τον προσδιορισμό της αναλογίας πληθυσμού μεγέθους δείγματος^[14]: $X=Z\text{-score} \times SD \times (1-SD)/MOE$. Το ποσοστό των HCW στο NWR ελήφθη από ένα μητρώο που δημοσίευσε τις εθνικές αναλογίες των HCW ανά περιοχή το 2015.¹⁵ Το επίπεδο εμπιστοσύνης ήταν 95%, δίνοντας βαθμολογία Z 1,96, περιθώριο σφάλματος (MOE) ± 5 και SD 0,5. Το υπολογιζόμενο μέγεθος δείγματος χρησιμοποιώντας αυτόν τον τύπο ήταν 385 άτομα.

Από κάθε αιμοδότη και ασθενή με τη συγκατάθεση του, λαμβανόταν δύο δείγματα αίματος. Από το ένα δείγμα γινόταν ο ορολογικός έλεγχος για HAV, HBV και HCV, ενώ από το άλλο δείγμα (που συλλεγόταν σε αποστειρωμένο σωληνάριο) μετά τη φυγοκέντρηση λαμβανόταν επίσης ο ορός που φυλασσόταν σε βαθιά κατάψυξη (-80°C) με σκοπό την πιθανή εκτέλεση μοριακών τεχνικών στα θετικά δείγματα που θα προέκυπταν από τον ορολογικό έλεγχο. Οι αιμοδότες με θετικό HBsAg καθώς και εκείνοι με HCV θετικό ή με αδιευκρίνιστο αποτέλεσμα μετά από τεχνική ανοσοαποτύπωσης τρίτης γενεάς (RIBA) ειδοποιούνταν να προσέλθουν για περαιτέρω έλεγχο της ηπατικής λειτουργίας τους.

2.3. ΟΡΟΛΟΓΙΚΕΣ ΕΞΕΤΑΣΕΙΣ (ΔΕΙΚΤΕΣ HBV ΛΟΙΜΩΞΗΣ)

Τα HBsAg, anti-HBs, anti-HBc, HBeAg και anti-HBe, anti-HCV, anti-HDV και anti-HIV ανιχνεύθηκαν με εμπορικές ανοσοδοκιμασίες (Abbott-Laboratories, Wiesbaden-Delkenheim, Germany.). Τα IgM-anti-HBc και HBsAg ποσοτικοποιήθηκαν με την ανάλυση Architect-anti-HBc-CMIA και HBsAg (Abbott Laboratories). Για τον ποσοτικό προσδιορισμό του IgM-anti-HBc χρησιμοποιήσαμε τόσο την αποκοπή AHB (1 S/CO) όσο και ένα όριο CHB που ορίζεται ως εξής.

Ο αρχιτέκτονας CMIA και ο Axsym CORE-M, ανοσοδοκιμασία MEIA [χρησιμοποιώντας το όριο CHB: 0,200 IMx-index, αποδεδειγμένα διακρίνει το IC και το CHB (10)] συγκρίθηκαν δοκιμάζοντας διαδοχικούς ορούς (1050) από φορείς HBsAg με και χωρίς ηπατική νόσο και ελέγχους (χωρίς δείκτες HBV) χρησιμοποιώντας την τυπική καμπύλη βαθμονόμησης Paul-Ehrlich-Institute (Γερμανία) (0-100-PEI Units). Με τις καμπύλες δέκτη-λειτουργικά-χαρακτηριστικά (ROC), η αποκοπή Architect για CHB ήταν 0,130-S/CO (AUC = 0,716, SE = 0,0189). Η αναλυτική συμφωνία μεταξύ των αναλύσεων Axsym και Architect ήταν εξαιρετικά σημαντική ($p < 0,0001$, $r = 0,7737$, 95%CI 0,7482–0,7969). Το HBsAg ποσοτικοποιήθηκε όπως αναφέρθηκε προηγουμένως.^[17] Τα επίπεδα ορού του HBV DNA ποσοτικοποιήθηκαν με COBAS-TaqMan-δοκιμασία, ευαισθησία 6-IU / ml, δυναμικό-φάσμα $6-1.10 \times 10^8$ -IU / ml (Roche Diagnostic Systems Inc, Mannheim, Germany)

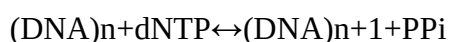
2.4. ΒΑΣΙΚΕΣ ΑΡΧΕΣ ΤΗΣ ΑΛΥΣΙΔΩΤΗΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗΣ ΠΟΛΥΜΕΡΑΣΗΣ

Η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης είναι μια τεχνική που χρησιμοποιείται για την *in vitro* απομόνωση συγκεκριμένου γονιδιακού στόχου με την επιμήκυνση εκκινητών που έχουν συμπληρωματική αλληλουχία με τις μονόκλινες αλυσίδες του DNA. Η τεχνική PCR εφευρέθηκε από τον Mullius και τους συνεργάτες του, ενώ περιγράφηκε λεπτομερώς από τον Khorana και τους συνεργάτες του μετά από μία δεκαετία. Το κύριο προτέρημα της τεχνικής αυτής είναι η δημιουργία πολλαπλών αντιγράφων του γονιδιακού στόχου.

Η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης αποτελείται από τρία κύρια στάδια, το κάθε ένα από αυτό επαναλαμβάνεται για τριάντα με σαράντα κύκλους.

1. Μετουσίωση: Κατά το στάδιο αυτό οι δεσμοί υδρογόνου που συγκρατούν την διπλή έλικα του DNA διακόπτονται με θέρμανση στους 95°C. Οι δύο αλυσίδες του δίκλωνου μορίου χωρίζουν εντελώς όταν <σπάσουν> όλοι οι δεσμοί υδρογόνου και σχηματίζονται δυο μονόκλωνες αλυσίδες. Το μέσο σημείο του εύρους θερμοκρασιών εντός του οποίου χωρίζουν οι αλυσίδες καλείται σημείο τήξεως και συμβολίζεται σε T_m . Η θερμοκρασία αυτή για μόρια DNA υπό φυσιολογικές συνθήκες κυμαίνεται μεταξύ 85-95 °C. Μόρια DNA πλούσια σε ζεύγη G-C έχουν μεγαλύτερη T_m ενώ μόρια DNA πλούσια σε ζεύγη A-Ta μικρότερη. Η T_m αυξάνει κατά 0.4 °C για κάθε ποσοστιαία αύξηση του περιεχομένου G-C.

2. Σύνθεση των εκκινητών με τις μονόκλωνες αλυσίδες του πρότυπου DNA. Στο στάδιο αυτό προστίθενται οι εκκινητές στο διάλυμα αντίδρασης. Είναι δύο ειδών οι εκκινητές: ο εμπρόσθιος που αναπτύσσεται κατά την κατεύθυνση 5'-3' και κολλάει με δεσμούς υδρογόνου στο 5'-άκρο της μονόκλωνης αλυσίδας του γονιδιακού στόχου και ο εκκινητής που αντιγράφει κατά την κατεύθυνση 3'-5' και κολλάει στο 3'άκρο της μονόκλωνης αλυσίδας του DNA.
3. Επιμήκυνση. Στο στάδιο αυτό γίνεται η αντιγραφή του γονιδιακού στόχου. Γενικά κατά την αντιγραφή του DNA υπάρχει ένα ένζυμο η DNA πολυμεράση που καταλύει την σύνθεση της συμπληρωματικής αλυσίδας του DNA κατά την κατεύθυνση 5'-3' επιμηκώνοντας μια αλυσίδα εκκίνησης που βρίσκεται στο 5'άκρο του γονιδιακού στόχου με ελεύθερο 3'-OH άκρο. Η DNA πολυμεράση καταλύει την προσθήκη βήμα προς βήμα μονάδων δεοξυριβονουκλεοτιδίων σε μια αλυσίδα DNA.



Η τεχνική της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης στηρίζεται στην ίδια αρχή με την διαφορά ότι χρησιμοποιεί δύο αλυσίδες εκκίνησης οι οποίοι έχουν αλληλουχία βάσεων συμπληρωματική με αυτή των μονόκλωνων αλυσίδων του DNA που σχηματίστηκαν κατά την μετουσίωση του στο προηγούμενο στάδιο. Η πολυμεράση που χρησιμοποιείται στο στάδιο αυτό είναι η Taq πολυμεράση η οποία προστίθεται στο διάλυμα αντίδρασης μαζί με τις τέσσερις πρόδρομες ενώσεις –τα 5'τριφωσφορικά δεοξυριβονουκλεοτίδια (dNTPs), dATP, dGTP και dCTP.

Για την ολοκλήρωση της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης απαιτούνται επίσης και ιόντα Mg^{+2} . Όπως είναι αντιληπτό και οι δύο μονόκλωνες αλυσίδες αντιγράφονται κατά την διάρκεια του PCR. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα μια εκθετική αύξηση των αντιγραφών του επιθυμητού γονιδίου. Θεωρώντας ότι υπάρχει μόνο ένα αντίγραφο πριν ξεκινήσουν οι κύκλοι της αντίδρασης PCR, μετά από ένα κύκλο, θα σχηματιστούν δύο αντίγραφα, μετά από δύο κύκλους, τέσσερα αντίγραφα και εκθετικά μετά από N κύκλους 2^N αντίγραφα.

Σύνοψη και εξήγηση της εξέτασης Cobas Amplicor HBV monitor test)

Το Cobas Amplicor HBV Monitor είναι μια in vitro εξέταση ενίσχυσης νουκλεικού οξέος για την ποσοτικοποίηση του DNA Ιού Ηπατίτιδας Β (HBV) στον ανθρώπινο πλάσμα και στον ορό αίματος για χρήση στον COBAS AMPLICATOR αναλυτή. Η εξέταση μπορεί να ποσοτικοποιήσει HBV DNA σε εύρος 300 έως 200.000 HBV DNA αντίγραφα/ΜΙ.

2.5. ΒΑΣΙΚΕΣ ΑΡΧΕΣ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

Το COBAS AMPLICATOR HBV MONITOR Test βασίζεται σε τέσσερις κύριες διαδικασίες: προετοιμασία δείγματος, ενίσχυση με Αλυσιδωτή Αντίδραση Πολυμεράσης (PCR) του DNA στόχου με τη χρήση ειδικών για το HBV συμπληρωματικών εκκινητών, υβριδισμό των ενισχυμένων προϊόντων σε ολιγονουκλεοτιδικούς ιχνηθέτες ειδικών για το στόχο και ανίχνευση των δεσμευμένων στον ιχνηθέντη ενισχυμένων προϊόντων με χρωματομετρικό προσδιορισμό. Το COBAS AMPLICATOR HBV MONITOR Test επιτρέπει την ταυτόχρονη ενίσχυση PCR του HBV και του DNA Προτύπου Ποσοτικοποίησης HBV. Το αντιδραστήριο Κυρίου Μίγματος περιέχει ένα ζεύγος εκκινητών ειδικών τόσο για το HBV DNA στόχου όσο και για το DNA Προτύπου Ποσοτικοποίησης HBV.

Η ποσοτικοποίηση του ιικού DNA του HBV εκτελείται με τη χρήση του Προτύπου Ποσοτικοποίησης HBV. Το Πρότυπο Ποσοτικοποίησης HBV είναι ένα μη μολυσματικό γραμμικοποιημένο πλασμίδιο που περιέχει τις ίδιες ακριβώς περιοχές δέσμευσης εκκινητή με το HBV DNA στόχο και μια μοναδική περιοχή δέσμευσης ιχνηθέτη που επιτρέπει το διαχωρισμό του κλώνου του Προτύπου Ποσοτικοποίησης HBV από τον κλώνο του HBV στόχου. Το Πρότυπο Ποσοτικοποίησης HBV αντισταθμίζει τα αποτελέσματα της αναστολής και ελέγχει τη διαδικασία ενίσχυσης για να καταστεί δυνατή η ακριβής ποσοτικοποίηση του HBV DNA σε κάθε δείγμα.

Προετοιμασία δείγματος

Το HBV DNA απομονώνεται απευθείας από τον ορό ή το πλάσμα με λύση των καθιζήμενων σωματιδίων του ιού με ένα αλκαλικό διάλυμα, εξουδετέρωση για την παροχή των κατάλληλων συνθηκών ρυθμιστικού διαλύματος και κατακρήμνιση της πολυαιθυλενικής γλυκόζης (PEG) που ακολουθείται από φυγοκέντρωση. Σε κάθε δείγμα εισάγεται ένας γνωστός αριθμός μορίων DNA Προτύπου Ποσοτικοποίησης HBV με το Αντιδραστήριο Λύσης.

Ενίσχυση στόχου (PCR)

Τα επεξεργασμένα δείγματα προστίθενται στο μίγμα ενίσχυσης σε σωληνάρια ενίσχυσης στα οποία πραγματοποιείται ενίσχυση PCR. Ο θερμοκυκλοποιητής του COBAS AMPLICOR Αναλυτή θερμαίνει το μείγμα αντίδρασης για την αποδιάταξη του δίκλωνου DNA και την έκθεση των αλληλουχιών –στόχου ειδικών για τον εκκινητή στο γονιδίωμα

του κυκλικού DNA HBV. Καθώς το μίγμα ψύχεται, οι εκκινητές HBV-104UB και HBV-104D υβριδίζονται στο DNA-στόχο. Το θερμοσταθερό ένζυμο *Thermus aquaticus* DNA Πολυμεράσης επεκτείνει τους υβριδισμένους εκκινητές κατά μήκος των προτύπων στόχων για τη δημιουργία ενός μορίου δίκλωνου DNA 104 ζευγών βάσεων που ονομάζεται κλώνος. Ο COBAS AMPLICOR Αναλυτής επαναλαμβάνει αυτόματα τη διαδικασία αυτήν για ένα καθορισμένο αριθμό κύκλων, καθένας από τους οποίους έχει ως αποτέλεσμα το διπλασιασμό των DNA κλώνων. Η ενίσχυση πραγματοποιείται μόνο στη μεταξύ των εκκινητών περιοχή του γονιδιώματος HBV. Δεν ενισχύεται ολόκληρο το γονιδίωμα HBV.

Μετά την ενίσχυση PCR, ο COBAS AMPLICOR Αναλυτής προσθέτει αυτόματα Διάλυμα Αποδιάταξης στα A-tubes για τη χημική αποδιάταξη του κλώνου HBV και του κλώνου του Προτύπου Ποσοτικοποίησης HBV σχηματίζοντας μονόκλωνο DNA (αντίδραση υβριδισμού). Ένα εναιώρημα μαγνητικών σωματιδίων ανίχνευσης με επίστρωση ενός ολιγονουκλεοτιδικού ιχνηθέντη ειδικού για τον κλώνο HBV προστίθεται σε καθεμία από τις τέσσερις αραιώσεις του κλώνου HBV ή σε καθεμία από τις δύο αραιώσεις του κλώνου Προτύπου Ποσοτικοποίησης HBV αντίστοιχα. Οι επισημασμένοι με βιοτίνη κλώνοι υβριδίζονται για το στόχο στους ιχνηθέντες που είναι δεσμευμένοι στα μαγνητικά σωματίδια.

Μετά την αντίδραση υβριδισμού, ο COBAS AMPLICOR Αναλυτής πραγματοποιεί πλύση των μαγνητικών σωματιδίων στα D-cup για την απομάκρυνση των δεσμευμένων υλικών (αντίδραση ανίχνευσης). Με την παρουσία του υπεροξειδίου του υδρογόνου, η δεσμευμένη στο σωματίδιο υπεροξειδάση ραφανίδας συντελεί στο σχηματισμό ενός έγχρωμου συμπλόκου, η απορρόφηση του οποίου μετράται σε μήκος κύματος των 660 nm από τον COBAS AMPLICOR Αναλυτή.

Ποσοτικοποίηση του HBV DNA

Το COBAS AMPLICOR HBV MONITOR ποσοτικοποιεί το ιικό DNA του HBV χρησιμοποιώντας μια δεύτερη αλληλουχία στόχου (Πρότυπο Ποσοτικοποίησης HBV), η οποία προστίθεται σε κάθε δείγμα εξέτασης σε γνωστή συγκέντρωση. Το Πρότυπο Ποσοτικοποίησης HBV είναι ένα μη μολυσματικό, μόριο DNA γραμμικοποιημένου πλασμιδίου 2.766 νουκλεοτιδίων με περιοχές δέσμευσης εκκινητή ίδιες με αυτές της αλληλουχίας στόχου HBV.

Το Πρότυπο Ποσοτικοποίησης HBV περιέχει περιοχές δέσμευσης εκκινητή HBV-104UB και HBV-104D και δημιουργεί ένα κλώνο με ίδιο μήκος και με ίδια σύνθεση βάσεων όπως το DNA στόχος του HBV. Η περιοχή δέσμευσης ιχνηθέτη του κλώνου του Προτύπου Ποσοτικοποίησης HBV έχει τροποποιηθεί για τη διαφοροποίηση του Προτύπου Ποσοτικοποίησης HBV από τον κλώνο στόχου HBV.

Ο COBAS AMPLICOR Αναλυτής υπολογίζει τη συνολική απορρόφηση HBV και τη συνολική απορρόφηση του Προτύπου Ποσοτικοποίησης HBV και τη συνολική απορρόφηση του Προτύπου Ποσοτικοποίησης HBV πολλαπλασιάζοντας την απορρόφηση κάθε D-cup και έπειτα επιλέγει το D-cup με τη μέγιστη συνολική απορρόφηση. Η υπολογισμένη συνολική απορρόφηση είναι ευθέως ανάλογη με την ποσότητα του HBV DNA ή του DNA Προτύπου Ποσοτικοποίησης HBV που υπάρχει σε κάθε αντίδραση ενίσχυσης PCR.

Προετοιμασία Δειγμάτων και Ορών Ελέγχου

Αρχικά κάνουμε απόψυξη στα επεξεργασμένα δείγματα και στους ορούς σε θερμοκρασία δωματίου και τα φυγοκεντρούμε για 15λεπτά. Έπειτα προβαίνουμε στις εξής διαδικασίες:”

1. Επικολλούμε ετικέτα σε ένα σωληνάριο 1,5ML με βιδωτό πώμα για κάθε δείγμα ασθενή και σε τρία επιπλέον σωληνάρια με την επισήμανση HBV(-)C, HBV L(+)C και HBVH(+) C, αντίστοιχα.
2. Αναμειγνύουμε το HBM LYS 1 (ειδικό αντιδραστήριο) στροβιλίζοντας για 10 λεπτά. Προσθέτουμε 50ML HBM LYS 1 σε κάθε ένα από τα σωληνάρια χρησιμοποιώντας μία επαναληπτική συσκευή πιπέτας.
3. Αναμειγνύουμε το NHP στροβιλίζοντας για 10λεπτά. Σε καθένα από τα τρία σωληνάρια ορού ελέγχου που περιέχουν HBM LYS 1, προσθέστε 100ML NHP και στροβιλίζουμε για 10 λεπτά.
4. Σε κάθε ένα από τα σωληνάρια με τις αντίστοιχες επισημάνσεις που περιέχουν HBM LYS 1, προσθέτουμε 100 ML του δείγματος και στροβιλίζουμε για 10 δευτερόλεπτα.
5. Τοποθετούμε σήμανση προσανατολισμού σε κάθε σωληνάριο και εισαγάγουμε τα σωληνάρια στη μικροφυγόκεντρο με τις σημάνσεις προσανατολισμού προς τα έξω έτσι ώστε τα καθιζήματα να ευθυγραμμίζονται με τις σημάνσεις προσανατολισμού. Φυγοκεντρούμε τα σωληνάρια δειγμάτων και ορών ελέγχου στη μέγιστη ταχύτητα για 5 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου.

6. Χρησιμοποιούμε μια πιπέτα μεταφοράς για κάθε δείγμα και ορό ελέγχου αφαιρώντας προσεκτικά το υπερκείμενο υγρό από κάθε σωληνάριο. Έπειτα αφαιρούμε όσο το περισσότερο υγρό χωρίς να σπάσει το καθίζημα. Αποσύρουμε αργά το υπερκείμενο υγρό, επιτρέποντας την εκροή του υγρού από τα πλάγια του σωληναρίου.

7. Αναμειγνύουμε το HBV(-) στροβιλίζοντας για 10 δευτερόλεπτα. Προσθέτουμε 25ML HBV(-) C σε καθένα από τα σωληνάρια δείγματος.

8. Αναμειγνύουμε το HBV L (+) C και προσθέτουμε 25Ml HBV L(+)C στο σωληνάριο με την ετικέτα HBV L(+) C.

9. Αναμειγνύουμε έπειτα το HBV H(+) C στροβιλίζοντας για 10 δευτερόλεπτα. Προσθέτουμε 25 μl HBV H(+) C στο σωληνάριο με την ετικέτα HBV L(+) c.

10. Προετοιμάζουμε το αντιδραστήριο λύσης, αναμειγνύοντας το HBMQS στροβιλίζοντας για 10 δευτερόλεπτα. Προσθέτουμε έπειτα 50 μl HBM QS σε ένα σωληνάριο του HBM LYS 2 και αναμειγνύουμε καλά στροβιλίζοντας για 15 δευτερόλεπτα.

11. Προσθέτουμε 100Ml HBM LYS 3 σε κάθε σωληνάριο και ανακατεύουμε καλά στροβιλίζοντας για 5-10 δευτερόλεπτα. Επωάζουμε όλα τα σωληνάρια για 10 λεπτά στους 100 βαθμούς Κελσίου.

12. Τοποθετούμε τα σωληνάρια στη φυγόκεντρο και τα φυγοκεντρούμε για 15 λεπτά στη μέγιστη ταχύτητα σε θερμοκρασία δωματίου για τη συλλογή αδιάλυτων σωματιδίων. Ενισχύουμε τα επεξεργασμένα δείγματα και τους ορούς εντός μίας ώρας ή αποθηκεύουμε τα κατεψυγμένα στους -20 βαθμούς Κελσίου έως -80 βαθμούς Κελσίου έως και ένα μήνα με όχι περισσότερες από μια κατάψυξη. Περισσότεροι από έναν κύκλοι κατάψυξης –απόψυξης μπορεί να οδηγήσουν σε απώλεια αριθμού αντιγραφών.

13. Προσθέτουμε 50μl από κάθε επεξεργασμένο δείγμα και ορό ελέγχου στα A-tubes με τις αντίστοιχες επισημάνσεις που περιέχουν Κύριο Μίγμα Εργασίας, χρησιμοποιώντας μια συσκευή μικροπιπέτας.

14. Τέλος καταγράφουμε τις θέσεις των ορών ελέγχου και των δειγμάτων. Η ενίσχυση πρέπει να ξεκινήσει μία ώρα από το χρόνο προσθήκης των επεξεργασμένων δειγμάτων και ορών ελέγχου στα A-tubes. Τελειώνοντας μεταφέρουμε τα προετοιμασμένα δείγματα στα A-rings στην περιοχή ενίσχυσης-ανίχνευσης.

Έπειτα από αυτή τη φάση θα ζητηθεί από τον χειριστή να εισάγει στο μηχάνημα το συγκεκριμένο αριθμό παρτίδας αντιγράφου Προτύπου Ποσοτικοποίησης HBV και τα εύρη του Ορού Ελέγχου Χαμηλής (+) και Υψηλής Συγκέντρωσης (+) που παρέχονται

στην Καρτέλα Δεδομένων COBAS AMPLICOR HBV MONITOR. Τα εύρη αυτά εισάγονται στον COBAS AMPLICOR Αναλυτή χρησιμοποιώντας το πληκτρολόγιο, το σαρωτή γραμμωτού κώδικα ή το λογισμικό AMPLILINK κατά τη ρύθμιση της Λίστας Εργασιών.

Ο COBAS AMPLICOR Αναλυτής επιτρέπει την εκτέλεση 2 ξεχωριστών ποσοτικών προσδιορισμών στο περιεχόμενο κάθε A-tube. Η απαιτούμενη ποσότητα κάθε αντιδραστηρίου ανίχνευσης υπολογίζεται από τον Αναλυτή και ο έλεγχος φόρτωσης που πραγματοποιείται στην αρχή κάθε ανάλυσης προσδιορίζει αν υπάρχουν αρκετά διαθέσιμα αντιδραστήρια για τις απαιτούμενες εξετάσεις.

Αποτελέσματα εξέτασης

Τα αποτελέσματα της εξέτασης παρέχονται από τον COBAS AMPLICOR Αναλυτή σε αντίγραφα /ML. Τα αποτελέσματα αυτά πρέπει να μετατραπούν χειροκίνητα σε Διεθνείς Μονάδες (IU/ML), χρησιμοποιώντας το συντελεστή μετατροπής.

Υπολογισμός Αποτελέσματος

Για κάθε δείγμα και ορό ελέγχου, ο COBAS AMPLICOR Αναλυτής προσδιορίζει αυτόματα τον τίτλο του HBV DNA ως εξής:

- Επιλέγει όλες τις αραιώσεις του κλώνου HBV και του Προτύπου Ποσοτικοποίησης που βρίσκονται εντός του γραμμικού εύρους απορρόφησης της ανάλυσης. Τουλάχιστον μία αραιώση κλώνου HBV και μία αραιώση κλώνου Προτύπου Ποσοτικοποίησης πρέπει να βρίσκονται εντός αυτού του γραμμικού εύρους για τον υπολογισμό ενός αποτελέσματος.
- Διορθώνει όλες τις επιλεγμένες τιμές απορρόφησης για απορρόφηση ενός αποτελέσματος.
- Καθορίζει ότι η τιμή A666 για το HBM QS είναι αποδεκτή επιβεβαιώνοντας ότι τα βήματα προετοιμασίας δείγματος, ενίσχυσης και ανίχνευσης εκτελέστηκαν σωστά.
- Καθορίζει ότι όλες οι αραιώσεις στόχου του HBV(-) C αποδίδουν τιμές $A660 \leq 0,099$
- Ελέγχει για τιμές A660 εκτός αλληλουχίας.
- Καθορίζει το συνολικό HBV και το συνολικό QS A660 για όλες τις επιλεγμένες αραιώσεις και υπολογίζει τον αριθμό των αντιγράφων για τα HBV L (+)C και HBV H (+)C και για κάθε δείγμα με χρήση της μέγιστης συνολικής τιμής A660

- Καθορίζει ότι ο υπολογισμένος αριθμός αντιγραφών για τα HBVL(+) C και HBV H (+)C βρίσκεται εντός του αποδοδιδομένου εύρους.
- Δημιουργεί μια εκτύπωση που περιέχει τιμές A660 για όλες τις αραιώσεις του HBV και του Προτύπου Ποσοτικοποίησης και τον υπολογισμένο αριθμό αντιγραφών (HBV DNA αντίγραφα)για κάθε δείγμα και ορό ελέγχου. Ο αριθμός αντιγραφών εμφανίζεται με επιστημονικό συμβολισμό κάτω από την ταυτότητα του δείγματος στην εκτύπωση αποτελέσματος.

Υπολογισμός του IU/ml

Με βάση μια εσωτερική μελέτη ο συντελεστής μετατροπής για το Πρώτο Διεθνές Πρότυπο για το HBV DNA είναι 5,26 HBV DNA αντίγραφα. Για να μετατρέψουμε τα αποτελέσματα της εξέτασης σε IU/ML ακολουθήσαμε τον εξής υπολογισμό:

$$(1 \text{ Αντίγραφο/ml})/(5,26 \text{ Αντίγραφα/IU})=\text{IU/ml}$$

$$1 \text{ Αντίγραφο/ml}=0,190\text{IU/mL}$$

2.6. ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ANTI-HBc ΚΑΙ HBV ΙΑΙΜΙΑΣ

Παρά τη χρησιμοποίηση ευαίσθητων δοκιμασιών (τρίτης γενεάς)για τον υποχρεωτικό έλεγχο των ασθενών για το αντιγόνο επιφανείας τοθ ιού ηπατίτιδας B (HBsAg), ακόμη και σήμερα εξακολουθεί να εμφανίζεται μετά μετάγγιση ηπατίτιδα B(MMHB) αποτελώντας το 10%περίπου των περιπτώσεων μετά μετάγγισης ηπατίτιδας, σε λήπτες αίματος χωρίς HBsAg. Το αντίσωμα κατά του αντιγόνου του πυρηνοκαπιδίου του ιού της ηπατίτιδας B (αντι-HBc) είναι ο πιο κοινός δείκτης παλαιάς ή ενεργού λοίμωξης από τον ιό της ηπατίτιδας B(HBV).Το αντίσωμα αυτό εμφανίζεται νωρίς κατά την οξεία φάση της νόσου και συνήθως παραμένει σε όλη τη διάρκεια της ζωής. Δεν είναι προστατευτικό αντίσωμα και σε χρόνια HBV λοίμωξη διατηρείται σε υψηλούς τίτλους. Ο έλεγχος των ασθενών και αιμοδοτών για αντι-core άρχισε στις ΗΠΑ το 1986 όχι για την πρόληψη της ηπατίτιδας B αλλά ως επικουρικός δείκτης μαζί με τον προσδιορισμό της αμινοτρανσφεράσης της αλανίνης ALT σε μια προσπάθεια μείωσης της μετά μετάγγισης μη-A,μη –B ηπατίτιδας.

Τα παραπάνω εφαρμόστηκαν αργότερα και σε χώρες της Δυτικής Ευρώπης. Ο έλεγχος των αιμοδοτών για αντι-HBc στις παραπάνω χώρες εξακολουθεί να γίνεται και σήμερα, όχι πλέον για την πρόληψη της ηπατίτιδας C αλλά για την έμμεση υπόδειξη

μόλυνσης από τον ιό της επίκτητης ανοσοανεπάρκειας του ανθρώπου(HIV)για άτομα που ανήκουν σε ομάδες μεγάλου κινδύνου, καθώς και για να ελαττώσει τον κίνδυνο της MMHB.

Είναι γνωστό ότι στην οξεία HBV λοίμωξη, εκτός από την περίοδο του παραθύρου που προηγείται της δυνατότητας ανίχνευσης του HBsAg στην αρχική φάση της νόσου, υπάρχει και μια δεύτερη περίοδος αργότερα (στη φάση της κάθαρσης) όπου ο ασθενής μπορεί να είναι μολυσματικός ενώ το HBsAg να είναι κάτω από τα όρια ανίχνευσης που έχουν και οι πλέον ευαίσθητες διαγνωστικές μέθοδοι. Τότε το IgM αντι-HBc είναι ο μόνος δείκτης οξείας HBV λοίμωξης προ της εμφάνισης του προστατευτικού αντισώματος κατά του HBsAg (αντι-HBs) μαζί με το DNA του ιού(HBV-DNA).

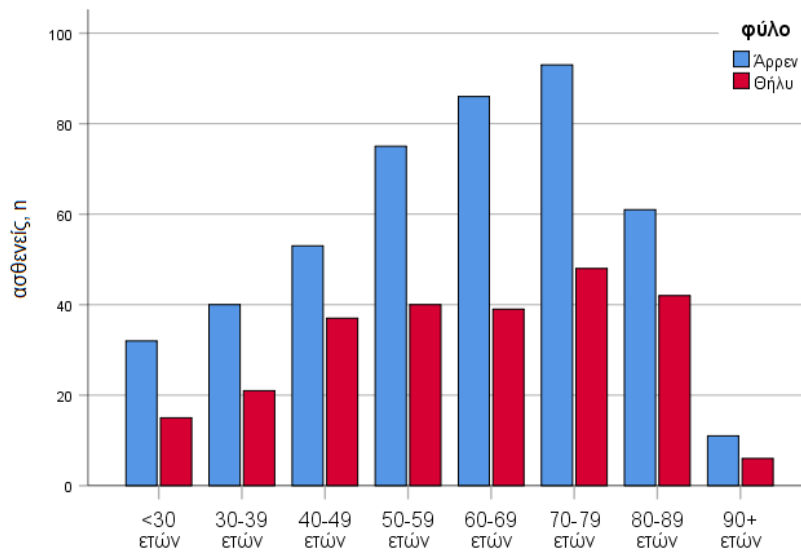
Επιπρόσθετα, πρόσφατα κ παλιότερα βιβλιογραφικά δεδομένα έχουν δείξει τη μετάδοση MMHB από αιμοδότες αρνητικούς σε όλους τους δείκτες HBV λοίμωξης (HBsAg, anti-HBc και HBV-DNA) και με φυσιολογικές ALT.Επίσης, μεταλλάξεις του HBV που μπορούν να διαφύγουν από τις διαγνωστικές μεθόδους ανίχνευσης του HBsAg μπορεί να έχουν ως μόνο εργαστηριακό εύρημα την παρουσία αντι-HBc.Το απομονωμένο anti-HBc (IAHBc) είναι ένα συγκεκριμένο ορολογικό πρότυπο που απαντάται συνήθως σε ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς. Υπάρχει συνεχής συζήτηση σχετικά με τη διαχείριση ασθενών με IAHBc. Εδώ, συνοψίζουμε τις τρέχουσες οδηγίες και τα νεότερα στοιχεία. Η συχνότητα του IAHBc είναι μεταβλητή, με υψηλότερο επιπολασμό σε ορισμένους πληθυσμούς, όπως άτομα που ζουν με HIV και άλλους ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς. Ο κίνδυνος επανενεργοποίησης του HBV εξαρτάται από παράγοντες ξενιστή (συμπεριλαμβανομένης της ανοσοκαταστολής) και ιικών παράγοντες. Είναι πλέον καλά τεκμηριωμένο ότι οι ανοσοκατεσταλμένοι ασθενείς μπορούν να ταξινομηθούν σε τρεις ομάδες για κίνδυνο ανάλογα με τον τύπο της ανοσοκαταστολής ή/και της θεραπείας. Σε ασθενείς υψηλού κινδύνου, Η θεραπεία με HBV πρέπει να εξετάζεται συστηματικά. Σε ασθενείς με μέτριο κίνδυνο, η απόφαση βασίζεται στο επίπεδο του HBV DNA (προληπτική θεραπεία ή παρακολούθηση και εμβολιασμός). Σε ασθενείς με χαμηλό κίνδυνο, ο εμβολιασμός HBV είναι μια άλλη πιθανή προσέγγιση, αν και απαιτούνται περαιτέρω μελέτες για την αξιολόγηση του τύπου της προληπτικής στρατηγικής.

2.7. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Για την αναλυτική περιγραφή του πληθυσμού των ασθενών και την συσχέτιση των ικών παραμέτρων με το φύλο, τις ηλικιακές ομάδες και τον τόπο καταγωγής χρησιμοποιήθηκαν τόσο περιγραφικά όσο και επαγωγικά στατιστικά. Για την περιγραφή των παραμέτρων που εκφράζονται σε συνεχή κλίμακα αλλά και για τα συνεχή χαρακτηριστικά των ασθενών χρησιμοποιήθηκαν περιγραφικά στατιστικά κεντρικής θέσης και διασποράς όπως η μέση τιμή και η τυπική απόκλιση και η κατανομή των τιμών αποδόθηκε με ιστογράμματα. Διαφορές μεταξύ διχοτομημένων παραμέτρων εξετάστηκαν με το χ^2 test. Η παρουσία καθενός από τους δείκτες των ηπατίτιδων συσχετίστηκε με το φύλο, τις ηλικιακές ομάδες και τον τόπο καταγωγής. Η κατανομή των δεικτών των ηπατίτιδων ανάμεσα στο φύλο, τις ηλικιακές ομάδες και τον τόπο καταγωγής εξετάστηκε κατά περίπτωση με πίνακες διπλής εισόδου (cross-tabulations) ή πίνακες πολλαπλών αποκρίσεων (custom response tables) και ελέγχθηκαν με δοκιμασία χ^2 (chi-square test) κατά περίπτωση. Οι προϋποθέσεις εφαρμογής του χ^2 έχουν ελεγχθεί και τηρηθεί, δηλαδή έγινε διόρθωση κατά Yates όταν μία ή περισσότερες αναμενόμενες τιμές ήταν μικρότερες του 5 και εφαρμογή του Fisher exact test όπου δεν ήταν δυνατή η εφαρμογή του χ^2 κατά Yates. Τιμές $p < 0.05$ θεωρούνται στατιστικά σημαντικές. Όλες οι αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν με το λογισμικό στατιστικής ανάλυσης Statistical Package for the Social Sciences (SPSS v.25, IBM, Armonck, USA).

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Στην Εικόνα 1 παρουσιάζεται η κατανομή των ασθενών ανά ομάδα ηλικίας και φύλο. Σε σύνολο 699 ασθενών, το δείγμα μας αποτελούνταν από 451 άνδρες (64.5%) και 248 γυναίκες (35.5%) με ηλικία 61.0 ± 19.0 έτη (εύρος: 17-98 έτη). Δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά στη μέση ηλικία ανδρών-γυναικών (60.7 ± 18.9 vs. 61.5 ± 19.3 έτη, $F=0.556$, $df=697$, $p=0.603$). Επιπρόσθετα δεν διαπιστώθηκε διαφορά στην ποσοστιαία κατανομή του φύλου ανά ομάδα ηλικιακής κατηγορίας (Πίνακας 1, $\chi^2=3.957$, $p=0.752$).



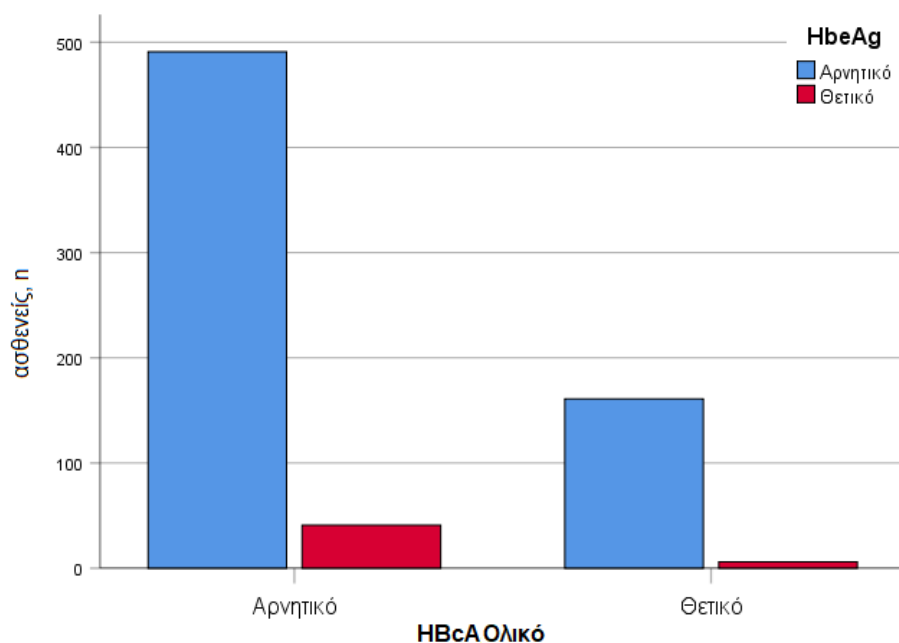
Εικόνα 1. Αριθμός ασθενών ανά ηλικιακή ομάδα και φύλο.

Πίνακας 1. Πίνακας διπλής εισόδου (crosstabulation) για την % κατανομή φύλου στις ηλικιακές ομάδες

			Άρρεν	Θήλυ	
ηλικιακές_κατηγορίες	<30 ετών	Count	32 _a	15 _a	47
		% within ηλικιακές_κατηγορίες	68.1%	31.9%	100%
	30-39 ετών	Count	40 _a	21 _a	61
		% within ηλικιακές_κατηγορίες	65.6%	34.4%	100%
	40-49 ετών	Count	53 _a	37 _a	90
		% within ηλικιακές_κατηγορίες	58.9%	41.1%	100%
	50-59 ετών	Count	75 _a	40 _a	115
		% within ηλικιακές_κατηγορίες	65.2%	34.8%	100%
	60-69 ετών	Count	86 _a	39 _a	125
		% within ηλικιακές_κατηγορίες	68.8%	31.2%	100%

	70-79 ετών	Count	93 _a	48 _a	141
		% within ηλικιακές_κατηγορίες	66.0%	34.0%	100%
	80-89 ετών	Count	61 _a	42 _a	103
		% within ηλικιακές_κατηγορίες	59.2%	40.8%	100%
	90+ ετών	Count	11 _a	6 _a	17
		% within ηλικιακές_κατηγορίες	64.7%	35.3%	100%
Total		Count	451	248	699
		% within ηλικιακές_κατηγορίες	64.5%	35.5%	100%

Από την ανάλυση του δείγματος πρόεκυψαν 167 (23.9%) ασθενείς με θετικό HBcAOλικό. Από τους ασθενείς αυτούς 161 (96.4%) είχαν αρνητικό και 6 (3.6%) είχαν θετικό HBeAg (Εικόνα 2). Επί του συνόλου του δείγματος επομένως, 0.9% (6/699) των ασθενών βρισκόταν σε ανενεργή φάση ηπατίτιδας Β (θετικό HBcAOλικό **και** θετικό HBeAg) (Πίνακας 2).



Εικόνα 2. Αριθμός ασθενών σε ανενεργή φάση ηπατίτιδας Β (θετικό HBcAOλικό και θετικό HBeAg).

Πίνακας 2. Πίνακας διπλής εισόδου (crosstabulation) HBcAΟλικό* HBeAg

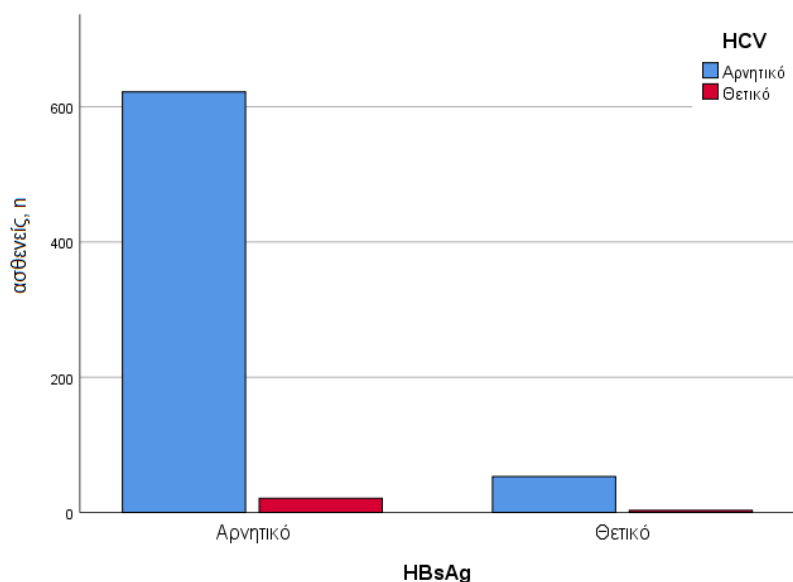
			HBeAG		
			Αρνητικό	Θετικό	
HbcA_Ολικό	Αρνητικό	Count	491 _a	41 _a	532
		% within HbcA_Ολικό	92.3%	7.7%	100%
		% of Total	70.2%	5.9%	76%
	Θετικό	Count	161 _a	6 _a	167
		% within HbcA_Ολικό	96.4%	3.6%	100%
		% of Total	23.0%	0.9%	23,9%
	Total	Count	652	47	699
		% within HbcA_Ολικό	93.3%	6.7%	100%
		% of Total	93.3%	6.7%	100%

Τα ποσοστά ανδρών-γυναικών με θετικό HBsAg και αρνητικό HBsAb παρουσιάζονται στον Πίνακα 3. Πιο συγκεκριμένα 5.6% των ανδρών του συνολικού δείγματος (25/451) και 7.7% (19/248) του συνόλου των γυναικών εμφάνισαν HBsAg(+)/HBsAb(-).

Πίνακας 3. Πίνακας πολλαπλής εισόδου (custom table) HBsAg * HBsAb * φύλο

				Άρρεν Count	Θήλυ Count
HBsAg	Αρνητικό	HbsAb	Αρνητικό	299	165
			% total within φύλο	66.3	66.5
		Θετικό	Αρνητικό	118	61
			% total within φύλο	26.2	24.6
	Θετικό	HbsAb	Αρνητικό	25	19
			% total within φύλο	5.5	7.7
		Θετικό	Αρνητικό	9	3
			% total within φύλο	2.0	1.2

Επιπρόσθετα 56 (8%) ασθενείς είχαν θετικό HBsAg και 24 ασθενείς (3.4%) είχαν θετικό HCV. Από τους 56 ασθενείς με θετικό HBsAg, 53 (94.6%) είχαν αρνητικό και 3 (5.4%) είχαν θετικό HCV (Εικόνα 3). Επί του συνόλου του δείγματος επομένως, 0.4% (3/699) των ασθενών είχε θετικό HBsAg και θετικό HCV (Πίνακας 4).

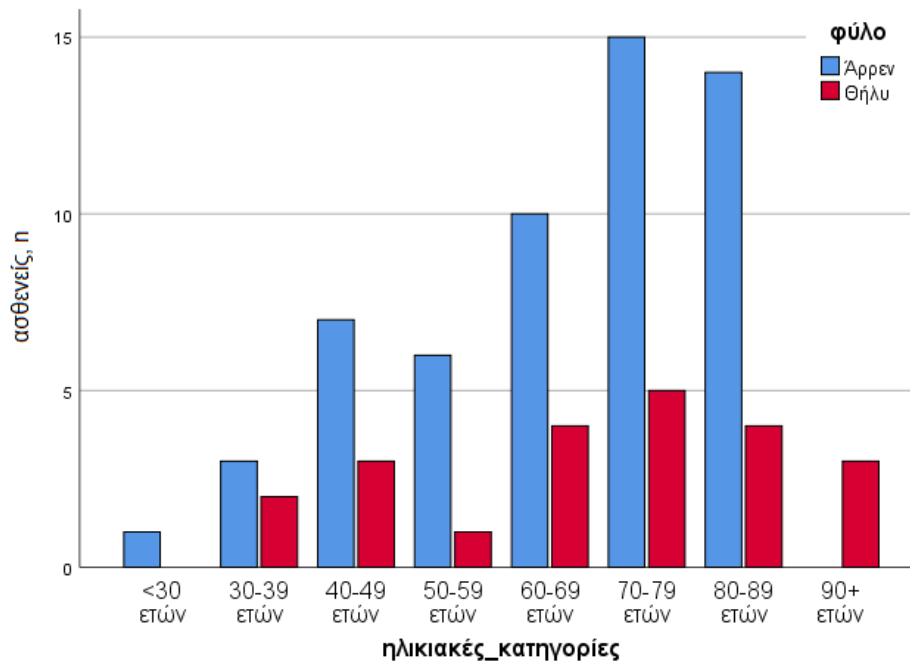


Εικόνα 3. Επίπτωση ασθενών με θετικό HBsAg και θετικό HCV.

Πίνακας 4. Πίνακας διπλής εισόδου (crosstabulation) HBsAg * HCV

			HCV		
			Αρνητικό	Θετικό	
HBsAg	Αρνητικό	Count	622 _a	21 _a	643
		% within HBsAg	96.7%	3.3%	100%
		% of Total	89.0%	3.0%	92%
	Θετικό	Count	53 _a	3 _a	56
		% within HBsAg	94.6%	5.4%	100%
		% of Total	7.6%	0.4%	8%
Total	Count	675	24	699	
	% within HBsAg	96.6%	3.4%	100%	
	% of Total	96.6%	3.4%	100%	

Από το σύνολο του δείγματος 78 ασθενείς (11.2%) είχαν φυσική ανοσία (HBsAg=αρνητικό, HBsAb=θετικό και anti-HBc=θετικό). Από το σύνολο των ασθενών με φυσική ανοσία, 56 ασθενείς (71.8%) ήταν άνδρες και 22 ασθενείς (28.2%) ήταν γυναίκες (Εικόνα 4). Δεν διαπιστώθηκε διαφορά στην κατανομή ανδρών γυναικών με φυσική ανοσία στις επιμέρους ηλικιακές ομάδες (Πίνακας 5, $\chi^2=9.479$, $p=0.220$).



Εικόνα 4. Επίπτωση της φυσικής ανοσίας ανά φύλο και ηλικιακή ομάδα.

Πίνακας 5. Πίνακας διπλής εισόδου (crosstabulation) ηλικιακές κατηγορίες * φύλο για την φυσική ανοσία.

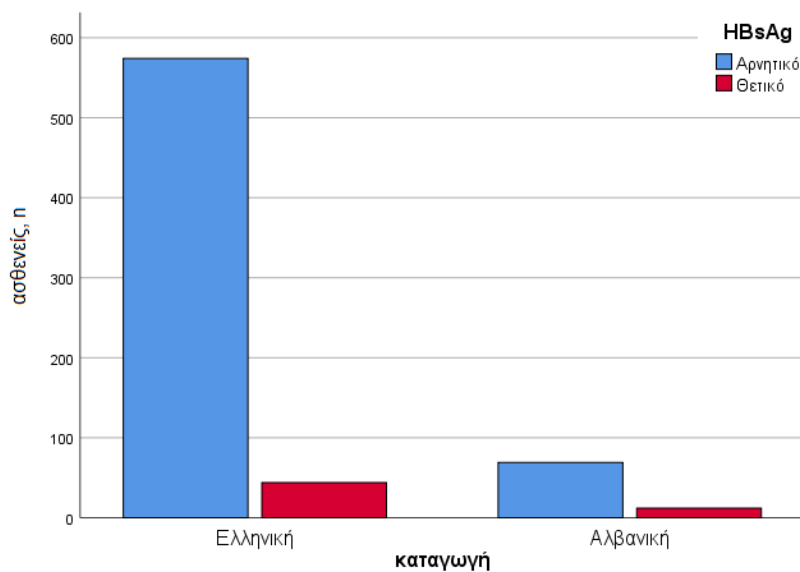
			φύλο		
			Άρρεν	Θήλυ	Total
ηλικιακές_κατηγορίες	<30 ετών	Count	1 _a	0 _a	1
		% within ηλικιακές_κατηγορίες	100%	0.0%	100%
		% of Total	1.3%	0.0%	1,3%
	30-39 ετών	Count	3 _a	2 _a	5
		% within ηλικιακές_κατηγορίες	60.0%	40.0%	100%
		% of Total	3.8%	2.6%	6,4%
	40-49 ετών	Count	7 _a	3 _a	10
		% within ηλικιακές_κατηγορίες	70.0%	30.0%	100%
		% of Total	9.0%	3.8%	12,8%

	50-59 ετών	Count	6 _a	1 _a	7
		% within ηλικιακές_κατηγορίες	85.7%	14.3%	100%
		% of Total	7.7%	1.3%	9,0%
	60-69 ετών	Count	10 _a	4 _a	14
		% within ηλικιακές_κατηγορίες	71.4%	28.6%	100%
		% of Total	12.8%	5.1%	17,9%
	70-79 ετών	Count	15 _a	5 _a	20
		% within ηλικιακές_κατηγορίες	75.0%	25.0%	100%
		% of Total	19.2%	6.4%	25,6%
Total	80-89 ετών	Count	14 _a	4 _a	18
		% within ηλικιακές_κατηγορίες	77.8%	22.2%	100%
		% of Total	17.9%	5.1%	23%
	90+ ετών	Count	0 _a	3 _b	3
		% within ηλικιακές_κατηγορίες	0.0%	100%	100%
		% of Total	0.0%	3.8%	3,8%
		Count	56	22	78
		% within ηλικιακές_κατηγορίες	71.8%	28.2%	100%
		% of Total	71.8%	28.2%	100%

Από το σύνολο του δείγματος, 81 ασθενείς (11.6%) ήταν αλλοδαποί (Πίνακας 6).
Από το σύνολο των αλλοδαπών, 12 ασθενείς (14.8%) είχαν θετικό HBsAg (Εικόνα 5).

Πίνακας 6. Πίνακας διπλής εισόδου (crosstabulation) HBsAg * καταγωγή

		καταγωγή		Total
		Ελληνική	Αλβανική	
HBsAg	Αρνητικό	Count	574 _a	69 _b
		% within καταγωγή	92,9%	85,2%
		% of Total	82,1%	9,9%
	Θετικό	Count	44 _a	12 _b
		% within καταγωγή	7,1%	14,8%
		% of Total	6,3%	1,7%
Total			Count	618
			% within καταγωγή	100,0%
			% of Total	88,4%



Εικόνα 5. Επίπτωση των αλλοδαπών ασθενών με θετικό HBsAg.

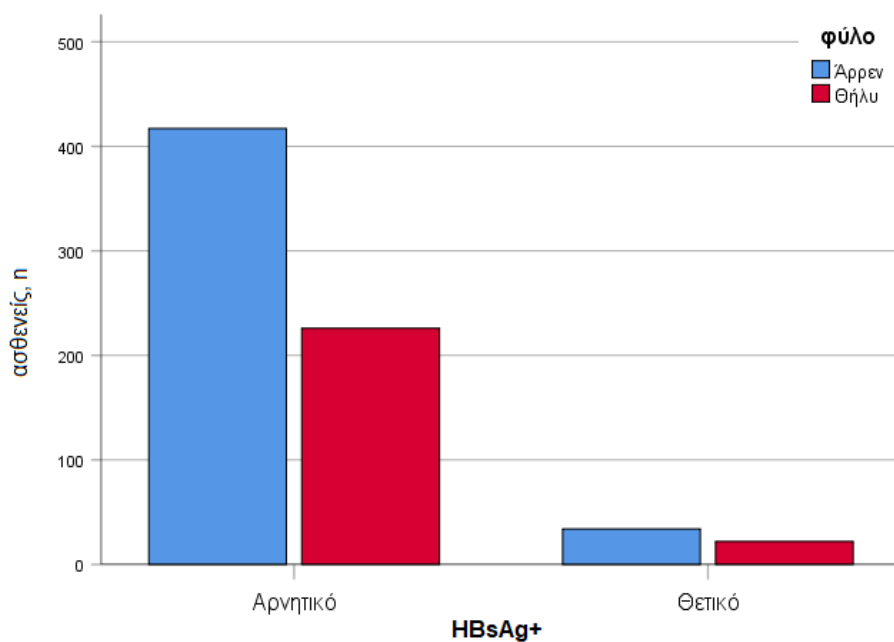
Η κατανομή των τυπικών ορολογικών δεικτών ηπατίτιδας βάση φύλου ήταν η εξής:

1. HBsAg+

Συνολικά 56 ασθενείς (8%) από το δείγμα είχαν θετικό HBsAg. Από αυτούς οι 34 ήταν άνδρες (7.5% του συνόλου των ανδρών του δείγματος) και 22 γυναίκες (8.9% του συνόλου των γυναικών του δείγματος) (Πίνακας 7 και Εικόνα 6).

Πίνακας 7. Κατανομή HBsAg+ βάση φύλου.

			φύλο		
			Άρρεν	Θήλυ	Total
HBsAg	Αρνητικό	Count	417	226	643
		% within φύλο	92.5%	91.1%	92.0%
		% of Total	59.7%	32.3%	92.0%
	Θετικό	Count	34	22	56
		% within φύλο	7.5%	8.9%	8.0%
		% of Total	4.9%	3.1%	8.0%
Total	Count	451	248	699	
	% within φύλο	100%	100%	100%	
	% of Total	64.5%	35,5%	100%	



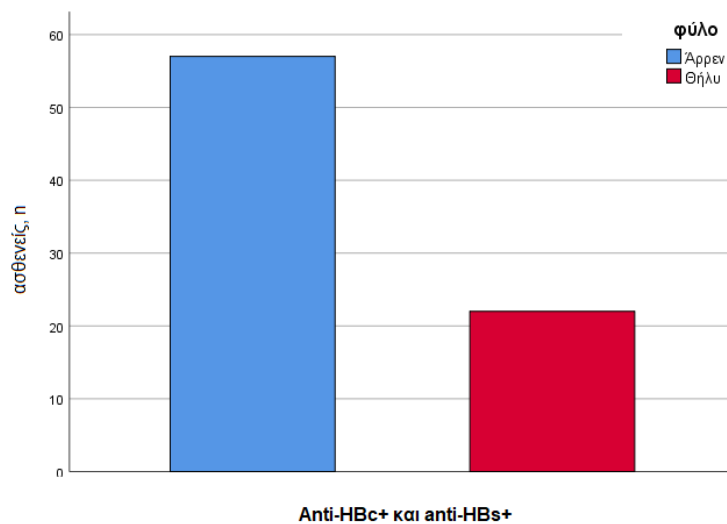
Εικόνα 6. Επίπτωση ασθενών με θετικό HBsAg βάση φύλου.

2. Anti-HBc+ και anti-HBs+

Συνολικά 79 ασθενείς (11.3%) από το δείγμα είχαν anti-HBc+ **και** anti-HBs+, με 57 (72.2%) άνδρες και 22 γυναίκες (27.8%) (Πίνακας 8 και Εικόνα 7).

Πίνακας 8. Κατανομή Anti-HBc+ και anti-HBs+ βάση φύλου.

			φύλο		Total
			Άρρεν	Θήλυ	
HbsAb	Θετικό	Count	57	22	79
		% of Total	72.2%	27.8%	100%
Total		Count	57	22	79
		% of Total	72.2%	27.8%	100%



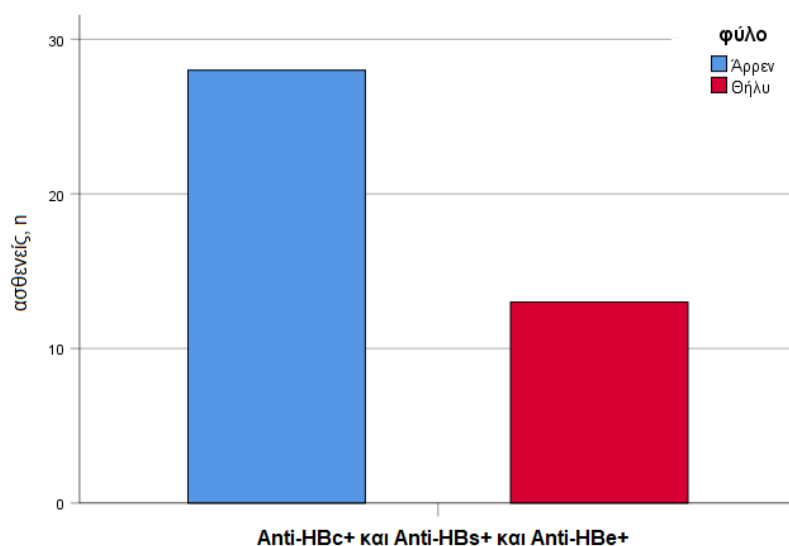
Εικόνα 7. Επίπτωση ασθενών με θετικό anti-HBc και θετικό anti-HBs βάση φύλου.

3. Anti-HBc+ και Anti-HBs+ και Anti-HBe+

Συνολικά 41 ασθενείς (5.9%) του δείγματος εμφάνισαν τον παραπάνω ορολογικό τύπο με 28 (68.3%) άνδρες και 13 (31.7%) γυναίκες (Πίνακας 9 και Εικόνα 8).

Πίνακας 9. Κατανομή Anti-HBc+ και Anti-HBs+ και Anti-HBe+ βάση φύλου.

		φύλο		
		Άρρεν	Θήλυ	Total
HbcA_Ολικό=1 AND HbsAb=1 AND HbeAb=1	Count	28	13	41
	% of Total	68.3%	31.7%	5.9%
Total	Count	28	13	41
	% of Total	68.3%	31.7%	5.9%



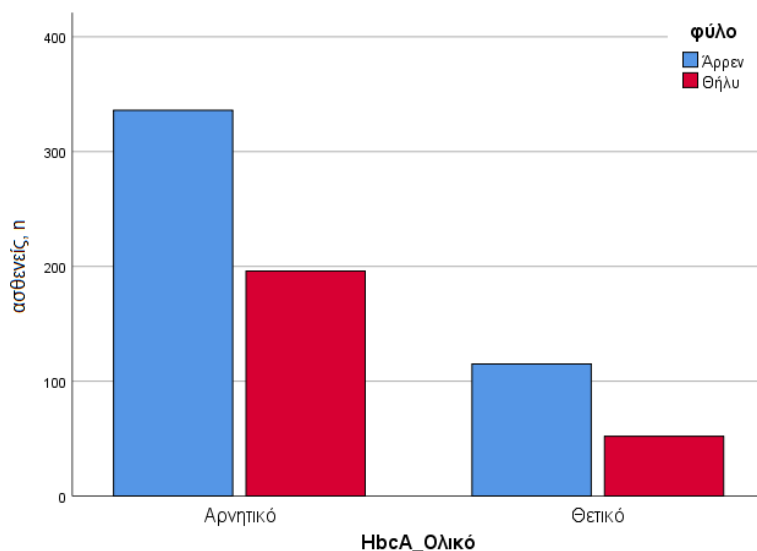
Εικόνα 8. Επίπτωση ασθενών με θετικό Anti-HBc και Anti-HBs και Anti-HBe βάση φύλου.

4. Anti-HBc+

Η επίπτωση του anti-HBc+ με βάση το φύλο παρουσιάζεται στον Πίνακα 10. Συνολικά 167 ασθενείς είχαν ως μοναδικό ορολογικό δείκτη anti-HBc+ με το ~69% να είναι άνδρες (115/167) και το ~31% γυναίκες (52/167) (Εικόνα 9).

Πίνακας 10. Κατανομή Anti-HBc+ βάση φύλου.

			φύλο		
			Άρρεν	Θήλυ	Total
HbcA_Ολικό	Αρνητικό	Count	336	196	532
		% within HbcA_Ολικό	63.2%	36.8%	100%
	Θετικό	Count	115	52	167
		% within HbcA_Ολικό	68.9%	31.1%	100%
Total	Count		451	248	699
	% within HbcA_Ολικό		64.5%	35.5%	100%



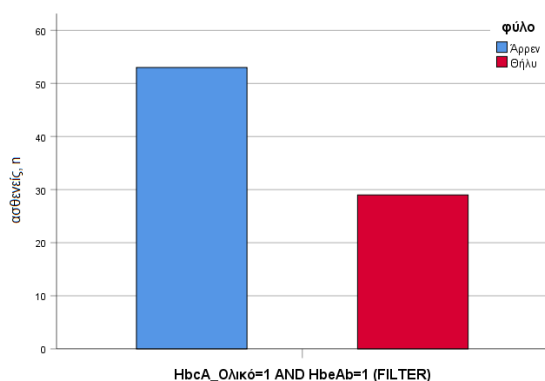
Εικόνα 9. Επίπτωση ασθενών με Anti-HBc+ βάση φύλου.

5. Anti-HBc+/Anti-HBe+

Η επίπτωση του παραπάνω ορολογικού τύπου με βάση το φύλο παρουσιάζεται στον Πίνακα 11 με συνολικά 82 ασθενείς (11.7% του συνολικού δείγματος) 53 (~65%) άνδρες και 29 (35%) γυναίκες (Εικόνα 10).

Πίνακας 11. Κατανομή Anti-HBc+/Anti-HBe+ βάση φύλου.

		Άρρεν	Θήλυ	
HbcA_Ολικό=1 AND HbeAb=1	Count	53	29	82
	% within HbcA_Ολικό=1 AND HbeAb=1	64.6%	35.4%	100%
Total	Count	53	29	82
	% within HbcA_Ολικό=1 AND HbeAb=1	64.6%	35.4%	100%

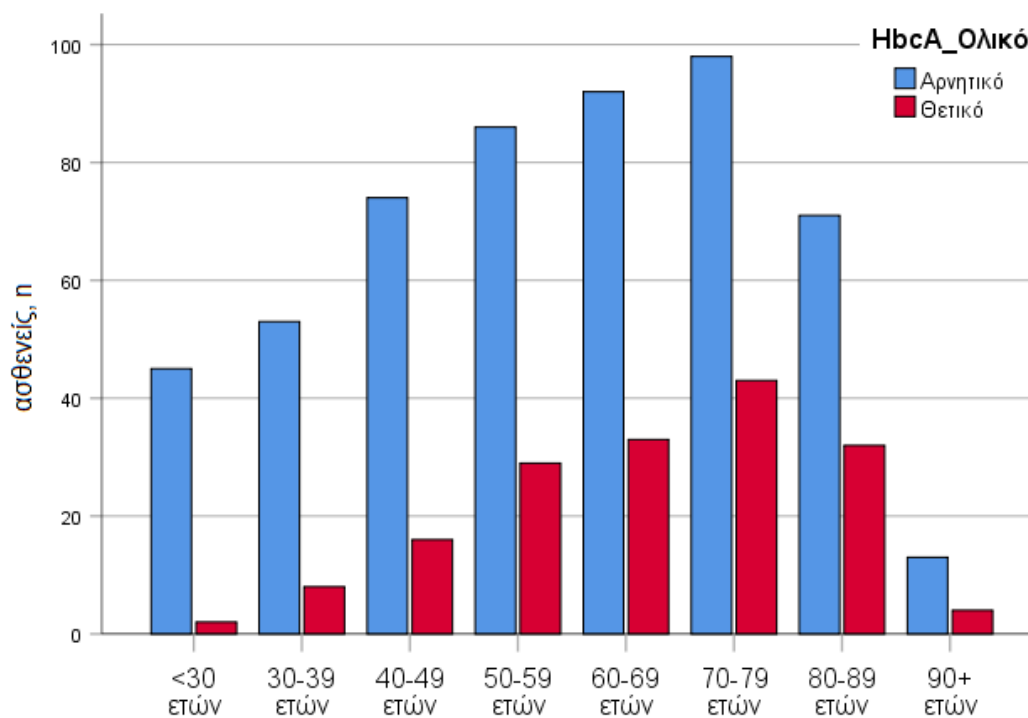


Εικόνα 10. Επίπτωση ασθενών με Anti-HBc+/Anti-HBe+ βάση φύλου.

Η ηλικιακή κατανομή του Anti-HBc+ παρουσιάζεται στον Πίνακα 12 και στην Εικόνα 11. Συνολικά 167 ασθενείς (~24%) εμφάνισαν Anti-HBc+. Ο συγκεκριμένος ορολογικός τύπος είχε στατιστικά σημαντικά χαμηλότερη επίπτωση στις ομάδες <30 ετών και 30-39 ετών έναντι των υπολοίπων ($\chi^2=22.558$, $p=0.002$).

Πίνακας 12. Πίνακας διπλής εισόδου (crosstabulation) Anti-HBc+ * φύλο

			HbcA_Ολικό		
			Αρνητικό	Θετικό	Total
ηλικιακές_κατηγορίες	<30 ετών	Count	45 _a	2 _b	47
		% within ηλικιακές_κατηγορίες	95.7%	4.3%	100%
	30-39 ετών	Count	53 _a	8 _b	61
		% within ηλικιακές_κατηγορίες	86.9%	13.1%	100%
	40-49 ετών	Count	74 _a	16 _a	90
		% within ηλικιακές_κατηγορίες	82.2%	17.8%	100%
	50-59 ετών	Count	86 _a	29 _a	115
		% within ηλικιακές_κατηγορίες	74.8%	25.2%	100%
	60-69 ετών	Count	92 _a	33 _a	125
		% within ηλικιακές_κατηγορίες	73.6%	26.4%	100%
	70-79 ετών	Count	98 _a	43 _a	141
		% within ηλικιακές_κατηγορίες	69.5%	30.5%	100%
	80-89 ετών	Count	71 _a	32 _a	103
		% within ηλικιακές_κατηγορίες	68.9%	31.1%	100%
	90+ ετών	Count	13 _a	4 _a	17
		% within ηλικιακές_κατηγορίες	76.5%	23.5%	100%
Total		Count	532	167	699
		% within ηλικιακές_κατηγορίες	76.1%	23.9%	100,0%



Εικόνα 11. Επίπτωση του Anti-HBc+ ανά ηλικιακή ομάδα.

Το προφίλ των ασθενών με HBcAbΟλικό+ παρουσιάζεται στον Πίνακα 13. Συνολικά 23.9% των ασθενών (167/599) εμφάνισε HBcAbΟλικό+. Από αυτούς 13.8% (23/167) εμφάνισαν και HBsAg+, 47.3% (79/167) εμφάνισαν και HBsAb+ και 1.8% (3/167) εμφάνισαν και HIV+ ενώ δεν υπήρχε ασθενής με HBcAbΟλικό+ ο οποίος να παρουσιάζει ταυτόχρονα και HCV+.

Πίνακας 13. Πίνακας πολλαπλής εισόδου (custom table) για το προφίλ ασθενών με HBcAbΟλικό+.

		HbcA_Ολικό	
		Αρνητικό	Θετικό
		Count	Count
HBsAg	Αρνητικό	499	144
	% within	93.8	86.2
	Θετικό	33	23
	% within	6.2	13.8
HbsAb	Αρνητικό	420	88
	% within	78.9	52.7
	Θετικό	112	79
	% within	21.1	47.3

HCV	Αρνητικό	508	167
	% within	95.5	100
	Θετικό	24	0
	% within	4.5	0
HIV	Αρνητικό	519	164
	% within	97.6	98.2
	Θετικό	13	3
	% within	2.4	1.8

Από το δείγμα μας διαπιστώθηκαν 56 ασθενείς (7.9% του συνόλου) με HBsAg+. Από αυτούς, 55 ήταν HIV(-) (98.2%) και 1 HIV (+) (1.8%) (Πίνακας 14).

Πίνακας 14. Πίνακας διπλής εισόδου (crosstabulation) HBsAg+ * HIV+

			HBsAg		
			Αρνητικό	Θετικό	Total
HIV	Αρνητικό	Count	628 _a	55 _a	683
		% within HIV	91.9%	8.1%	100%
		% within HBsAg	97.7%	98.2%	97,7%
		% of Total	89.8%	7.9%	97,7%
	Θετικό	Count	15 _a	1 _a	16
		% within HIV	93.8%	6.3%	100%
		% within HBsAg	2.3%	1.8%	2,3%
		% of Total	2.1%	0.1%	2,3%
Total	Count	643	56	699	
	% within HIV	92.0%	8.0%	100%	
	% within HBsAg	100%	100%	100%	
	% of Total	92.0%	8.0%	100%	

Τέλος εξετάστηκε η επίπτωση ασθενών σε φάση ορομετατροπής (HBsAg+ / HBcAb Ολικό+ / HBsAb+ και HBsAg+ / HBcAb Ολικό+ / HBeAb+). Πιο συγκεκριμένα η επίπτωση του ορότυπου HBsAg+ / HBcAb Ολικό+ / HBsAb+ παρουσιάζεται στον Πίνακα 15 και η επίπτωση του ορότυπου HBsAg+ / HBcAb Ολικό+ / HBeAb+ στον Πίνακα 16. Από τα 56 (34 άνδρες-22 γυναίκες) δείγματα με HBsAg+, 23 δείγματα (15 άνδρες-8 γυναίκες) είχαν **και**

HBcAb Ολικό+ με 1 δείγμα (άνδρας) να έχει **και** HBsAb+. Παρομοίως από τα 56 (34 άνδρες-22 γυναίκες) δείγματα με HBsAg+, 23 δείγματα (15 άνδρες-8 γυναίκες) είχαν **και** HBcAb Ολικό+ με 19 δείγματα (12 άνδρες-7 γυναίκες) να έχουν **και** HBeAb+. Επομένως από το σύνολο των ασθενών 0.1% βρίσκεται σε φάση ορομετατροπής με ορότυπο HBsAg+ / HBcAb Ολικό+ / HBsAb+ και 2.7% με ορότυπο HBsAg+ / HBcAb Ολικό+ / HBeAb+.

Πίνακας 15. Πίνακας πολλαπλής εισόδου (custom table) για την επίπτωση του ορότυπου HBsAg+/HBcAbΟλικό+/HBsAb+.

						φύλο	
						Άρρεν	Θήλυ
						Count	Count
HBsAg	Αρνητικό	HbcA_Ολικό	Αρνητικό	HbsAb	Αρνητικό	255	143
					Θετικό	62	39
			Θετικό	HbsAb	Αρνητικό	44	22
					Θετικό	56	22
	Θετικό	HbcA_Ολικό	Αρνητικό	HbsAb	Αρνητικό	11	11
					Θετικό	8	3
			Θετικό	HbsAb	Αρνητικό	14	8
					Θετικό	1	0

Πίνακας 16. Πίνακας πολλαπλής εισόδου (custom table) για την επίπτωση του ορότυπου HBsAg+/HBcAbΟλικό+/HBeAb+.

						φύλο	
						Άρρεν	Θήλυ
						Count	Count
HBsAg	Αρνητικό	HbcA_Ολικό	Αρνητικό	HbeAb	Αρνητικό	289	162
					Θετικό	28	20
			Θετικό	HbeAb	Αρνητικό	59	22
					Θετικό	41	22
	Θετικό	HbcA_Ολικό	Αρνητικό	HbeAb	Αρνητικό	14	10
					Θετικό	5	4
			Θετικό	HbeAb	Αρνητικό	3	1
					Θετικό	12	7

1. Επίπτωση HBsAg θετικό

		φύλο	
		Άρρεν	Θήλυ
		Count	Count
HBsAg	Αρνητικό	417	226
	% within φύλο	92.5	91.1
	Θετικό	34	22
	% within φύλο	7.5	8.9

Επομένως 7.5% του συνόλου των ανδρών και 8.9% του συνόλου των γυναικών έχουν θετικό HBsAg.

2. Επίπτωση HBsAg αρνητικό και HBcAb θετικό (OBI)

				φύλο	
				Άρρεν	Θήλυ
				Count	Count
HBsAg	Αρνητικό	HbcA_Ολικό	Αρνητικό	317	182
			% within φύλο	70.3	73.4
		Θετικό	Θετικό	100	44
			% within φύλο	22.2	17.7
	Θετικό	HbcA_Ολικό	Αρνητικό	19	14
			% within φύλο	4.2	5.6
			Θετικό	15	8
			% within φύλο	3.3	3.2

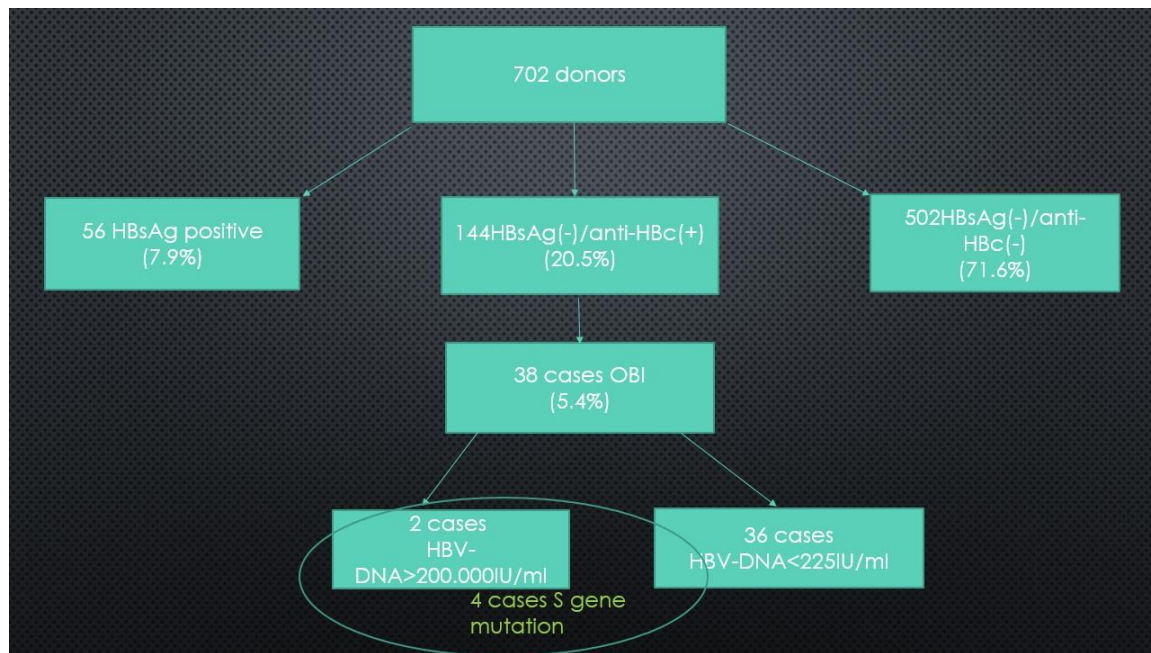
Επομένως 22.2% (100/451) του συνόλου των ανδρών εμφανίζουν HBsAg αρνητικό και HBcAb θετικό (OBI), με το αντίστοιχο ποσοστό στις γυναίκες να κυμαίνεται στο 17.7% (44/248).

3. OBI (HBsAg αρνητικό και HBcAb θετικό) + HCV θετικό

						φύλο	
						Άρρεν	Θήλυ
						Count	Count
HBsAg	Αρνητικό	HbcA_Ολικό	Αρνητικό	HCV	Αρνητικό	305	173
					Θετικό	12	9
			Θετικό	HCV	Αρνητικό	100	44
					Θετικό	0	0
	Θετικό	HbcA_Ολικό	Αρνητικό	HCV	Αρνητικό	17	13
					Θετικό	2	1
			Θετικό	HCV	Αρνητικό	15	8
					Θετικό	0	0

Δεν διαπιστώθηκαν OBI με θετικό HCV.

φύλο	ηλικία	ηλικιακή κατηγορία	καταγωγή	HBsAg	HBcAb_IgM	HBsAb	HBcAg	HBcAb	HIV	HBcAb_Ολικό	HBV DNA
Άρρεν	70	70-79 ετών	Ελληνική	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Θετικό	
Άρρεν	78	70-79 ετών	Ελληνική	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Θετικό	<60 IU·ml ⁻¹
Άρρεν	72	70-79 ετών	Ελληνική	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Θετικό	
Άρρεν	89	80-89 ετών	Ελληνική	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Θετικό	7,32*10 ¹ IU·ml ⁻¹
Άρρεν	86	80-89 ετών	Ελληνική	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Θετικό	
Άρρεν	80	80-89 ετών	Ελληνική	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Θετικό	
Άρρεν	79	70-79 ετών	Ελληνική	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Θετικό	
Άρρεν	67	60-69 ετών	Ελληνική	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Θετικό	Αρνητικό	Θετικό	<10 IU·ml ⁻¹
Θήλυ	27	<30 ετών	Ελληνική	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Θετικό	8,753*10 ³ IU·ml ⁻¹
Άρρεν	53	50-59 ετών	Ελληνική	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Θετικό	Αρνητικό	Θετικό	
Άρρεν	53	50-59 ετών	Ελληνική	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Θετικό	Αρνητικό	Θετικό	1,25*10 ¹ IU·ml ⁻¹
Άρρεν	69	60-69 ετών	Ελληνική	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Θετικό	Αρνητικό	Θετικό	
Θήλυ	66	60-69 ετών	Ελληνική	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Θετικό	2,08*10 ⁷ IU·ml ⁻¹
Θήλυ	66	60-69 ετών	Ελληνική	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Θετικό	Αρνητικό	Θετικό	<10 IU·ml ⁻¹
Άρρεν	71	70-79 ετών	Ελληνική	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Θετικό	Αρνητικό	Θετικό	
Άρρεν	77	70-79 ετών	Ελληνική	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Θετικό	Αρνητικό	Θετικό	
Άρρεν	83	80-89 ετών	Ελληνική	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Θετικό	9,42*10 ² IU·ml ⁻¹
Θήλυ	83	80-89 ετών	Ελληνική	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Θετικό	
Άρρεν	73	70-79 ετών	Ελληνική	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Θετικό	Αρνητικό	Θετικό	<10 IU·ml ⁻¹



4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Το Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Ιωαννίνων εξέτασε 702 αιμοδότες, διαπιστώνοντας 56 περιπτώσεις (7,9%%) ενεργού HBV λοίμωξης (HBsAg θετικό) και 144 περιπτώσεις (20,5%) παλαιότερης λοίμωξης HBV (HBsAg(-) / anti-HBc(+)). Βρέθηκαν 38 περιπτώσεις OBI, που αντιπροσωπεύουν επιπολασμό 5,4 τοις εκατό.

Η πλειονότητα των ασθενών με OBI ήταν άνδρες, με διάμεση ηλικία τα 39 έτη (εύρος: 22-64 έτη) (68,4 τοις εκατό). Ένα φορτίο HBV DNA κάτω από το όριο των 225 IU/mL σε 36 από τις 38 περιπτώσεις OBI έδειξε χαμηλού επιπέδου ιαμμία. Μόνο δύο περιπτώσεις OBI (και οι δύο με μεταλλάξεις του γονιδίου S που ταυτοποιήθηκαν με αλληλούχηση) είχαν υψηλά επίπεδα HBV DNA (>200.000 IU/mL).

Η ταυτόχρονη μόλυνση από τον ιό HIV ανακαλύφθηκε σε έναν ασθενή με OBI, ο οποίος είναι γνωστό ότι αυξάνει τον κίνδυνο ηπατικής νόσου που σχετίζεται με τον HBV (Chen et al., 2016). Ωστόσο, δεν βρέθηκαν πρόσθετες αξιοσημείωτες διακρίσεις στα δημογραφικά ή κλινικά χαρακτηριστικά μεταξύ των ατόμων με OBI και εκείνων χωρίς.

Τέσσερις περιπτώσεις OBI, συμπεριλαμβανομένων των δύο περιπτώσεων με υψηλά επίπεδα HBV DNA, είχαν μεταλλάξεις στο γονίδιο HBV pre-S/S μετά από ανάλυση αλληλουχίας και ανάλυση μετάλλαξης. Missense μεταλλάξεις, διαγραφές και παρεμβολές ήταν μεταξύ των μεταλλάξεων που βρέθηκαν. αυτά είχαν προηγουμένως συνδεθεί με OBI ή αυξημένη λοιμογόνο δύναμη του ιού (Abbas et al., 2021; Yousif et al., 2018).

Συνολικά, η μελέτη διαπίστωσε ότι ο OBI ήταν ιδιαίτερα διαδεδομένος σε έναν πληθυσμό που αποτελούνταν σε μεγάλο βαθμό από μετανάστες από ενδημικά έθνη. Ένα μικρό ποσοστό των περιπτώσεων OBI είχε υψηλά επίπεδα HBV DNA και σχετικές μεταλλάξεις του γονιδίου S, αλλά η πλειονότητα των περιπτώσεων OBI συνδέθηκε με χαμηλά επίπεδα ιαμμίας. Η ανακάλυψη της ταυτόχρονης λοίμωξης με HIV σε ένα περιστατικό OBI τονίζει τη σημασία του προσυμπτωματικού ελέγχου και για τους δύο ιούς σε πληθυσμούς υψηλού κινδύνου.

Στη Βορειοδυτική Ελλάδα, έναν πληθυσμό με υψηλό επιπολασμό λοίμωξης από HBV, η τρέχουσα μελέτη εξέτασε τον επιπολασμό και τα χαρακτηριστικά του OBI. Η μελέτη ανακάλυψε υψηλό επιπολασμό του OBI, με το 5,4% των ανθρώπων που βρέθηκαν θετικοί για HBV DNA αλλά ήταν αρνητικοί για HBsAg αλλά θετικοί για anti-HBc. Αυτός ο επιπολασμός συμφωνεί με παλαιότερες έρευνες σε ομάδες υψηλού κινδύνου, όπως μετανάστες από ενδημικά έθνη (Alavian et al., 2013; Tien et al., 2014).

Η πλειονότητα των περιπτώσεων OBI σε αυτή τη μελέτη συνδέθηκε με χαμηλού επιπέδου ιαίμια, κάτι που είναι σύμφωνο με προηγούμενες μελέτες που βρήκαν χαμηλό ιικό φορτίο σε ασθενείς με OBI (Candotti et al., 2019). Είναι ανησυχητικό ότι ένα μικρό ποσοστό των περιπτώσεων OBI είχε υψηλά επίπεδα HBV DNA (>200.000 IU/mL), καθώς αυξάνει την πιθανότητα εξέλιξης και μετάδοσης της ηπατικής νόσου (Raimondo et al., 2019).

Η ανακάλυψη μεταλλάξεων του γονιδίου S σε περιπτώσεις OBI με υψηλά επίπεδα HBV DNA ήταν ένα ενδιαφέρον εύρημα της μελέτης. Αυτό είναι σύμφωνο με προηγούμενη έρευνα που πρότεινε μια σύνδεση μεταξύ συγκεκριμένων μεταλλάξεων του HBV και OBI ή υψηλότερης μολυσματικότητας του ιού (Abbas et al., 2021; Yousif et al., 2018). Missense μεταλλάξεις, διαγραφές και εισαγωγές ήταν μεταξύ των μεταλλάξεων που βρέθηκαν στην τρέχουσα μελέτη. Αυτές οι μεταλλάξεις είχαν προηγουμένως συνδεθεί με OBI ή αυξημένη λοιμογόνο δύναμη του ιού (Abbas et al., 2021; Yousif et al., 2018). Η κλινική σημασία αυτών των μεταλλάξεων και το δυναμικό τους ως βιοδείκτες για την OBI απαιτούν περαιτέρω έρευνα.

Επιπλέον, σε αυτή τη μελέτη βρέθηκε ένα περιστατικό OBI με συνλοίμωξη HIV, το οποίο είναι ανησυχητικό επειδή αυξάνει τον κίνδυνο θνησιμότητας και εξέλιξης της ηπατικής νόσου (Chen et al., 2016). Αυτό υπογραμμίζει πόσο σημαντικό είναι να εξετάζουμε τους πληθυσμούς υψηλού κινδύνου για ιούς και να διαχειριζόμαστε και να αντιμετωπίζουμε σωστά τα άτομα που έχουν μολυνθεί μαζί.

Υπάρχουν ορισμένοι περιορισμοί στη μελέτη που πρέπει να λαμβάνονται υπόψη κατά την ερμηνεία των αποτελεσμάτων, επιπλέον των ευρημάτων σχετικά με τον επιπολασμό και τα χαρακτηριστικά του OBI. Ο σχεδιασμός ενός κέντρου της μελέτης είναι ένα μειονέκτημα, καθώς μπορεί να καταστήσει δυσκολότερη τη γενίκευση των αποτελεσμάτων σε άλλους πληθυσμούς. Επιπλέον, η μελέτη δεν εξέτασε τον τρόπο με τον οποίο άλλοι παράγοντες, όπως η ηλικία, το φύλο και οι συννοσηρότητες, μπορεί να έχουν αντίκτυπο στον τρόπο με τον οποίο αναπτύσσεται και εξελίσσεται το OBI και πώς αντιμετωπίζεται και αντιμετωπίζεται κλινικά.

Επιπλέον, η μελέτη δεν αξιολόγησε τις μακροπρόθεσμες επιδράσεις του OBI στην ανάπτυξη ηπατικής νόσου ή HCC, η οποία αποτελεί σημαντική ανησυχία σε άτομα με χρόνια λοίμωξη HBV (Raimondo et al., 2019). Απαιτείται μελλοντική έρευνα για να εξεταστούν τα κλινικά αποτελέσματα των ασθενών με OBI και να αξιολογηθεί η αποτελεσματικότητα διαφόρων τρόπων θεραπείας, όπως η αντική θεραπεία, στην καθυστέρηση της εξέλιξης της ηπατικής νόσου και στη μείωση του κινδύνου HCC.

Η μελέτη προσφέρει σημαντικές πληροφορίες για τον επιπολασμό και τα χαρακτηριστικά του OBI σε έναν πληθυσμό με υψηλό επιπολασμό λοίμωξης από HBV παρά αυτούς τους περιορισμούς. Η ανακάλυψη μεταλλάξεων του γονιδίου S σε περιπτώσεις OBI με υψηλά επίπεδα HBV DNA μπορεί να έχει συνέπειες για το σχεδιασμό εστιασμένων παρεμβάσεων και θεραπειών και τονίζει την αξία του προσυμπτωματικού ελέγχου OBI σε πληθυσμούς υψηλού κινδύνου.

Η τρέχουσα μελέτη ρίχνει επίσης σημαντικό φως στο πώς η μετανάστευση μπορεί να επηρεάσει τον επιπολασμό της λοίμωξης από OBI και HBV στον υπό μελέτη πληθυσμό. Η σημασία των στοχευμένων στρατηγικών προσυμπτωματικού ελέγχου και πρόληψης για αυτόν τον πληθυσμό υπογραμμίζεται από τον υψηλό επιπολασμό της λοίμωξης από HBV και OBI σε άτομα που έχουν μεταναστεύσει από ενδημικές περιοχές. Αυτό είναι σύμφωνο με προηγούμενη έρευνα, η οποία απέδειξε ότι η μετανάστευση από ενδημικές περιοχές ενέχει σημαντικό κίνδυνο μόλυνσης από HBV και OBI (Jilg et al., 2015).

Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης έχουν επίσης σημαντικές επιπτώσεις για τη διαχείριση και τη θεραπεία ατόμων που έχουν λοίμωξη από HBV και OBI στο πλαίσιο της συνλοίμωξης HIV. Επειδή η ταυτόχρονη μόλυνση με HIV μπορεί να αυξήσει τον κίνδυνο εξέλιξης ηπατικής νόσου και HCC σε άτομα με λοίμωξη από HBV, η ανακάλυψη ενός περιστατικού OBI με ταυτόχρονη λοίμωξη HIV υπογραμμίζει τη σημασία του ελέγχου και για τους δύο ιούς σε πληθυσμούς υψηλού κινδύνου (Tao et. al., 2017). Απαιτείται περαιτέρω έρευνα για την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας των διαφόρων θεραπευτικών προσεγγίσεων σε αυτόν τον πληθυσμό, επειδή η καλύτερη διαχείριση και θεραπεία για τα άτομα με HIV και OBI είναι ακόμα άγνωστη.

5. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η συγχρονική αυτή μελέτη πραγματοποιείται στην Αιμοδοσία του Π.Π.Ν.Ι από τον Φεβρουάριο του 2021 έως τον Φεβρουάριο του 2023. Στη μελέτη αυτή συμπεριλαμβάνονται ασθενείς κ αιμοδότες. Οι ασθενείς προέρχονται από την Β΄ Παθολογική Κλινική του Π.Π.Ν.Ι και από το Εξωτερικό ιατρείο Γαστρεντερολογικής Κλινικής του Π.Π.Ν.Ι. Ο πληθυσμός των αιμοδοτών αφορά τους 4 νομούς της Ηπείρου που διέμεναν τα 10 τελευταία χρόνια στη περιοχή αυτή. Η επιλογή των αιμοδοτών γίνεται όπως καθορίζουν οι διεθνείς κανόνες Αιμοδοσίας. Ο αριθμός των ασθενών έως τώρα που εξετάστηκαν είναι 500 ενώ ο αριθμός αιμοδοτών 200. Συνολικά δηλαδή ελέγχθηκαν 700 δείγματα ηλικίας 18-60 ετών. Από κάθε ασθενή κ αιμοδότη λαμβανόταν δύο δείγματα αίματος. Από το ένα δείγμα γινόταν ο ορολογικός έλεγχος για HAV, HBV και HCV, ενώ από το άλλο δείγμα (που συλλεγόταν σε αποστειρωμένο σωληνάριο) επίσης ο ορός φυλασσόταν σε βαθιά κατάψυξη(-80) με σκοπό την εκτέλεση μοριακών τεχνικών PCR, στα θετικά δείγματα που θα προέκυπταν από τον ορολογικό έλεγχο. Οι δείκτες που προσδιορίστηκαν για την Ηπατίτιδα Β ήταν το HbsAg, το αντι-Hbc (IgM και ολικό), το αντιHbs, το αντιγόνο e του HBV(HBeAg) και το αντίσωμα κατά του HbeAg (αντι-Hbe) με μικροσωματιδιακή ανοσοενζυματική μέθοδο (IMX Abbott GmbH Diagnostika, Wiesbaden Delkenheim, German. Στα δείγματα με θετικό HbsAg καθώς και σε εκείνους με αρνητικό HbsAg αλλά με αντι-Hbc θετικό χωρίς την παρουσία αντι-Hbs θα έγινε προσδιορισμός του HBV DNA με την τεχνική της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης (PCR). Οι δότες αυτοί καθώς και οι ασθενείς με άγνωστης προέλευσης επηρεασμένη ηπατική λειτουργία μπορούν να εντοπιστούν μέσω ευαίσθητης ανάλυσης PCR ή και εξετάζοντας την ύπαρξη αντισωμάτων για το HBc (αντι-HBc). Είναι γνωστό ότι στην οξεία HBV λοίμωξη εκτός από την περίοδο του παραθύρου που προηγείται της δυνατότητας ανίχνευσης του HBsAg στην αρχική φάση της νόσου, υπάρχει και μια δεύτερη περίοδος αργότερα (φάση κάθαρσης) όπου ο ασθενής μπορεί να είναι μολυσματικός ενώ το HBsAg να είναι κάτω από τα όρια ανίχνευσης που έχουν και οι πλέον ευαίσθητες διαγνωστικές μέθοδοι. Τότε το IgM αντι-HBc είναι ο μόνος δείκτης οξείας HBV λοίμωξης προ της εμφάνισης του προστατευτικού αντισώματος κατά του HBsAg (anti-HBs) μαζί με το DNA του ιού. Επίσης μεταλλάξεις του HBV που μπορούν να διαφύγουν από τις διαγνωστικές μεθόδους ανίχνευσης του HBsAg μπορεί να έχουν ως μόνο εργαστηριακό εύρημα την παρουσία αντι-HBc. Από τις μελέτες στη διεθνή βιβλιογραφία είναι γνωστό και συνεπάγεται ότι κάποιοι αιμοδότες με αρνητικό HBsAg μπορεί να έχουν ως μόνο εργαστηριακό εύρημα την παρουσία αντι-HBc. Επομένως εύλογα προκύπτει ότι κάποιοι

ασθενείς και αιμοδότες με αρνητικό HBsAg μπορεί να είναι δυνητικά μολυσματικοί. Αποδεικνύεται λοιπόν ότι οι μεταγγίσεις με δείκτη HBsAg αρνητικό δεν είναι απολύτως ασφαλείς για τους παραπάνω λόγους. Για αυτό συνίσταται πάντα να γίνεται HBV-DNA εξέταση. Αυτό βέβαια συνεπάγεται χρονοβόρα διαδικασία επιπλέον προσωπικό εργαστηρίων, αυξημένο κόστος και κατά συνέπεια δυσχέρεια στις μεταγγίσεις με τις υπάρχουσες συνθήκες.

6. ABSTRACT

This cross-sectional study was conducted at the Blood Donation Department of P.P.N.I. from February 2021 to February 2023. The study includes both patients and blood donors. The patients are from the B Pathology Clinic of P.P.N.I. and the Outpatient Gastroenterology Clinic of P.P.N.I. The donor population consists of individuals from the four counties of Epirus who have lived in this area for the past 10 years. Donor selection is made according to the international blood donation guidelines. So far, 500 patients and 200 blood donors have been examined, for a total of 700 samples from individuals aged 18 to 60 years. Two blood samples were taken from each patient and donor. One sample was used for serological testing for HAV, HBV, and HCV, while the other sample, collected in a sterile tube, was stored in deep freeze (-80°C) for molecular PCR analysis in case of positive serological findings. The markers for Hepatitis B that were identified included HBsAg, anti-HBc (IgM and total), anti-HBs, HBeAg, and anti-HBe, using the immunoenzymatic method (IMX Abbott GmbH Diagnostika, Wiesbaden Delkenheim, Germany). For samples with positive HBsAg, as well as for those with negative HBsAg but positive anti-HBc without the presence of anti-HBs, HBV DNA was tested using PCR. Blood donors and patients with impaired liver function of unknown origin can be identified through sensitive PCR analysis or by testing for the presence of antibodies against HBc (anti-HBc). It is well-known that in acute HBV infection, besides the window period before HBsAg becomes detectable in the early stage of the disease, there is also a later phase (clearance phase) where the patient may be infectious, even though the HBsAg level may be below the detection threshold of the most sensitive diagnostic methods. During this phase, IgM anti-HBc is the only marker of acute HBV infection, before the appearance of protective antibodies against HBsAg (anti-HBs), along with the viral DNA. Moreover, mutations in HBV that may escape detection by standard HBsAg testing could result in the presence of anti-HBc as the only laboratory finding. Studies in the international literature indicate that some blood donors with negative HBsAg may have only the presence of anti-HBc as the laboratory marker. Therefore, it is reasonable to conclude that some patients and blood donors with negative HBsAg could still be potentially infectious. This demonstrates that blood transfusions with HBsAg-negative blood are not entirely safe for these reasons. It is therefore

recommended to always perform an HBV-DNA test. However, this results in a time-consuming process, additional laboratory staff, increased costs, and consequently, difficulties in blood transfusions under the current conditions.

7. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Lamontagne, R. J., & Bouchard, M. J. (2016). Hepatitis B virus molecular biology and pathogenesis. *Hepatoma Research*, 2(163-186).
2. Lamontagne, R. J., Bagga, S., & Bouchard, M. J. (2016). Hepatitis B virus molecular biology and pathogenesis. *Hepatoma Research*, 2(163-186).
3. Wan, Q., & Debes, J. D. (2022). Hepatocellular carcinoma in Hepatitis B and Human Immunodeficiency Virus coinfection in Africa: A focus on surveillance. *Hepatoma Research*, 8, 39.
4. Korean Association for the Study of the Liver (KASL). (2022). KASL clinical practice guidelines for management of chronic hepatitis B. *Clinical and Molecular Hepatology*, 28(2), 276-331.
5. Lok, A. S. F., & McMahon, B. J. (2007). Chronic hepatitis B. *Hepatology*, 45(2), 507-539.
6. Liaw, Y. F., Leung, N., Guan, R., Lau, G. K. K., Merican, I., McCaughan, G., Gane, E., & Kao, J. H. (2005). Asian-Pacific consensus statement on the management of chronic hepatitis B: A 2005 update. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 20(8), 1103-1114.
7. Liaw, Y. F., Leung, N., Guan, R., Lau, G. K. K., & Merican, I. (2003). Asian-Pacific consensus statement on the management of chronic hepatitis B: An update. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 18(1), 239-245.
8. Sun, W. C., Tang, P. L., Chen, W. C., Tsay, F. W., Wang, H. M., Tsai, T. J., Kao, S. S., Cheng, J. S., & Tsai, W. L. (2021). Hepatitis B virus screening before cancer chemotherapy in Taiwan: A nationwide population-based study. *Frontiers in Medicine*, 8, 657109.
9. Xie, Q. L., Zhu, Y., Wu, L. H., Fu, L. L., & Xiang, Y. (2015). The efficacy and safety of entecavir and interferon combination therapy for chronic hepatitis B virus infection: A meta-analysis. *PLoS ONE*, 10(7), e0132219.
10. Bosch, F. X., Ribes, J., Cleries, R., & Diaz, M. (2005). Epidemiology of hepatocellular carcinoma. *Clinics in Liver Disease*, 9(2), 191-211, v.
11. Watashi, K. (2020). Hepatitis B virus biology and life cycle. *Antiviral Research*, 182, 104925.
12. Lee, Y. I., Hwang, J. M., Im, J. H., Lee, Y. I., Kim, N. S., Kim, D. G., Yu, D. Y., Moon, H. B., & Park, S. K. (2004). Human hepatitis B virus-X protein alters mitochondrial function and physiology in human liver cells. *The Journal of Biological Chemistry*, 279(15), 15460–15471.

13. Benhenda, S., Cougot, D., Buendia, M. A., & Neuveut, C. (2009). Hepatitis B virus X protein molecular functions and its role in virus life cycle and pathogenesis. *Advances in Cancer Research*, 103, 75–109.
14. Ng, S. A., & Lee, C. (2011). Hepatitis B virus X gene and hepatocarcinogenesis. *Journal of Gastroenterology*, 46(8), 974–990.
15. Henke, J. I., Goergen, D., Zheng, J., Song, Y., Schuttler, C. G., Fehr, C., Junemann, C., & Niepmann, M. (2008). microRNA-122 stimulates translation of hepatitis C virus RNA. *The EMBO Journal*, 27(24), 3300–3310.
16. Li, C., Wang, Y., Wang, S., Wu, B., Hao, J., Fan, H., Ju, Y., Ding, Y., Chen, L., Chu, X., Liu, W., & Ye, X. (2013). Hepatitis B virus mRNA-mediated miR-122 inhibition upregulates PTTG1-binding protein, which promotes hepatocellular carcinoma tumor growth and cell invasion. *Journal of Virology*, 87(4), 2193–2205.
17. Seeger, C., & Mason, W. S. (2015). Molecular biology of hepatitis B virus infection. *Virology*, 479-480, 672-686.
18. Engle, R. E., Bukh, J., Alter, H. J., Emerson, S. U., Trenbeath, J. L., Nguyen, H. T., Brockington, A., Mitra, T., & Purcell, R. H. (2014). Transfusion-associated hepatitis before the screening of blood for hepatitis risk factors. *Transfusion*, 54(11), 2833–2841.
19. Mason, W. S., Xu, C., Low, H. C., Saputelli, J., Aldrich, C. E., Scougall, C., Grosse, A., Colonno, R., Litwin, S., & Jilbert, A. R. (2009). The amount of hepatocyte turnover that occurred during resolution of transient hepadnavirus infections was lower when virus replication was inhibited with entecavir. *Journal of Virology*, 83(4), 1778-1789.
20. Watts, N. R., Conway, J. F., Cheng, N., Stahl, S. J., Belnap, D. M., Steven, A. C., & Wingfield, P. T. (2002). The morphogenic linker peptide of HBV capsid protein forms a mobile array on the interior surface. *The EMBO Journal*, 21(5), 876–884.
21. Wei, L., & Ploss, A. (2021). Mechanism of Hepatitis B Virus cccDNA Formation. *Viruses*, 13(8), 1463.
22. Nassal, M. (2015). HBV cccDNA: Viral persistence reservoir and key obstacle for a cure of chronic hepatitis B. *Gut*, 64(12), 1972–1984.
23. Iwamoto, M., Saso, W., Sugiyama, R., Ishii, K., Ohki, M., Nagamori, S., Suzuki, R., Aizaki, H., Ryo, A., Yun, J. H., Park, S. Y., Ohtani, N., Muramatsu, M., Iwami, S., Tanaka, Y., Sureau, C., Wakita, T., & Watashi, K. (2019). Epidermal growth factor receptor is a host-entry cofactor triggering hepatitis B virus internalization. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 116(17), 8487–8492.

24. Li, Z., Liu, Y., Zhao, Y., Huang, G., Wang, X., Xu, G., Zhuang, H., Lu, M., & Hou, J. (2015). Development of hepatitis B surface antigen-based vaccine expressed by CHO cell lines. *Human Vaccines & Immunotherapeutics*, 11(1), 229-235.
25. Hong, H., Zhang, Y., Wang, Y., Yao, X., Dong, X., Zhu, J., Xie, W., Wang, L., & Li, P. (2021). The role of hepatitis B virus X protein in viral infection and the development of hepatocellular carcinoma. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 40(1), 1-17.
26. Hu, J., Protzer, U., & Siddiqui, A. (2019). Revisiting Hepatitis B Virus: Challenges of curative therapies. *Journal of Virology*, 93(20), e01032-19.
27. Nassal, M., & Rieger, A. (2021). Cytopathology of Hepatitis B Virus Infection. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 11(7), a036970.
28. Shi, Y., & Zheng, M. (2020). Hepatitis B virus persistence and reactivation. *BMJ*, 370, m2200.
29. Tan, Y. J. (2011). Hepatitis B virus infection and the risk of hepatocellular carcinoma. *World Journal of Gastroenterology*, 17(44), 4853–4857.
30. Allweiss, L., & Dandri, M. (2017). The role of cccDNA in HBV maintenance. *Viruses*, 9(6), 156. <https://doi.org/10.3390/v9060156>
31. WHO. (2021). Hepatitis B.
32. European Association for the Study of the Liver. (2017). EASL 2017 clinical practice guidelines on the management of hepatitis B virus infection. *Journal of Hepatology*, 67(2), 370-398.
33. Yang, Z., Zhang, T., & Ding, J. (2021). Prognosis of hepatocellular carcinoma: New predictive factors and prognostic models. *Frontiers in Oncology*, 11, 694509.
34. McMahon, B. J. (2009). The influence of hepatitis B virus genotype and subgenotype on the natural history of chronic hepatitis B. *Hepatology International*, 3(2), 334–342. <https://doi.org/10.1007/s12072-008-9112-y>
35. Lee, H. W., Cho, Y., Hyun, D., Cho, H., Kim, S., Kim, J. H., Jung, Y. K., Lee, S. H., An, H., & Han, K. H. (2023). Clinical practice guideline for the management of chronic hepatitis B. *Clinical and Molecular Hepatology*, 29(1), 1-134.
36. Lamontagne, R. J., & Bouchard, M. J. (2016). Hepatitis B virus molecular biology and pathogenesis. *Hepatoma Research*, 2, 163-186.
37. Lee, H. J., Lee, J., Shin, M. K., & Ryu, W. S. (2008). Polyadenylation is dispensable for encapsidation and reverse transcription of hepatitis B viral pregenomic RNA. *Molecules and Cells*, 25(4), 545-552.

38. Yan, H., Zhong, G., Xu, G., He, W., Jing, Z., Gao, Z., Huang, Y., Qi, Y., Peng, B., Wang, H., Fu, L., Song, M., Chen, P., Gao, W., Ren, B., Sun, Y., Cai, T., Feng, X., Sui, J., & Li, W. (2018). Hepatitis B virus pre-S/S variants in liver diseases. *World Journal of Gastroenterology*, 24(14), 1507-1520.
39. Yan, H., Zhong, G., Xu, G., He, W., Jing, Z., Gao, Z., Huang, Y., Qi, Y., Peng, B., Wang, H., Fu, L., Song, M., Chen, P., Gao, W., Ren, B., Sun, Y., Cai, T., Feng, X., Sui, J., & Li, W. (2018). Hepatitis B virus pre-S/S variants in liver diseases. *World Journal of Gastroenterology*, 24(14), 1507-1520.
40. Lamontagne, R. J., & Bouchard, M. J. (2016). Hepatitis B virus molecular biology and pathogenesis. *Hepatoma Research*, 2, 163-186.
41. Lin, Y. M., & Chen, B. F. (2017). A putative hepatitis B virus splice variant associated with chronic hepatitis and liver cirrhosis. *Virology*, 510, 224-233.
42. Ganem, D., & Prince, A. M. (2004). Hepatitis B virus infection—Natural history and clinical consequences. *New England Journal of Medicine*, 350(11), 1118-1129.
43. Chu, T. H., Liou, A. T., Su, P. Y., Wu, H. N., & Shih, C. (2014). Nucleic acid chaperone activity associated with the arginine-rich domain of human hepatitis B virus core protein. *Journal of Virology*, 88(5), 2530-2543.
44. Li, H. C., Huang, E. Y., Su, P. Y., Wu, S. Y., Yang, C. C., Lin, Y. S., Chang, W. C., & Shih, C. (2010). Nuclear export and import of human hepatitis B virus capsid protein and particles. *PLoS Pathogens*, 6(10), e1001162.
45. Ludgate, L., Ning, X., Nguyen, D. H., Adams, C., Mentzer, L., & Hu, J. (2012). Cyclin-dependent kinase 2 phosphorylates S/T-P sites in the hepadnavirus core protein C-terminal domain and is incorporated into viral capsids. *Journal of Virology*, 86(22), 12237-12250.
46. Gewirtz, A. N., Gao, V., Parauda, S. C., & Robbins, M. S. (2021). Posterior reversible encephalopathy syndrome. *Current Pain and Headache Reports*, 25(3), 19.
47. Saad, A. F., Chaudhari, R., & Wintermark, M. (2019). Imaging of atypical and complicated posterior reversible encephalopathy syndrome. *Frontiers in Neurology*, 10, 964.
48. □ Bock, C. T., Schwinn, S., Locarnini, S., Fyfe, J., Manns, M. P., Trautwein, C., & Zentgraf, H. (2001). Structural organization of the hepatitis B virus minichromosome. *Journal of Molecular Biology*, 307(1), 183-196.
49. Nassal, M. (1992). The arginine-rich domain of the hepatitis B virus core protein is required for pregenome encapsidation and productive viral positive-strand DNA synthesis but not for virus assembly. *Journal of Virology*, 66(7), 4107-4116.

50. Pilato, F., Distefano, M., & Calandrelli, R. (2020). Posterior reversible encephalopathy syndrome and reversible cerebral vasoconstriction syndrome: Clinical and radiological considerations. *Frontiers in Neurology*, 11, 34.
51. Le Pogam, S., & Shih, C. (2002). Influence of a putative intermolecular interaction between core and the pre-S1 domain of the large envelope protein on hepatitis B virus secretion. *Journal of Virology*, 76(13), 6510-6517.
52. Zlotnick, A., Venkatakrishnan, B., Tan, Z., Lewellyn, E., Turner, W., & Francis, S. (2015). Core protein: A pleiotropic keystone in the HBV lifecycle. *Antiviral Research*, 121, 82-93.
53. Mason, W. S., Seal, G., & Summers, J. (1980). Virus of Pekin ducks with structural and biological relatedness to human hepatitis B virus. *Journal of Virology*, 36(3), 829-836.
54. Summers, J., & Mason, W. S. (1982). Replication of the genome of a hepatitis B-like virus by reverse transcription of an RNA intermediate. *Cell*, 29(2), 403-415.
55. Zoulim, F., & Seeger, C. (1994). Reverse transcription in hepatitis B viruses is primed by a tyrosine residue of the polymerase. *Journal of Virology*, 68(1), 6-13.
56. Schweitzer, A. D., Parikh, N. S., Askin, G., Nemade, A., Lyo, J., Karimi, S., Knobel, A., Navi, B. B., Young, R. J., & Gupta, A. (2017). Imaging characteristics associated with clinical outcomes in posterior reversible encephalopathy syndrome. *Neuroradiology*, 59(4), 379-386.
57. Carvalho, J. F., Blank, M., & Shoenfeld, Y. (2007). Vascular endothelial growth factor (VEGF) in autoimmune diseases. *Journal of Clinical Immunology*, 27(3), 246-256.
58. Radziwill, G., Tucker, W., & Schaller, H. (1990). Mutational analysis of the hepatitis B virus P gene product: Domain structure and RNase H activity. *Journal of Virology*, 64(2), 613-620.
59. Largeau, B., Le Tilly, O., Sautenet, B., Gandonnière, C. S., & Barin-Le Guellec, C. (2019). Arginine vasopressin and posterior reversible encephalopathy syndrome pathophysiology: The missing link? *Molecular Neurobiology*, 56.
60. Carvalho, J. F., Blank, M., & Shoenfeld, Y. (2007). Vascular endothelial growth factor (VEGF) in autoimmune diseases. *Journal of Clinical Immunology*, 27(3), 246-256.
61. Radziwill, G., Tucker, W., & Schaller, H. (1990). Mutational analysis of the hepatitis B virus P gene product: Domain structure and RNase H activity. *Journal of Virology*, 64(2), 613-620.

62. Largeau, B., Le Tilly, O., Sautenet, B., Gandonnière, C. S., & Barin-Le Guellec, C. (2019). Arginine vasopressin and posterior reversible encephalopathy syndrome pathophysiology: The missing link? **Molecular Neurobiology*, 56
63. Parauda, S. C., Gao, V., Gewirtz, A. N., Parikh, N. S., Merkler, A. E., Lantos, J., White, H., Leifer, D., Navi, B. B., & Segal, A. Z. (2020). Posterior reversible encephalopathy syndrome in patients with COVID-19. *Journal of the Neurological Sciences*, 416, 117019.
64. Nassal, M. (2008). Hepatitis B viruses: Reverse transcription a different way. *Virus Research*, 134(1-2), 235-249.
65. Wang, Y. X., Luo, C., Zhao, D., Beck, J., & Nassal, M. (2012). Extensive mutagenesis of the conserved box E motif in duck hepatitis B virus P protein reveals multiple functions in replication and a common structure with the primer grip in HIV-1 reverse transcriptase. *Journal of Virology*, 86(12), 6394-6407.
66. Tavis, J. E., Cheng, X., Hu, Y., Totten, M., Cao, F., Michailidis, E., Aurora, R., Meyers, M. J., Jacobsen, E. J., Parniak, M. A., & Sarafianos, S. G. (2013). The hepatitis B virus ribonuclease H is sensitive to inhibitors of the human immunodeficiency virus ribonuclease H and integrase enzymes. *PLoS Pathogens*, 9(4), e1003125.
67. Bartenschlager, R., Junker-Niepmann, M., & Schaller, H. (1990). The P gene product of hepatitis B virus is required as a structural component for genomic RNA encapsidation. *Journal of Virology*, 64(11), 5324-5332.
68. Jones, S. A., & Hu, J. (2013). Hepatitis B virus reverse transcriptase: Diverse functions as classical and emerging targets for antiviral intervention. *Emerging Microbes & Infections*, 2(1), e56.
69. Wang, Y. X., Luo, C., Zhao, D., Beck, J., & Nassal, M. (2012). Extensive mutagenesis of the conserved box E motif in duck hepatitis B virus P protein reveals multiple functions in replication and a common structure with the primer grip in HIV-1 reverse transcriptase. *Journal of Virology*, 86(12), 6394-6407.
70. Tavis, J. E., Cheng, X., Hu, Y., Totten, M., Cao, F., Michailidis, E., Aurora, R., Meyers, M. J., Jacobsen, E. J., Parniak, M. A., & Sarafianos, S. G. (2013). The hepatitis B virus ribonuclease H is sensitive to inhibitors of the human immunodeficiency virus ribonuclease H and integrase enzymes. *PLoS Pathogens*, 9(4), e1003125.
71. Bartenschlager, R., Junker-Niepmann, M., & Schaller, H. (1990). The P gene product of hepatitis B virus is required as a structural component for genomic RNA encapsidation. *Journal of Virology*, 64(11), 5324-5332.

72. Jones, S. A., & Hu, J. (2013). Hepatitis B virus reverse transcriptase: Diverse functions as classical and emerging targets for antiviral intervention. *Emerging Microbes & Infections*, 2(1), e56.
73. Sivasudhan, E., Blake, N., Lu, Z., Meng, J., & Rong, R. (2022). Hepatitis B viral protein HBx and the molecular mechanisms modulating the hallmarks of hepatocellular carcinoma: A comprehensive review. *Cells*, 11(4), 741.
74. Guo, G. H., Tan, D. M., Zhu, P. A., & Liu, F. (2009). Hepatitis B virus X protein promotes proliferation and upregulates TGF-beta1 and CTGF in human hepatic stellate cell line, LX-2. *Hepatobiliary Pancreatic Diseases International*, 8(1), 59-64.
75. Zoulim, F., Saputelli, J., & Seeger, C. (1994). Woodchuck hepatitis virus X protein is required for viral infection in vivo. *Journal of Virology*, 68(4), 2026-2030.
76. Lucifora, J., Arzberger, S., Durantel, D., Belloni, L., Strubin, M., Levrero, M., Zoulim, F., Hantz, O., & Protzer, U. (2011). Hepatitis B virus X protein is essential to initiate and maintain virus replication after infection. *Journal of Hepatology*, 55(5), 996-1003.
77. Xu, Z., Yen, T. S., Wu, L., Madden, C. R., Tan, W., Slagle, B. L., & Ou, J. H. (2002). Enhancement of hepatitis B virus replication by its X protein in transgenic mice. *Journal of Virology*, 76(5), 2579-2584.
78. Lucifora, J., Arzberger, S., Durantel, D., Belloni, L., Strubin, M., Levrero, M., Zoulim, F., Hantz, O., & Protzer, U. (2011). Hepatitis B virus X protein is essential to initiate and maintain virus replication after infection. *Journal of Hepatology*, 55(5), 996-1003.
79. Pandey, V., & Kumar, V. (2012). Hbx protein of hepatitis B virus promotes reinitiation of DNA replication by regulating expression and intracellular stability of replication licensing factor cdc6. *Journal of Biological Chemistry*, 287(25), 20545–20554.
80. Tsuge, M., Hiraga, N., Takaishi, H., Noguchi, C., Oga, H., Imamura, M., Takahashi, S., Iwao, E., Fujimoto, Y., Ochi, H., Chayama, K., Tateno, C., & Yoshizato, K. (2005). Infection of human hepatocyte chimeric mouse with genetically engineered hepatitis B virus. *Hepatology*, 42(5), 1046-1054.
81. Clippinger, A. J., Gearhart, T. L., & Bouchard, M. J. (2009). Hepatitis B virus X protein modulates apoptosis in primary rat hepatocytes by regulating both NF-kappaB and the mitochondrial permeability transition pore. *Journal of Virology*, 83(9), 4718-4731.
82. Wei, C., Ni, C., Song, T., Liu, Y., Yang, X., Zheng, Z., Jia, Y., Yuan, Y., Guan, K., Xu, Y., & others. (2010). The hepatitis B virus X protein disrupts innate immunity by downregulating mitochondrial antiviral signaling protein. *Journal of Immunology*, 185(2), 1158–1168.

83. Wang, L., Sun, Y., Song, X., Wang, Z., Zhang, Y., Zhao, Y., Peng, X., Zhang, X., Li, C., Gao, C., & others. (2021). Hepatitis B virus evades immune recognition via RNA adenosine deaminase ADAR1-mediated viral RNA editing in hepatocytes. *Cellular & Molecular Immunology*, 18(7), 1871–1882.
84. Gearhart, T. L., & Bouchard, M. J. (2010). Replication of the hepatitis B virus requires a calcium-dependent HBx-induced G1 phase arrest of hepatocytes. *Virology*, 407(1), 14-25.
85. Xie, L., & Huang, Y. (2019). Antagonism of RIP1 using necrostatin-1 (Nec-1) ameliorated damage and inflammation of HBV X protein (HBx) in human normal hepatocytes. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 47(1), 1194–1199.
86. Duan, L., Wu, R., Zhang, X., Wang, D., You, Y., Zhang, Y., Zhou, L., & Chen, W. (2018). HBx-induced S100A9 in an NF-κB dependent manner promotes growth and metastasis of hepatocellular carcinoma cells. *Cell Death & Disease*, 9, 629.
87. Lucifora, J., Arzberger, S., Durantel, D., Belloni, L., Strubin, M., Levrero, M., Zoulim, F., Hantz, O., & Protzer, U. (2011). Hepatitis B virus X protein is essential to initiate and maintain virus replication after infection. *Journal of Hepatology*, 55(5), 996-1003
88. Bouchard, M. J., & Schneider, R. J. (2004). The enigmatic X gene of hepatitis B virus. *Journal of Virology*, 78(23), 12725–12734.
89. Xiang, W.-Q., Feng, W.-F., Ke, W., Sun, Z., Chen, Z., & Liu, W. (2011). Hepatitis B virus X protein stimulates IL-6 expression in hepatocytes via a MYD88-dependent pathway. *Journal of Hepatology*, 54(1), 26–33.
90. Murakami, S. (2001). Hepatitis B virus X protein: A multifunctional viral regulator. *Journal of Gastroenterology*, 36(9), 651–660.
91. Bouchard, M. J., & Schneider, R. J. (2004). The enigmatic X gene of hepatitis B virus. *Journal of Virology*, 78(23), 12725–12734.
92. Rawat, S., Clippinger, A. J., & Bouchard, M. J. (2012). Modulation of apoptotic signaling by the hepatitis B virus X protein. *Viruses*, 4(11), 2945–2972.
93. Rawat, S., Clippinger, A. J., & Bouchard, M. J. (2012). Modulation of apoptotic signaling by the hepatitis B virus X protein. *Viruses*, 4(11), 2945–2972.
94. Shukla, S. K., & Kumar, V. (2012). Hepatitis B virus X protein and c-Myc cooperate in the upregulation of ribosome biogenesis and in cellular transformation. *FEBS Journal*, 279(20), 3859–3871.
95. Xu, J., Liu, H., Chen, L., Wang, S., Zhou, L., Yun, X., Sun, L., Wen, Y., & Gu, J. (2012). Hepatitis B virus X protein confers resistance of hepatoma cells to anoikis by up-regulating and activating p21-activated kinase 1. *Gastroenterology*, 143(1), 199–212.e4.

96. Lamontagne, R. J., & Bouchard, M. J. (2016). Hepatitis B virus molecular biology and pathogenesis. *Hepatoma Research*, 2, 163-186.
97. Zhang, W., Lu, Z., Kong, G., Gao, Y., Wang, T., Wang, Q., Cai, N., Wang, H., Liu, F., Ye, L., & others. (2014). Hepatitis B virus X protein accelerates hepatocarcinogenesis with partner survivin through modulating miR-520b and HBXIP. *Molecular Cancer*, 13, 128.
98. Kong, F., You, H., Zhao, J., Liu, W., Hu, L., Luo, W., Hu, W., Tang, R., & Zheng, K. (2015). The enhanced expression of death receptor 5 (DR5) mediated by HBV X protein through NF-kappaB pathway is associated with cell apoptosis induced by TNF- α related apoptosis inducing ligand (TRAIL) in hepatoma cells. *Virology Journal*, 12, 192.
99. Bouchard, M. J., & Navas-Martin, S. (2011). Hepatitis B and C virus hepatocarcinogenesis: Lessons learned and future challenges. *Cancer Letters*, 305(2), 123-143.
100. Y.-C., Han K.-H., Gish R.G., de Man R.A., Yu M., Llamoso C., Tang H. Covalently closed-circular hepatitis B virus DNA reduction with entecavir or lamivudine. *World J. Gastroenterol.* 2015;21:4644–4651.
101. McIntyre A., Nimmo G.R., Wood G.M., Tinniswood R.D., Kerlin P. Isolated hepatitis B core antibody--can response to hepatitis B vaccine help elucidate the cause? *Aust. N. Z. J. Med.* 1992;22:19–22.
102. Chakvetadze C., Bani-Sadr F., Le Pendeven C., Lescure F.-X., Fontaine C., Galperine T., Slama L., Bonnard P., Mariot P., Soussan P., et al. Serologic response to hepatitis B vaccination in HIV-Infected patients with isolated positivity for antibodies to hepatitis B core antigen. *Clin. Infect. Dis.* 2010;50:1184–1186.
103. Elmore L.W., Hancock A.R., Chang S.F., Wang X.W., Chang S., Callahan C.P., Geller D.A., Will H., Harris C.C. Hepatitis B virus X protein and p53 tumor suppressor interactions in the modulation of apoptosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1997;94:14707–14712.
104. Feitelson M.A., Bonamassa B., Arzumanyan A. The roles of hepatitis B virus-encoded X protein in virus replication and the pathogenesis of chronic liver disease. *Expert Opin. Ther. Targets.* 2014;18:293–306.
105. Blondot M.-L., Bruss V., Kann M. Intracellular transport and egress of hepatitis B virus. *J. Hepatol.* 2016;64
106. Zoulim F. New insight on hepatitis B virus persistence from the study of intrahepatic viral cccDNA. *J. Hepatol.* 2005;42:302–308.

107. Bowden S., Locarnini S., Chang T.-T., Chao Y.-C., Han K.-H., Gish R.G., de Man R.A., Yu M., Llamoso C., Tang H. Covalently closed-circular hepatitis B virus DNA reduction with entecavir or lamivudine. *World J. Gastroenterol.* 2015;21:4644–4651.
108. McIntyre A., Nimmo G.R., Wood G.M., Tinniswood R.D., Kerlin P. Isolated hepatitis B core antibody can response to hepatitis B vaccine help elucidate the cause? *Aust. N. Z. J. Med.* 1992;22:19–22.
109. Tang, R., Kong, F., Hu, L., You, H., Zhang, P., Du, W., & Zheng, K. (2012). Role of hepatitis B virus X protein in regulating LIM and SH3 protein 1 (LASP-1) expression to mediate proliferation and migration of hepatoma cells. *Virology Journal*, 9(1), 163.
110. Elmore, L. W., Hancock, A. R., Chang, S. F., Wang, X. W., Chang, S., Callahan, C. P., Geller, D. A., Will, H., & Harris, C. C. (1997). Hepatitis B virus X protein and p53 tumor suppressor interactions in the modulation of apoptosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 94(26), 14707–14712.
111. Feitelson, M. A., Bonamassa, B., & Arzumanyan, A. (2014). The roles of hepatitis B virus-encoded X protein in virus replication and the pathogenesis of chronic liver disease. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, 18(3), 293–306.
112. Bruss, V., & Kann, M. (2016). Intracellular transport and egress of hepatitis B virus. *Journal of Hepatology*, 64(Suppl 1), S49–S59.
113. New insight on hepatitis B virus persistence from the study of intrahepatic viral cccDNA. (2005). *Journal of Hepatology*, 42(2), 302–308.
114. Locarnini, S., Chang, T.-T., Chao, Y.-C., Han, K.-H., Gish, R. G., de Man, R. A., Yu, M., Llamoso, C., Tang, H. (2015). Covalently closed-circular hepatitis B virus DNA reduction with entecavir or lamivudine. *World Journal of Gastroenterology*, 21(15), 4644–4651.
115. McIntyre, A., Nimmo, G. R., Wood, G. M., Tinniswood, R. D., & Kerlin, P. (1992). Isolated hepatitis B core antibody—Can response to hepatitis B vaccine help elucidate the cause? *Australian and New Zealand Journal of Medicine*, 22(1), 19–22.
116. Chakvetadze, C., Bani-Sadr, F., Le Pendeven, C., Lescure, F.-X., Fontaine, C., Galperine, T., Slama, L., Bonnard, P., Mariot, P., & Soussan, P. (2010). Serologic response to hepatitis B vaccination in HIV-infected patients with isolated positivity for antibodies to hepatitis B core antigen. *Clinical Infectious Diseases*, 50(8), 1184–1186.
117. Furer, V., Rondaan, C., Heijstek, M. W., Agmon-Levin, N., van Assen, S., Bijl, M., Breedveld, F. C., D’Amelio, R., Dougados, M., & Kapetanovic, M. C. (2020). 2019 update of EULAR recommendations for vaccination in adult patients with autoimmune inflammatory rheumatic diseases. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 79(1), 39–52.

118. Locarnini, S., Chang, T.-T., Chao, Y.-C., Han, K.-H., Gish, R. G., de Man, R. A., Yu, M., Llamoso, C., Tang, H. (2015). Covalently closed-circular hepatitis B virus DNA reduction with entecavir or lamivudine. *World Journal of Gastroenterology*, 21(15), 4644–4651.
119. McIntyre, A., Nimmo, G. R., Wood, G. M., Tinniswood, R. D., & Kerlin, P. (1992). Isolated hepatitis B core antibody—Can response to hepatitis B vaccine help elucidate the cause? *Australian and New Zealand Journal of Medicine*, 22(1), 19–22.
120. Chakvetadze, C., Bani-Sadr, F., Le Pendeven, C., Lescure, F.-X., Fontaine, C., Galperine, T., Slama, L., Bonnard, P., Mariot, P., & Soussan, P. (2010). Serologic response to hepatitis B vaccination in HIV-infected patients with isolated positivity for antibodies to hepatitis B core antigen. *Clinical Infectious Diseases*, 50(8), 1184–1186.
121. Furer, V., Rondaan, C., Heijstek, M. W., Agmon-Levin, N., van Assen, S., Bijl, M., Breedveld, F. C., D’Amelio, R., Dougados, M., & Kapetanovic, M. C. (2020). 2019 update of EULAR recommendations for vaccination in adult patients with autoimmune inflammatory rheumatic diseases. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 79(1), 39–52.
122. Loeb, D. D., Hirsch, R. C., & Ganem, D. (1991). Sequence-independent RNA cleavages generate the primers for plus strand DNA synthesis in hepatitis B viruses: Implications for other reverse transcribing elements. *EMBO Journal*, 10(12), 3533-3540.
123. Bill, C. A., & Summers, J. (2004). Genomic DNA double-strand breaks are targets for hepadnaviral DNA integration. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(35), 11135-11140.
124. Maguire, M. L., & Loeb, D. D. (2010). Cis-acting sequences that contribute to synthesis of minus-strand DNA are not conserved between hepadnaviruses. *Journal of Virology*, 84(24), 12824-12831.
125. Lewellyn, E. B., & Loeb, D. D. (2007). Base pairing between cis-acting sequences contributes to template switching during plus-strand DNA synthesis in human hepatitis B virus. *Journal of Virology*, 81(12), 6207-6215.
126. Tan, Z., Pionek, K., Unchwaniwala, N., Maguire, M. L., Loeb, D. D., & Zlotnick, A. (2015). The interface between hepatitis B virus capsid proteins affects self-assembly, pregenomic RNA packaging, and reverse transcription. *Journal of Virology*, 89(6), 3275-3284.
127. Tuttleman, J. S., Pourcel, C., & Summers, J. (1986). Formation of the pool of covalently closed circular viral DNA in hepadnavirus-infected cells. *Cell*, 47(3), 451-460.

128. Wu, T. T., Coates, L., Aldrich, C. E., Summers, J., & Mason, W. S. (1990). In hepatocytes infected with duck hepatitis B virus, the template for viral RNA synthesis is amplified by an intracellular pathway. *Virology*, 175(2), 255-261.
129. Summers, J., Smith, P. M., & Horwich, A. L. (1990). Hepadnavirus envelope proteins regulate covalently closed circular DNA amplification. *Journal of Virology*, 64(6), 2819-2824.
130. Lentz, T. B., & Loeb, D. D. (2011). Roles of the envelope proteins in the amplification of covalently closed circular DNA and completion of synthesis of the plus-strand DNA in hepatitis B virus. *Journal of Virology*, 85(22), 11916-11927.
131. Zhang, Y. Y., Zhang, B. H., Theele, D., Litwin, S., Toll, E., & Summers, J. (2003). Single-cell analysis of covalently closed circular DNA copy numbers in a hepadnavirus-infected liver. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(20), 12372-12377.
132. Laras, A., Koskinas, J., Dimou, E., Kostamena, A., & Hadziyannis, S. J. (2006). Intrahepatic levels and replicative activity of covalently closed circular hepatitis B virus DNA in chronically infected patients. *Hepatology*, 44(3), 694-702.
133. Mason, W. S., Litwin, S., Xu, C., & Jilbert, A. R. (2007). Hepatocyte turnover in transient and chronic hepadnavirus infections. *Journal of Viral Hepatitis*, 14(Suppl 1), 22-28.
134. Addison, W. R., Walters, K. A., Wong, W. W., Wilson, J. S., Madej, D., Jewell, L. D., & Tyrrell, D. L. (2002). Half-life of the duck hepatitis B virus covalently closed circular DNA pool in vivo following inhibition of viral replication. *Journal of Virology*, 76(13), 6356-6363.
135. Ning, X., Nguyen, D., Mentzer, L., Adams, C., Lee, H., Ashley, R., Hafenstein, S., & Hu, J. (2011). Secretion of genome-free hepatitis B virus: Single strand blocking model for virion morphogenesis of para-retrovirus. *PLoS Pathogens*, 7(9), e1002255.
136. Gerelsaikhan, T., Tavis, J. E., & Bruss, V. (1996). Hepatitis B virus nucleocapsid envelopment does not occur without genomic DNA synthesis. *Journal of Virology*, 70(7), 4269-4274.
137. Yuan, T. T., Sahu, G. K., Whitehead, W. E., Greenberg, R., & Shih, C. (1999). The mechanism of an immature secretion phenotype of a highly frequent naturally occurring missense mutation at codon 97 of human hepatitis B virus core antigen. *Journal of Virology*, 73(7), 5731-5740.
138. Nowak, M. A., Bonhoeffer, S., Hill, A. M., Boehme, R., Thomas, H. C., & McDade, H. (1996). Viral dynamics in hepatitis B virus infection. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 93(9), 4398-4402.

139. Watanabe, T., Sorensen, E. M., Naito, A., Schott, M., Kim, S., & Ahlquist, P. (2007). Involvement of host cellular multivesicular body functions in hepatitis B virus budding. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(24), 10205-10210.
140. Bruss, V. (2007). Hepatitis B virus morphogenesis. *World Journal of Gastroenterology*, 13(1), 65-73.
141. Summers, J., Smolec, J. M., & Snyder, R. (1978). A virus similar to human hepatitis B virus associated with hepatitis and hepatoma in woodchucks. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 75(10), 4533-4537.
142. Lenhoff, R. J., Luscombe, C. A., & Summers, J. (1999). Acute liver injury following infection with a cytopathic strain of duck hepatitis B virus. *Hepatology*, 29(3), 563-571.
143. Newbold, J. E., Xin, H., Tencza, M., Sherman, G., Dean, J., Bowden, S., & Locarnini, S. (1995). The covalently closed duplex form of the hepadnavirus genome exists in situ as a heterogeneous population of viral minichromosomes. *Journal of Virology*, 69(5), 3350-3357.
144. Guo, J. T., Zhou, H., Liu, C., Aldrich, C., Saputelli, J., Whitaker, T., Barrasa, M. I., Mason, W. S., & Seeger, C. (2000). Apoptosis and regeneration of hepatocytes during recovery from transient hepadnavirus infections. *Journal of Virology*, 74(3), 1495-1505.
145. Kajino, K., Jilbert, A. R., Saputelli, J., Aldrich, C. E., Cullen, J., & Mason, W. S. (1994). Woodchuck hepatitis virus infections: Very rapid recovery after a prolonged viremia and infection of virtually every hepatocyte. *Journal of Virology*, 68(9), 5792-5803.
146. Vickery, K., & Cossart, Y. (1996). DHBV manipulation and prediction of the outcome of infection. *Journal of Virology*, 25, 504-509.
147. Cote, P. J., Toshkov, I., Bellezza, C., Ascenzi, M., Roneker, C., Ann Graham, L., Baldwin, B. H., Gaye, K., Nakamura, I., Korba, B. E., Tennant, B. C., & Gerin, J. L. (2000). Temporal pathogenesis of experimental neonatal woodchuck hepatitis virus infection: Increased initial viral load and decreased severity of acute hepatitis during the development of chronic viral infection. *Hepatology*, 32(4), 807-817.
148. Snyder, R. L., Tyler, G., & Summers, J. (1982). Chronic hepatitis and hepatocellular carcinoma associated with woodchuck hepatitis virus. *American Journal of Pathology*, 107(3), 422-425.
149. Marion, P. L., Knight, S. S., Ho, B. K., Guo, Y. Y., Robinson, W. S., & Popper, H. (1984). Liver disease associated with duck hepatitis B virus infection of domestic ducks. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 81(3), 898-902.

150. Perlman, D. H., Berg, E. A., O'connor, P. B., Costello, C. E., & Hu, J. (2005). Reverse transcription-associated dephosphorylation of hepadnavirus nucleocapsids. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(25), 9020-9025.
151. Tsukiyama-Kohara, K., & Kohara, M. (2014). Tupaia belangeri as an experimental animal model for viral infection. *Experimental Animals*, 63(4), 367-374.
152. Yang, E. B., Cao, J., Su, J. J., & Chow, P. (2005). The tree shrews: Useful animal models for the viral hepatitis and hepatocellular carcinoma. *Hepatogastroenterology*, 52(63), 613-616.
153. Zhao, X., Tang, Z. Y., Klumpp, B., Wolff-Vorbeck, G., Barth, H., Levy, S., von Weizsäcker, F., Blum, H. E., & Baumert, T. F. (2002). Primary hepatocytes of tupaia belangeri as a potential model for hepatitis C virus infection. *Journal of Clinical Investigation*, 109(2), 221-232.
154. Seeger, C., Zoulim, F., & Mason, W. S. (2014). Hepadnaviruses. In Knipe, D. M., & Howley, P. M. (Eds.), *Fields Virology* (6th ed., pp. 3376-3436). Philadelphia, PA: Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins Health.
155. Mason, W. S., Seal, G., & Summers, J. (1980). Virus of Pekin ducks with structural and biological relatedness to human hepatitis B virus. *Journal of Virology*, 36(3), 829-836.
156. Yang, C., Ruan, P., Ou, C., Su, J., Cao, J., Luo, C., Tang, Y., Wang, Q., Qin, H., Sun, W., & Li, Y. (2015). Chronic hepatitis B virus infection and occurrence of hepatocellular carcinoma in tree shrews (*Tupaia belangeri chinensis*). *Virology Journal*, 12, 26.
157. Cheng, L., Li, F., Bility, M. T., Murphy, C. M., & Su, L. (2015). Modeling hepatitis B virus infection, immunopathology and therapy in mice. *Antiviral Research*, 121, 1-8.
158. Cote, P. J., Toshkov, I., Bellezza, C., Ascenzi, M., Roneker, C., Ann Graham, L., Baldwin, B. H., Gaye, K., Nakamura, I., Korba, B. E., Tennant, B. C., & Gerin, J. L. (2000). Temporal pathogenesis of experimental neonatal woodchuck hepatitis virus infection: Increased initial viral load and decreased severity of acute hepatitis during the development of chronic viral infection. *Hepatology*, 32(4), 807-817.
159. Snyder, R. L., Tyler, G., & Summers, J. (1982). Chronic hepatitis and hepatocellular carcinoma associated with woodchuck hepatitis virus. *American Journal of Pathology*, 107(3), 422-425.
160. Marion, P. L., Knight, S. S., Ho, B. K., Guo, Y. Y., Robinson, W. S., & Popper, H. (1984). Liver disease associated with duck hepatitis B virus infection of domestic ducks. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 81(3), 898-902.

161. Kock, J., Nassal, M., MacNelly, S., Baumert, T. F., Blum, H. E., & von Weizsäcker, F. (2001). Efficient infection of primary tupaia hepatocytes with purified human and woolly monkey hepatitis B virus. *Journal of Virology*, 75(11), 5084-5089.
162. Tsukiyama-Kohara, K., & Kohara, M. (2014). Tupaia belangeri as an experimental animal model for viral infection. *Experimental Animals*, 63(4), 367-374.
163. Yang, E. B., Cao, J., Su, J. J., & Chow, P. (2005). The tree shrews: Useful animal models for viral hepatitis and hepatocellular carcinoma. *Hepatogastroenterology*, 52(63), 613-616.
164. Zhao, X., Tang, Z. Y., Klumpp, B., Wolff-Vorbeck, G., Barth, H., Levy, S., von Weizsäcker, F., Blum, H. E., & Baumert, T. F. (2002). Primary hepatocytes of *Tupaia belangeri* as a potential model for hepatitis C virus infection. *Journal of Clinical Investigation*, 109(2), 221-232.
165. Guidotti, L. G., Ishikawa, T., Hobbs, M. V., Matzke, B., Schreiber, R., & Chisari, F. V. (1996). Intracellular inactivation of the hepatitis B virus by cytotoxic T lymphocytes. *Immunity*, 4(1), 25-36.
166. Yan, H., Zhong, G., Xu, G., He, W., Jing, Z., Gao, Z., Huang, Y., Qi, Y., Peng, B., Wang, H., Fu, L., Song, M., Chen, P., Gao, W., Ren, B., Sun, Y., Cai, T., Feng, X., Sui, J., & Li, W. (2012). Sodium taurocholate cotransporting polypeptide is a functional receptor for human hepatitis B and D virus. *eLife*, 1, e00049.
167. Cheng, L., Li, F., Bility, M. T., Murphy, C. M., & Su, L. (2015). Modeling hepatitis B virus infection, immunopathology and therapy in mice. *Antiviral Research*, 121, 1-8.
168. Barker, L. F., Chisari, F. V., McGrath, P. P., Dalgard, D. W., Kirschstein, R. L., Almeida, J. D., Edington, T. S., Sharp, D. G., & Peterson, M. R. (1973). Transmission of type B viral hepatitis to chimpanzees. *Journal of Infectious Diseases*, 127(6), 648-662.
169. Barker, L. F., Chisari, F. V., McGrath, P. P., Dalgard, D. W., Kirschstein, R. L., Almeida, J. D., Edington, T. S., Sharp, D. G., & Peterson, M. R. (1973). Transmission of type B viral hepatitis to chimpanzees. *Journal of Infectious Diseases*, 127(6), 648-662.
170. Shouval, D., Chakraborty, P. R., Ruiz-Opazo, N., Baum, S., Spigland, I., Muchmore, E., Gerber, M. A., Thung, S. N., Popper, H., & Shafritz, D. A. (1980). Chronic hepatitis in chimpanzee carriers of hepatitis B virus: Morphologic, immunologic, and viral DNA studies. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 77(10), 6147-6151.

171. Wieland, S., Thimme, R., Purcell, R. H., & Chisari, F. V. (2004). Genomic analysis of the host response to hepatitis B virus infection. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(17), 6669-6674.
172. Wieland, S., Thimme, R., Purcell, R. H., & Chisari, F. V. (2004). Genomic analysis of the host response to hepatitis B virus infection. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(17), 6669-6674.
173. Thimme, R., Wieland, S., Steiger, C., Ghayeb, J., Reimann, K. A., Purcell, R. H., & Chisari, F. V. (2003). CD8(+) T cells mediate viral clearance and disease pathogenesis during acute hepatitis B virus infection. *Journal of Virology*, 77(1), 68-76.
174. Wieland, S. F., Asabe, S., Engle, R. E., Purcell, R. H., & Chisari, F. V. (2014). Limited hepatitis B virus replication space in the chronically hepatitis C virus-infected liver. *Journal of Virology*, 88(10), 5184-5188.
175. Wadman, M. (2011). Animal rights: Chimpanzee research on trial. *Nature*, 474(7349), 268-271.
176. Guidotti, L. G., Matzke, B., Schaller, H., & Chisari, F. V. (1995). High-level hepatitis B virus replication in transgenic mice. *Journal of Virology*, 69(10), 6158-6169.
177. Brezillon, N., Brunelle, M. N., Massinet, H., Giang, E., Lamant, C., DaSilva, L., Berissi, S., Belghiti, J., Hannoun, L., Puerstinger, G., Wimmer, E., Neyts, J., Hantz, O., Soussan, P., Morosan, S., & Kremsdorf, D. (2011). Antiviral activity of Bay 41-4109 on hepatitis B virus in humanized Alb-uPA/SCID mice. *PLoS ONE*, 6(9), e25096.
178. Redelsperger, F., Lekbaby, B., Mandouri, Y., Giang, E., Duriez, M., Desire, N., Roque Afonso, A. M., Brichler, S., Dubreuil, P., Dobrin, A., Perlemuter, G., Prevot, S., Bacon, N., Grange, J. D., Zatlá, F., Le Pendeven, C., Pol, S., Strick-Marchand, H., Di Santo, J., & Kremsdorf, D. (2012). Production of hepatitis B defective particles is dependent on liver status. *Virology*, 431(1-2), 21-28.
179. Oehler, N., Volz, T., Bhadra, O. D., Kah, J., Allweiss, L., Giersch, K., Bierwolf, J., Riecken, K., Pollok, J. M., Lohse, A. W., Fehse, B., Petersen, J., Urban, S., Lütgehetmann, M., Heeren, J., & Dandri, M. (2014). Binding of hepatitis B virus to its cellular receptor alters the expression profile of genes of bile acid metabolism. *Hepatology*, 60(5), 1483-1493.
180. Belloni, L., Allweiss, L., Guerrieri, F., Pediconi, N., Volz, T., Pollicino, T., Petersen, J., Raimondo, G., Dandri, M., & Levrero, M. (2012). IFN- α inhibits HBV transcription and replication in cell culture and in humanized mice by targeting the epigenetic regulation of the nuclear cccDNA minichromosome. *J Clin Invest*, 122(2), 529-537.

181. Ni, Y., Lempp, F. A., Mehrle, S., Nkongolo, S., Kaufman, C., Fälth, M., Stindt, J., Königer, C., Nassal, M., Kubitz, R., Sülthmann, H., & Urban, S. (2014). Hepatitis B and D viruses exploit sodium taurocholate co-transporting polypeptide for species-specific entry into hepatocytes. *Gastroenterology*, 146(4), 1070-1083.
182. Li, H., Zhuang, Q., Wang, Y., Zhang, T., Zhao, J., Zhang, Y., Zhang, J., Lin, Y., Yuan, Q., Xia, N., & Han, J. (2014). HBV life cycle is restricted in mouse hepatocytes expressing human NTCP. *Cell Mol Immunol*, 11(2), 175-183.
183. He, W., Ren, B., Mao, F., Jing, Z., Li, Y., Liu, Y., Peng, B., Yan, H., Qi, Y., Sun, Y., Guo, J. T., Sui, J., Wang, F., & Li, W. (2015). Hepatitis D virus infection of mice expressing human sodium taurocholate co-transporting polypeptide. *PLoS Pathog*, 11(1), e1004840.
184. Gearhart, T. L., & Bouchard, M. J. (2011). The hepatitis B virus HBx protein modulates cell cycle regulatory proteins in cultured primary human hepatocytes. *Virus Res*, 155(2), 363-367.
185. Seeger, C., Zoulim, F., & Mason, W. S. (2014). Hepadnaviruses. In Knipe, D. M., & Howley, P. M. (Eds.), *Field's Virology* (6th ed., pp. 3376-3436). Philadelphia, PA: Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins Health.
186. Alexander, J. J., Bey, E. M., Geddes, E. W., & Lecatsas, G. (1976). Establishment of a continuously growing cell line from primary carcinoma of the liver. *S Afr Med J*, 50(50), 2124-2128.
187. Knowles, B. B., Howe, C. C., & Aden, D. P. (1980). Human hepatocellular carcinoma cell lines secrete the major plasma proteins and hepatitis B surface antigen. *Science*, 209(4455), 497-499.
188. Aden, D. P., Fogel, A., Plotkin, S., Damjanov, I., & Knowles, B. B. (1979). Controlled synthesis of HBsAg in a differentiated human liver carcinoma-derived cell line. *Nature*, 282(5739), 615-616.
189. Shaul, Y., Ziemer, M., Garcia, P. D., Crawford, R., Hsu, H., Valenzuela, P., & Rutter, W. J. (1984). Cloning and analysis of integrated hepatitis virus sequences from a human hepatoma cell line. *J Virol*, 51(3), 776-787.
190. 190 Shaul, Y., Ziemer, M., Garcia, P. D., Crawford, R., Hsu, H., Valenzuela, P., & Rutter, W. J. (1984). Cloning and analysis of integrated hepatitis virus sequences from a human hepatoma cell line. *J Virol*, 51(3), 776-787.
191. Edman, J. C., Gray, P., Valenzuela, P., Rall, L. B., & Rutter, W. J. (1980). Integration of hepatitis B virus sequences and their expression in a human hepatoma cell. *Nature*, 286(5763), 535-538.

192. Twist, E. M., Clark, H. F., Aden, D. P., Knowles, B. B., & Plotkin, S. A. (1981). Integration pattern of hepatitis B virus DNA sequences in human hepatoma cell lines. *J Virol*, 37(1), 239-243.
193. Nakabayashi, H., Taketa, K., Miyano, K., Yamane, T., & Sato, J. (1982). Growth of human hepatoma cells lines with differentiated functions in chemically defined medium. *Cancer Res*, 42(9), 3858-3863.
194. Chang, C. M., Jeng, K. S., Hu, C. P., Lo, S. J., Su, T. S., Ting, L. P., Chou, C. K., Han, S. H., Pfaff, E., & Salfeld, J. (1987). Production of hepatitis B virus in vitro by transient expression of cloned HBV DNA in a hepatoma cell line. *EMBO J*, 6(3), 675-680.
195. Yaginuma, K., Shirakata, Y., Kobayashi, M., & Koike, K. (1987). Hepatitis B virus (HBV) particles are produced in a cell culture system by transient expression of transfected HBV DNA. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 84(8), 2678-2682.
196. Ladner, S. K., Otto, M. J., Barker, C. S., Zaifert, K., Wang, G. H., Guo, J. T., Seeger, C., & King, R. W. (1997). Inducible expression of human hepatitis B virus (HBV) in stably transfected hepatoblastoma cells: A novel system for screening potential inhibitors of HBV replication. *Antimicrob Agents Chemother*, 41(8), 1715-1720.
197. Chen, J. L., Wu, M., Liu, K., Zhang, W., Li, Y., Zhou, X. H., Bai, L., & Yuan, Z. H. (2015). New insights into hepatitis B virus biology and implications for novel antiviral strategies. *Natl Sci Rev*, 2(2), 296-313.
198. Jiang, Y., Wang, A. H., Shao, L. H., Wang, G., Yao, Y. Y., Sai, L. T., Chen, F. Z., Zheng, F., Li, Y., & Ma, L. X.
199. Ganem, D., & Schneider, R. (2001). Hepadnaviridae: the viruses and their replication. In Knipe, D. M., & Howley, P. M. (Eds.), *Fields Virology* (pp. 2923–2970). Philadelphia: Lippincott-Raven.
200. Sagnelli, C., Ciccozzi, M., Pisaturo, M., Lo Presti, A., Cella, E., Coppola, N., & Sagnelli, E. (2015). The impact of viral molecular diversity on the clinical presentation and outcome of acute hepatitis B in Italy. *New Microbiol*, 38(2), 137–147.
201. Coppola, N., Tonziello, G., Colombatto, P., Pisaturo, M., Messina, V., Moriconi, F., Alessio, L., Sagnelli, C., Cavallone, D., Brunetto, M., et al. (2013). Lamivudine-resistant HBV strain rtM204V/I in acute hepatitis B. *J Infect*, 67(4), 322–328.
202. Coppola, N., Sagnelli, C., Pisaturo, M., Minichini, C., Messina, V., Alessio, L., Starace, M., Signoriello, G., Gentile, I., Filippini, P., et al. (2014). Clinical and virological characteristics associated with severe acute hepatitis B. *Clin Microbiol Infect*, 20(11), O991–O997.

203. Harrison, T. (2009). *Desk Encyclopedia of General Virology* (p. 455). Boston: Academic Press.
204. Olinger, C. M., Weber, B., Otegbayo, J. A., Ammerlaan, W., van der Taelem-Brulé, N., & Muller, C. P. (2007). Hepatitis B virus genotype E surface antigen detection with different immunoassays and diagnostic impact of mutations in the preS/S gene. *Med Microbiol Immunol*, 196(4), 247–252.
205. Ly, T. D., Servant-Delmas, A., Bagot, S., Gonzalo, S., Férey, M. P., Ebel, A., Dussaix, E., Laperche, S., & Roque-Afonso, A. M. (2006). Sensitivities of four new commercial hepatitis B virus surface antigen (HBsAg) assays in detection of HBsAg mutant forms. *J Clin Microbiol*, 44(6), 2321–2326.
206. Hou, J., Wang, Z., Cheng, J., Lin, Y., Lau, G. K., Sun, J., Zhou, F., Waters, J., Karayiannis, P., & Luo, K. (2001). Prevalence of naturally occurring surface gene variants of hepatitis B virus in nonimmunized surface antigen-negative Chinese carriers. *Hepatology*, 34(5), 1027–1034.
207. Bouchard, M. J., & Navas-Martin, S. (2011). Hepatitis B and C virus hepatocarcinogenesis: Lessons learned and future challenges. *Cancer Lett*, 305(2), 123-143.
208. Chen, C. J., & Yang, H. I. (2011). Natural history of chronic hepatitis B revealed. *J Gastroenterol Hepatol*, 26(4), 628-638.
209. Al-Mahtab, M., Roy, P. P., Khan, M. S. I., & Akbar, S. M. F. (2020). Nobel Prize for the discovery of Hepatitis B and C: A brief history in time. *Euroasian J Hepatogastroenterol*, 10(2), 98–100. <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10018-1328>
210. Chen, C. J., & Yang, H. I. (2011). Natural history of chronic hepatitis B revealed. *J Gastroenterol Hepatol*, 26(4), 628-638.
211. Yong-Lin Y, Qiang F, Ming-Shun Z, Jie C, Gui-Ming M, Zu-Hu H, Xu-Bing C. Hepatitis B surface antigen variants in voluntary blood donors in Nanjing, China. *Virol J*. 2012;9:82.
212. Wieland S, Thimme R, Purcell RH, Chisari FV. Genomic analysis of the host response to hepatitis B virus infection. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101:6669-74.
213. Wieland SF, Spangenberg HC, Thimme R, Purcell RH, Chisari FV. Expansion and contraction of the hepatitis B virus transcriptional template in infected chimpanzees. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101:2129-34.
214. Kajino K, Jilbert AR, Saputelli J, Aldrich CE, Cullen J, Mason WS. Woodchuck hepatitis virus infections: very rapid recovery after a prolonged viremia and infection of virtually every hepatocyte. *J Virol*. 1994;68:5792-803.

215. Summers J, Mason WS. Residual integrated viral DNA after hepadnavirus clearance by nucleoside analog therapy. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101:638-40.
216. Schultz U, Summers J, Staeheli P, Chisari FV. Elimination of duck hepatitis B virus RNA-containing capsids in duck interferon-alpha-treated hepatocytes. *J Virol*. 1999;73:5459-65.
217. Guo JT, Pryce M, Wang X, Barrasa MI, Hu J, Seeger C. Conditional replication of duck hepatitis B virus in hepatoma cells. *J Virol*. 2003;77:1885-93.
218. Yim HJ, Lok AS. Natural history of chronic hepatitis B virus infection: what we knew in 1981 and what we know in 2005. *Hepatology*. 2006;43
219. Summers J, Mason WS. Residual integrated viral DNA after hepadnavirus clearance by nucleoside analog therapy. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101:638-40.
220. Wieland S, Thimme R, Purcell RH, Chisari FV. Genomic analysis of the host response to hepatitis B virus infection. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101:6669-74.
221. Blackberg J, Kidd-Ljunggren K. Occult hepatitis B virus after acute self-limited infection persisting for 30 years without sequence variation. *J Hepatol*. 2000;33:992-7.
222. Chazouillères O, Mamish D, Kim M, Carey K, Ferrell L, Roberts JP, Ascher NL, Wright TL. "Occult" hepatitis B virus as source of infection in liver transplant recipients. *Lancet*. 1994;343:142-6.
223. Pollicino T, Squadrito G, Cerenza G, Cacciola I, Raffa G, Craxi A, Farinati F, Missale G, Smedile A, Tiribelli C, Villa E, Raimondo G. Hepatitis B virus maintains its pro-oncogenic properties in the case of occult HBV infection. *Gastroenterology*. 2004;126:102-10.
224. Chang ML, Liaw YF. Hepatitis B flares in chronic hepatitis B: pathogenesis, natural course, and management. *J Hepatol*. 2014;61:1407-17.
225. Liaw YF, Tai DI, Chu CM, Chen TJ. The development of cirrhosis in patients with chronic type B hepatitis: a prospective study. *Hepatology*. 2022;8:493-6.
226. Liaw YF. HBeAg seroconversion as an important end point in the treatment of chronic hepatitis B. *Hepatol Int*. 2009;3:425-33.
227. Madden CR, Finegold MJ, Slagle BL. Hepatitis B virus X protein acts as a tumor promoter in development of diethylnitrosamine-induced preneoplastic lesions. *J Virol*. 2001;75:3851-8.

228. Gearhart TL, Bouchard MJ. The hepatitis B virus X protein modulates hepatocyte proliferation pathways to stimulate viral replication. *J Virol.* 2010;84:2675-86.
229. Friedrich B, Wollersheim M, Brandenburg B, Foerste R, Will H, Hildt E. Induction of anti-proliferative mechanisms in hepatitis B virus producing cells. *J Hepatol.* 2005;43:696-703.
230. Wang CM, Wang Y, Fan CG, Xu FF, Sun WS, Liu YG, Jia JH. miR-29c targets TNFAIP3, inhibits cell proliferation and induces apoptosis in hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma. *Biochem Biophys Res Commun.* 2011;411:586-92.
231. Chin R, Earnest-Silveira L, Koeberlein B, Franz S, Zentgraf H, Dong X, Gowans E, Bock CT, Torresi J. Modulation of MAPK pathways and cell cycle by replicating hepatitis B virus: factors contributing to hepatocarcinogenesis. *J Hepatol.* 2007;47:325-37.
232. Reese VC, Oropeza CE, McLachlan A. Independent activation of hepatitis B virus biosynthesis by retinoids, peroxisome proliferators, and bile acids. *J Virol.* 2013;87:991-7.
233. Cheng PN, Liu WC, Tsai HW, Wu IC, Chang TT, Young KC. Association of intrahepatic cccDNA reduction with the improvement of liver histology in chronic hepatitis B patients receiving oral antiviral agents. *J Med Virol.* 2011;83:602-7.
234. Yang HC, Kao JH. Viral hepatitis. HBV cure--can we pin our hopes on immunotherapy? *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2015;12:129-31.
235. Ott JJ, Horn J, Krause G, Mikolajczyk RT. Time trends of chronic HBV infection over prior decades—a global analysis. *J Hepatol.* 2017;66:48-54.
236. Franco L, Bagnato B, Marino MG, Meleleo C, Serino L, Zaratti L. Hepatitis B: Epidemiology and prevention in developing countries. *World J Hepatol.* 2012;4(3):74–80. doi: 10.4254/wjh.v4.i3.74.
237. Viviani S, Carrieri P, Bah E, Hall AJ, Kirk GD, Mendy M, Montesano R, Plymoth A, Sam O, Van der Sande M, et al. 20 years into the Gambia Hepatitis Intervention Study: assessment of initial hypotheses and prospects for evaluation of protective effectiveness against liver cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2008;17:3216–3223.
238. Zanetti AR, Van Damme P, Shouval D. The global impact of vaccination against hepatitis B: a historical overview. *Vaccine.* 2008;26:6266–6273.
239. Elsheikh RM, Daak AA, Elsheikh MA, Karsany MS, Adam I. Hepatitis B virus and hepatitis C virus in pregnant Sudanese women. *Virol J.* 2007;4:104.

240. Zhang S, Li RT, Wang Y, Liu Q, Zhou YH, Hu Y. Seroprevalence of hepatitis B surface antigen among pregnant women in Jiangsu, China, 17 years after introduction of hepatitis B vaccine. *Int J Gynaecol Obstet.* 2010;109:194–197.
241. Elsheikh RM, Daak AA, Elsheikh MA, Karsany MS, Adam I. Hepatitis B virus and hepatitis C virus in pregnant Sudanese women. *Viol J.* 2007;4:104.
242. Candotti D, Danso K, Allain JP. Maternofetal transmission of hepatitis B virus genotype E in Ghana, west Africa. *J Gen Virol.* 2007;88:2686–2695.
243. El-Magrahe H, Furarah AR, El-Figih K, El-Urshfany S, Ghenghesh KS. Maternal and neonatal seroprevalence of Hepatitis B surface antigen (HBsAg) in Tripoli, Libya. *J Infect Dev Ctries.* 2010;4:168–170.
244. Anju SA, Goel A. Prevalence of HBV and HCV infection among health care workers (HCWs). *J Commun Dis.* 2000;32:228–230.
245. Zago AM, Machado TF, Cazarim FL, Miranda AE. Prevalence and risk factors for chronic hepatitis B in HIV patients attended at a sexually-transmitted disease clinic in Vitória, Brazil. *Braz J Infect Dis.* 2007;11:475–478.
246. Viviani, S., Carrieri, P., Bah, E., Hall, A. J., Kirk, G. D., Mendy, M., Montesano, R., Plymoth, A., Sam, O., Van der Sande, M., et al. (2008). 20 years into the Gambia Hepatitis Intervention Study: Assessment of initial hypotheses and prospects for evaluation of protective effectiveness against liver cancer. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, 17(12), 3216–3223.
247. Zanetti, A. R., Van Damme, P., & Shouval, D. (2008). The global impact of vaccination against hepatitis B: A historical overview. *Vaccine*, 26(49), 6266–6273.
248. Elsheikh, R. M., Daak, A. A., Elsheikh, M. A., Karsany, M. S., & Adam, I. (2007). Hepatitis B virus and hepatitis C virus in pregnant Sudanese women. *Virology Journal*, 4(1), 104.
249. Zhang, S., Li, R. T., Wang, Y., Liu, Q., Zhou, Y. H., & Hu, Y. (2010). Seroprevalence of hepatitis B surface antigen among pregnant women in Jiangsu, China, 17 years after introduction of hepatitis B vaccine. *International Journal of Gynecology & Obstetrics*, 109(3), 194–197.
250. Elsheikh, R. M., Daak, A. A., Elsheikh, M. A., Karsany, M. S., & Adam, I. (2007). Hepatitis B virus and hepatitis C virus in pregnant Sudanese women. *Virology Journal*, 4(1), 104.
251. Candotti, D., Danso, K., & Allain, J. P. (2007). Maternofetal transmission of hepatitis B virus genotype E in Ghana, West Africa. *Journal of General Virology*, 88(10), 2686–2695.

252. El-Magrahe, H., Furarah, A. R., El-Figih, K., El-Urshfany, S., & Ghenghesh, K. S. (2010). Maternal and neonatal seroprevalence of hepatitis B surface antigen (HBsAg) in Tripoli, Libya. *Journal of Infection in Developing Countries*, 4(3), 168–170.
253. Ganju, S. A., & Goel, A. (2000). Prevalence of HBV and HCV infection among health care workers (HCWs). *Journal of Communicable Diseases*, 32(3), 228–230.
254. Zago, A. M., Machado, T. F., Cazarim, F. L., & Miranda, A. E. (2007). Prevalence and risk factors for chronic hepatitis B in HIV patients attended at a sexually transmitted disease clinic in Vitória, Brazil. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 11(5), 475–478.
255. Tanaka, J. (2000). Hepatitis B epidemiology in Latin America. *Vaccine*, 18(Suppl 1), S17–S19.
256. Lama, J. R., Agurto, H. S., Guanira, J. V., Ganoza, C., Casapia, M., Ojeda, N., Ortiz, A., Zamalloa, V., Suarez-Ognio, L., & Cabezas, C., et al. (2010). Hepatitis B infection and association with other sexually transmitted infections among men who have sex with men in Peru. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 83(1), 194–200.
257. Elsheikh RM, Daak AA, Elsheikh MA, Karsany MS, Adam I. Hepatitis B virus and hepatitis C virus in pregnant Sudanese women. *Virol J.* 2007;4:104.
258. Zhang S, Li RT, Wang Y, Liu Q, Zhou YH, Hu Y. Seroprevalence of hepatitis B surface antigen among pregnant women in Jiangsu, China, 17 years after introduction of hepatitis B vaccine. *Int J Gynaecol Obstet.* 2010;109:194–197
259. Elsheikh RM, Daak AA, Elsheikh MA, Karsany MS, Adam I. Hepatitis B virus and hepatitis C virus in pregnant Sudanese women. *Virol J.* 2007;4:104.
260. Candotti D, Danso K, Allain JP. Maternofetal transmission of hepatitis B virus genotype E in Ghana, west Africa. *J Gen Virol.* 2007;88:2686–2695. El-Magrahe, H., Furarah, A. R., El-Figih, K., El-Urshfany, S., & Ghenghesh, K. S. (2010). Maternal and neonatal seroprevalence of hepatitis B surface antigen (HBsAg) in Tripoli, Libya. *Journal of Infection in Developing Countries*, 4(3), 168–170.
261. Ganju, S. A., & Goel, A. (2000). Prevalence of HBV and HCV infection among health care workers (HCWs). *Journal of Communicable Diseases*, 32(3), 228–230.
262. Zago, A. M., Machado, T. F., Cazarim, F. L., & Miranda, A. E. (2007). Prevalence and risk factors for chronic hepatitis B in HIV patients attended at a sexually-transmitted disease clinic in Vitória, Brazil. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 11(5), 475–478.
263. Tanaka, J. (2000). Hepatitis B epidemiology in Latin America. *Vaccine*, 18(Suppl 1), S17–S19.

264. Lama, J. R., Agurto, H. S., Guanira, J. V., Ganoza, C., Casapia, M., Ojeda, N., Ortiz, A., Zamalloa, V., Suarez-Ognio, L., Cabezas, C., et al. (2010). Hepatitis B infection and association with other sexually transmitted infections among men who have sex with men in Peru. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 83(1), 194–200.
265. Ashraf, H., Alam, N. H., Rothermundt, C., Brooks, A., Bardhan, P., Hossain, L., Salam, M. A., Hassan, M. S., Beglinger, C., & Gyr, N. (2010). Prevalence and risk factors of hepatitis B and C virus infections in an impoverished urban community in Dhaka, Bangladesh. *BMC Infectious Diseases*, 10(1), 208.
266. Mahfoud, Z., Kassak, K., Kreidieh, K., Shamra, S., & Ramia, S. (2010). Prevalence of antibodies to human immunodeficiency virus (HIV), hepatitis B and hepatitis C and risk factors in prisoners in Lebanon. *Journal of Infection in Developing Countries*, 4(3), 144–149.
267. Andrade, A. F., Oliveira-Silva, M., Silva, S. G., Motta, I. J., & Bonvicino, C. R. (2006). Seroprevalence of hepatitis B and C virus markers among blood donors in Rio de Janeiro, Brazil, 1998–2005. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 101(6), 673–676.
268. Tiwari, B. R., Ghimire, P., Kandel, S. R., & Rajkarnikar, M. (2010). Seroprevalence of HBV and HCV in blood donors: A study from regional blood transfusion services of Nepal. *Asian Journal of Transfusion Science*, 4(2), 91–93.
269. Kosgeroglu, N., Ayranci, U., Vardareli, E., & Dincer, S. (2004). Occupational exposure to hepatitis infection among Turkish nurses: Frequency of needle exposure, sharps injuries, and vaccination. *Epidemiology and Infection*, 132(1), 27–33.
270. Pereira, L. M., Martelli, C. M., Merchán-Hamann, E., Montarroyos, U. R., Braga, M. C., de Lima, M. L., Cardoso, M. R., Turchi, M. D., Costa, M. A., de Alencar, L. C., et al. (2009). Population-based multicentric survey of hepatitis B infection and risk factor differences among three regions in Brazil. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 81(2), 240–247.
271. Kosgeroglu, N., Ayranci, U., Vardareli, E., & Dincer, S. (2004). Occupational exposure to hepatitis infection among Turkish nurses: Frequency of needle exposure, sharps injuries, and vaccination. *Epidemiology and Infection*, 132(1), 27–33.
272. WHO. Blood Transfusion Safety. *World Health Organization*.
273. WHO. Global Blood Safety and Availability - Key facts and figures from the 2007 Blood Safety survey. *World Health Organization*.

274. Jayaraman, S., Chalabi, Z., Perel, P., Guerriero, C., & Roberts, I. (2010). The risk of transfusion-transmitted infections in sub-Saharan Africa. *Transfusion*, 50(2), 433–442.
275. Andrade, A. F., Oliveira-Silva, M., Silva, S. G., Motta, I. J., & Bonvicino, C. R. (2006). Seroprevalence of hepatitis B and C virus markers among blood donors in Rio de Janeiro, Brazil, 1998-2005. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 101, 673–676.
276. Zago, A. M., Machado, T. F., Cazarim, F. L., & Miranda, A. E. (2007). Prevalence and risk factors for chronic hepatitis B in HIV patients attended at a sexually transmitted disease clinic in Vitória, Brazil. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 11, 475–478.
277. Tanaka, J. (2000). Hepatitis B epidemiology in Latin America. *Vaccine*, 18(Suppl 1), S17–S19.
278. Fung, S. K., & Lok, A. (2004). Hepatitis B virus genotypes: do they play a role in the outcome of HBV infection? *Hepatology*, 40(4), 790–792.
279. Kramvis, A., & Kew, M. (2004). Relationships of genotypes of hepatitis B virus to mutations, disease progression and response to antiviral therapy. *Journal of Viral Hepatitis*, 12, 456–464.
280. Kramvis, A., Kew, M., & Francois, G. (2005). Hepatitis B virus genotypes. *Vaccine*, 23, 2409–2423.
281. Miyakawa, Y., & Mizokami, M. (2003). Classifying hepatitis B virus genotypes. *Intervirology*, 46, 329–338.
282. Schaefer, S. (2005). Hepatitis B virus: significance of genotypes. *Journal of Viral Hepatitis*, 12, 111–124.
283. Chu, C. J., Keefe, E., Han, S. H., Perrillo, R. P., Min, A. D., Soldevila-Pico, C., et al. (2003). Hepatitis B virus genotypes in the United States: results of a nationwide study. *Gastroenterology*, 125, 444–451.
284. Mast, E. E., Margolis, H. S., Fiore, A. E., et al. (2005). A comprehensive immunization strategy to eliminate transmission of hepatitis B virus infection in the United States: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) part 1: immunization of infants, children, and adolescents. *MMWR Recommendations and Reports*, 54(RR-16), 1–31.
285. Beasley, R. P., Hwang, L. Y., Lee, G. C., et al. (1983). Prevention of perinatally transmitted hepatitis B virus infections with hepatitis B immune globulin and hepatitis B vaccine. *Lancet*, 2(8359), 1099–1102.

286. Beasley, R. P., Hwang, L. Y., Lin, C. C., et al. (1982). Incidence of hepatitis B virus infections in preschool children in Taiwan. *Journal of Infectious Diseases*, 146(2), 198–204.
287. McMahon, B. J., Alward, W. L., Hall, D. B., et al. (1985). Acute hepatitis B virus infection: relation of age to the clinical expression of disease and subsequent development of the carrier state. *Journal of Infectious Diseases*, 151(4), 599–603.
288. Mast, E. E., Weinbaum, C. M., Fiore, A. E., Alter, M. J., Bell, B. P., Finelli, L., et al. (2006). A comprehensive immunization strategy to eliminate transmission of hepatitis B virus infection in the United States: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) part 1: immunization of infants, children, and adolescents. *MMWR Recommendations and Reports*, 55(RR-16), 1–25.
289. Mast, E. E., Alter, M. J., & Margolis, H. S. (1999). Strategies to prevent and control hepatitis B and C virus infections: a global perspective. *Vaccine*, 17(13–14), 1730–1733.
290. Livingston, S. E., Simonetti, J., Bulkow, L., Homan, C. E., Snowball, M. M., Cagle, H. H., et al. (2007). Clearance of Hepatitis B e antigen in patients with chronic hepatitis B and genotypes A, B, C, D and F. *Gastroenterology*, 133, 1452–1457.
291. Bekondi, C., Olinger, C. M., Boua, N., Talmarmin, A., Muller, C. P., Foau, A., et al. (2007). Central African Republic is part of the West African hepatitis B virus genotype E crescent. *Journal of General Virology*, 88(10), 2686–2695.
292. Yu, M. W., Yeh, S. H., Chen, P. J., Liaw, Y. F., Lin, C. L., Liu, C. J., et al. (2005). Hepatitis B virus genotype and DNA level and hepatocellular carcinoma: a prospective study in men. *Journal of the National Cancer Institute*, 97, 265–272.
293. Wai, C. T., Chu, C. J., Hussain, M., & Lok, A. S. (2002). HBV genotype B is associated with better response to interferon therapy in HBeAg(+) chronic hepatitis than genotype C. *Hepatology*, 36, 1425–1430.
294. Erhardt, A., Blondin, D., Hauck, K., Sagir, A., Kohnle, T., Heintges, T., et al. (2005). Response to interferon alfa is hepatitis B virus genotype dependent: genotype A is more sensitive to interferon than genotype D. *Gut*, 54, 1009–1013.
295. Lau, G. K., Piratvisuth, T., Luo, K. X., Marcellin, P., Thongsawat, S., Cooksley, G., et al. (2005). Peginterferon Alfa-2a, lamivudine, and the combination for HBeAg-positive chronic hepatitis B. *New England Journal of Medicine*, 352, 2682–2695.
296. Toan, N. I., Song, L. H., Kremsner, P. G., Duy, D. N., Binh, V. Q., Koeberlein, B., et al. (2006). Impact of the hepatitis B virus genotype and genotype mixtures on the course of liver disease in Vietnam. *Hepatology*, 43, 1375–1384.

297. Liaw, Y. F., Brunetto, M. R., & Hadziyannis, S. (2010). The natural history of chronic HBV infection and geographical differences. *Antiviral Therapy*, 15(Suppl 3), 25-33.
298. Cote, P. J., Korba, B. E., Miller, R. H., Jacob, J. R., Baldwin, H. B., Hornbuckle, W. E., Purcell, R. H., Tennant, B. C., & Gerin, J. L. (2000). Effects of age and viral determinants on chronicity as an outcome of experimental woodchuck hepatitis virus infection. *Hepatology*, 31, 190-200.
299. Hadziyannis, S. J., & Vassilopoulos, D. (2001). Hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B. *Hepatology*, 34, 617-624.
300. hu, C. J., Hussain, M., & Lok, A. S. (2002). Hepatitis B virus genotype B is associated with earlier HBeAg seroconversion compared with hepatitis B virus genotype C. *Gastroenterology*, 122(6), 1756–1762.
301. Chu, C. M., & Liaw, Y. F. (2005). Genotype C hepatitis B virus infection is associated with a higher risk of reactivation of hepatitis B and progression to cirrhosis than genotype B: A longitudinal study of hepatitis B e antigen-positive patients with normal aminotransferase levels at baseline. *Journal of Hepatology*, 43(3), 411–417.
302. Yu, M. W., Yeh, S. H., Chen, P. J., Liaw, Y. F., Lin, C. L., Liu, C. J., et al. (2005). Hepatitis B virus genotype and DNA level and hepatocellular carcinoma: A prospective study in men. *Journal of the National Cancer Institute*, 97(4), 265–272.
303. Wai, C. T., Chu, C. J., Hussain, M., & Lok, A. S. (2002). HBV genotype B is associated with better response to interferon therapy in HBeAg(+) chronic hepatitis than genotype C. *Hepatology*, 36, 1425–1430.
304. Erhardt, A., Blondin, D., Hauck, K., Sagir, A., Kohnle, T., Heintges, T., et al. (2005). Response to interferon alfa is hepatitis B virus genotype dependent: Genotype A is more sensitive to interferon than genotype D. *Gut*, 54, 1009–1013.
305. Lau, G. K., Piratvisuth, T., Luo, K. X., Marcellin, P., Thongsawat, S., Cooksley, G., et al. (2005). Peginterferon alfa-2a, lamivudine, and the combination for HBeAg-positive chronic hepatitis B. *New England Journal of Medicine*, 352, 2682–2695.
306. Toan, N. I., Song, L. H., Kremsner, P. G., Duy, D. N., Binh, V. Q., Koeberlein, B., et al. (2006). Impact of the hepatitis B virus genotype and genotype mixtures on the course of liver disease in Vietnam. *Hepatology*, 43, 1375–1384.
307. Liaw, Y. F., Brunetto, M. R., & Hadziyannis, S. (2010). The natural history of chronic HBV infection and geographical differences. *Antiviral Therapy*, 15(Suppl 3), 25–33.

308. Chu, C. J., Hussain, M., & Lok, A. S. (2002). Hepatitis B virus genotype B is associated with earlier HBeAg seroconversion compared with hepatitis B virus genotype C. *Gastroenterology*, 122, 1756–1762.
309. Livingston, S. E., Simonetti, J. P., Bulkow, L. R., Homan, C. E., Snowball, M. M., Cagle, H. H., Negus, S. E., & McMahon, B. J. (2007). Clearance of hepatitis B e antigen in patients with chronic hepatitis B and genotypes A, B, C, D, and F. *Gastroenterology*, 133, 1452–1457.
310. Chu CJ, Hussain M, Lok AS. Hepatitis B virus genotype B is associated with earlier HBeAg seroconversion compared with hepatitis B virus genotype C. *Gastroenterology*. 2002;122:1756-1762.
311. Livingston SE, Simonetti JP, Bulkow LR, Homan CE, Snowball MM, Cagle HH, Negus SE, McMahon BJ. Clearance of hepatitis B e antigen in patients with chronic hepatitis B and genotypes A, B, C, D, and F. *Gastroenterology*. 2007;133:1452-1457.
312. Yousif M, Mudawi H, Bakhiet S, Glebe D, Kramvis A. Molecular characterization of hepatitis B virus in liver disease patients and asymptomatic carriers of the virus in Sudan. *BMC Infect Dis*. 2013;13:328.
313. Tanaka Y, Hasegawa I, Kato T, Orito E, Hirashima N, Acharya SK, Gish RG, Kramvis A, Kew MC, Yoshihara N, Shrestha SM, Khan M, Miyakawa Y, Mizokami M. A case-control study for differences among hepatitis B virus infections of genotypes A (subtypes Aa and Ae) and D. *Hepatology*. 2004;40:747-755.
314. Chen M, Sallberg M, Hughes J, Jones J, Guidotti LG, Chisari FV, Billaud JN, Milich DR. Immune tolerance split between hepatitis B virus precore and core proteins. *J Virol*. 2005;79:3016-3027.
315. Milich D, Liang TJ. Exploring the biological basis of hepatitis B e antigen in hepatitis B virus infection. *Hepatology*. 2003;38:1075-1086.
316. Cote PJ, Korba BE, Miller RH, Jacob JR, Baldwin BH, Hornbuckle WE, Purcell RH, Tennant BC, Gerin JL. Effects of age and viral determinants on chronicity as an outcome of experimental woodchuck hepatitis virus infection. *Hepatology*. 2000;31:190-200.
317. Hadziyannis SJ, Vassilopoulos D. Hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B. *Hepatology*. 2001;34:617-624.
318. Hadziyannis SJ. Natural history of chronic hepatitis B in Euro-Mediterranean and African countries. *J Hepatol*. 2011;55:183-191.

319. Okada K, Kamiyama I, Inomata M, Imai M, Miyakawa Y. e antigen and anti-e in the serum of asymptomatic carrier mothers as indicators of positive and negative transmission of hepatitis B virus to their infants. *N Engl J Med*. 1976;294:746-749.
320. Wen WH, Chen HL, Ni YH, Hsu HY, Kao JH, Hu FC, Chang MH. Secular trend of the viral genotype distribution in children with chronic hepatitis B virus infection after universal infant immunization. *Hepatology*. 2011;53:429-436.
321. McMahon BJ. The influence of hepatitis B virus genotype and subgenotype on the natural history of chronic hepatitis B. *Hepatol Int*. 2009;3:334-342.
322. Araujo NM, Waizbort R, Kay A. Hepatitis B virus infection from an evolutionary point of view: how viral, host, and environmental factors shape genotypes and subgenotypes. *Infect Genet Evol*. 2011;11:1199-1207.
323. Kew MC, Kramvis A, Yu MC, Arakawa K, Hodgkinson J. Increased hepatocarcinogenic potential of hepatitis B virus genotype A in Bantu-speaking sub-Saharan Africans. *J Med Virol*. 2005;75:513-521.
324. Gopalakrishnan D, Keyter M, Shenoy KT, Leena KB, Thayumanavan L, Thomas V, Vinayakumar K, Panackel C, Korah AT, Nair R. Hepatitis B virus subgenotype A1 predominates in liver disease patients from Kerala, India. *World J Gastroenterol*. 2013;19:9294-9306.
325. Araujo NM, Waizbort R, Kay A. Hepatitis B virus infection from an evolutionary point of view: how viral, host, and environmental factors shape genotypes and subgenotypes. *Infect Genet Evol*. 2011;11:1199-1207.
326. Chandra PK, Biswas A, Datta S, Banerjee A, Panigrahi R, Chakrabarti S, De BK, Chakravarty R. Subgenotypes of hepatitis B virus genotype D (D1, D2, D3 and D5) in India: differential pattern of mutations, liver injury and occult HBV infection. *J Viral Hepat*. 2009;16:749-756.
327. Livingston SE, Simonetti JP, Bulkow LR, Homan CE, Snowball MM, Cagle HH, Negus SE, McMahon BJ. Clearance of hepatitis B e antigen in patients with chronic hepatitis B and genotypes A, B, C, D, and F. *Gastroenterology*. 2007;133:1452-1457.
328. Mahgoub S, Candotti D, El Ekiaby M, Allain JP. Hepatitis B virus (HBV) infection and recombination between HBV genotypes D and E in asymptomatic blood donors from Khartoum, Sudan. *J Clin Microbiol*. 2011;49:298-306.
329. Yousif M, Mudawi H, Bakhiet S, Glebe D, Kramvis A. Molecular characterization of hepatitis B virus in liver disease patients and asymptomatic carriers of the virus in Sudan. *BMC Infect Dis*. 2013;13:328.
330. Panduro A, Maldonado-Gonzalez M, Fierro NA, Roman S. Distribution of HBV genotypes F and H in Mexico and Central America. *Antivir Ther*. 2013;18:475-484.

331. Kramvis A, Kew MC. Relationship of genotypes of hepatitis B virus to mutations, disease progression and response to antiviral therapy. *J Viral Hepat.* 2005;12:456-464.
332. Lin CL, Kao JH. Clinical implications of hepatitis B virus variants. *J Formos Med Assoc.* 2010;109:321-325.
333. Liu S, Zhang H, Gu C, Yin J, He Y, Xie J, Cao G. Associations between hepatitis B virus mutations and the risk of hepatocellular carcinoma: a meta-analysis. *J Natl Cancer Inst.* 2009;101:1066-1082.
334. Kowalec K, Minuk GY, Borresen ML, Koch A, McMahon BJ, Simons B, Osiowy C. Genetic diversity of hepatitis B virus genotypes B6, D, and F among circumpolar indigenous individuals. *J Viral Hepat.* 2013;20:122-
335. Kramvis A, Kew MC. Relationship of genotypes of hepatitis B virus to mutations, disease progression and response to antiviral therapy. *J Viral Hepat.* 2005;12:456-464.
336. Ashraf, H., Alam, N. H., Rothermundt, C., Brooks, A., Bardhan, P., Hossain, L., Salam, M. A., Hassan, M. S., Beglinger, C., & Gyr, N. (2010). Prevalence and risk factors of hepatitis B and C virus infections in an impoverished urban community in Dhaka, Bangladesh. *BMC Infectious Diseases*, 10(1), 208.
337. Mahfoud, Z., Kassak, K., Kreidieh, K., Shamra, S., & Ramia, S. (2010). Prevalence of antibodies to human immunodeficiency virus (HIV), hepatitis B and hepatitis C and risk factors in prisoners in Lebanon. *Journal of Infection in Developing Countries*, 4(3), 144–149.
338. Andrade, A. F., Oliveira-Silva, M., Silva, S. G., Motta, I. J., & Bonvicino, C. R. (2006). Seroprevalence of hepatitis B and C virus markers among blood donors in Rio de Janeiro, Brazil, 1998–2005. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 101(6), 673–676.
339. Tiwari, B. R., Ghimire, P., Kandel, S. R., & Rajkarnikar, M. (2010). Seroprevalence of HBV and HCV in blood donors: A study from regional blood transfusion services of Nepal. *Asian Journal of Transfusion Science*, 4(2), 91–93.
340. Kosgeroglu, N., Ayranci, U., Vardareli, E., & Dincer, S. (2004). Occupational exposure to hepatitis infection among Turkish nurses: Frequency of needle exposure, sharps injuries, and vaccination. *Epidemiology and Infection*, 132(1), 27–33.
341. Pereira, L. M., Martelli, C. M., Merchán-Hamann, E., Montarroyos, U. R., Braga, M. C., de Lima, M. L., Cardoso, M. R., Turchi, M. D., Costa, M. A., de Alencar, L. C., et al. (2009). Population-based multicentric survey of hepatitis B infection and risk factor differences among three regions in Brazil. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 81(2), 240–247.

342. Ganju, S. A., & Goel, A. (2000). Prevalence of HBV and HCV infection among health care workers (HCWs). *Journal of Communicable Diseases*, 32(3), 228–230.
343. Zago, A. M., Machado, T. F., Cazarim, F. L., & Miranda, A. E. (2007). Prevalence and risk factors for chronic hepatitis B in HIV patients attended at a sexually transmitted disease clinic in Vitória, Brazil. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 11(5), 475–478.
344. Tanaka, J. (2000). Hepatitis B epidemiology in Latin America. *Vaccine*, 18(Suppl 1), S17–S19.
345. Lama, J. R., Agurto, H. S., Guanira, J. V., Ganoza, C., Casapia, M., Ojeda, N., Ortiz, A., Zamalloa, V., Suarez-Ognio, L., & Cabezas, C., et al. (2010). Hepatitis B infection and association with other sexually transmitted infections among men who have sex with men in Peru. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 83(1), 194–200.
346. Elsheikh RM, Daak AA, Elsheikh MA, Karsany MS, Adam I. Hepatitis B virus and hepatitis C virus in pregnant Sudanese women. *Virol J*. 2007;4:104.
347. Zhang S, Li RT, Wang Y, Liu Q, Zhou YH, Hu Y. Seroprevalence of hepatitis B surface antigen among pregnant women in Jiangsu, China, 17 years after introduction of hepatitis B vaccine. *Int J Gynaecol Obstet*. 2010;109:194–197
348. Elsheikh RM, Daak AA, Elsheikh MA, Karsany MS, Adam I. Hepatitis B virus and hepatitis C virus in pregnant Sudanese women. *Virol J*. 2007;4:104.
349. McMahon BJ. The influence of hepatitis B virus genotype and subgenotype on the natural history of chronic hepatitis B. *Hepatol Int*. 2009;3:334–342.
350. Osiowy, C., Larke, B., & Giles, E. (2011). Distinct geographical and demographic distribution of hepatitis B virus genotypes in the Canadian Arctic as revealed through an extensive molecular epidemiological survey. *Journal of Viral Hepatitis*, 18, e11–e19.
351. Kidd-Ljunggren, K., Holmberg, A., Blackberg, J., & Lindqvist, B. (2006). High levels of hepatitis B virus DNA in body fluids from chronic carriers. *Journal of Hospital Infection*, 64, 352–357.
352. Kobayashi, M., Ikeda, K., Arase, Y., Suzuki, F., Akuta, N., Hosaka, T., Sezaki, H., Yatsuji, H., Kobayashi, M., & Suzuki, Y. (2008). Change of hepatitis B virus genotypes in acute and chronic infections in Japan. *Journal of Medical Virology*, 80, 1880–1884.
353. Erhardt, A., Blondin, D., Hauck, K., Sagir, A., Kohnle, T., Heintges, T., & Haussinger, D. (2005). Response to interferon alfa is hepatitis B virus genotype dependent: Genotype A is more sensitive to interferon than genotype D. *Gut*, 54, 1009–1013.

354. Livingston, S. E., Simonetti, J. P., Bulkow, L. R., Homan, C. E., Snowball, M. M., Cagle, H. H., Negus, S. E., & McMahon, B. J. (2007). Clearance of hepatitis B e antigen in patients with chronic hepatitis B and genotypes A, B, C, D, and F. *Gastroenterology*, 133, 1452–1457.
355. Kao, J. H., Chen, P. J., Lai, M. Y., & Chen, D. S. (2000). Hepatitis B genotypes correlate with clinical outcomes in patients with chronic hepatitis B. *Gastroenterology*, 118, 554–559.
356. Yin, J., Zhang, H., Li, C., Gao, C., He, Y., Zhai, Y., Zhang, P., Xu, L., Tan, X., & Chen, J. (2008). Role of hepatitis B virus genotype mixture, subgenotypes C2 and B2 on hepatocellular carcinoma: Compared with chronic hepatitis B and asymptomatic carrier state in the same area. *Carcinogenesis*, 29, 1685–1691.
357. Yuan, J., Zhou, B., Tanaka, Y., Kurbanov, F., Orito, E., Gong, Z., Xu, L., Lu, J., Jiang, X., & Lai, W. (2007). Hepatitis B virus (HBV) genotypes/subgenotypes in China: Mutations in core promoter and precore/core and their clinical implications. *Journal of Clinical Virology*, 39, 87–93.
358. Orito, E., & Mizokami, M. (2007). Differences of HBV genotypes and hepatocellular carcinoma in Asian countries. *Hepatology Research*, 37, S33–S35.
359. Chen, J., Yin, J., Tan, X., Zhang, H., Zhang, H., Chen, B., Chang, W., Schaefer, S., & Cao, G. (2007). Improved multiplex-PCR to identify hepatitis B virus genotypes A-F and subgenotypes B1, B2, C1 and C2. *Journal of Clinical Virology*, 38, 238–243.
360. McMahon, B. J. (2009). The natural history of chronic hepatitis B virus infection. *Hepatology*, 49, S45–S55.
361. Erhardt, A., Gobel, T., Ludwig, A., Lau, G. K., Marcellin, P., van Bommel, F., Heinzl-Pleines, U., Adams, O., & Haussinger, D. (2009). Response to antiviral treatment in patients infected with hepatitis B virus genotypes E-H. *Journal of Medical Virology*, 81, 1716–1720.
362. Chauhan, R., Kazim, S. N., Kumar, M., Bhattacharjee, J., Krishnamoorthy, N., & Sarin, S. K. (2008). Identification and characterization of genotype A and D recombinant hepatitis B virus from Indian chronic HBV isolates. *World Journal of Gastroenterology*, 14, 6228–6236.
363. Kay, A., & Zoulim, F. (2007). Hepatitis B virus genetic variability and evolution. *Virus Research*, 127, 164–176.
364. Tabor, E. (2006). Infections by hepatitis B surface antigen gene mutants in Europe and North America. *Journal of Medical Virology*, 78(Suppl 1), S43–S47.
365. Mu, S. C., Lin, Y. M., Jow, G. M., & Chen, B. F. (2009). Occult hepatitis B virus infection in hepatitis B vaccinated children in Taiwan. *Journal of Hepatology*, 50, 264–272.

366. Shinkai, N., Tanaka, Y., Ito, K., Mukaide, M., Hasegawa, I., Asahina, Y., Izumi, N., Yatsushashi, H., Orito, E., & Joh, T. (2007). Influence of hepatitis B virus X and core promoter mutations on hepatocellular carcinoma among patients infected with subgenotype C2. *Journal of Clinical Microbiology*, 45, 3191–3197.
367. Mun, H. S., Lee, S. A., Jee, Y., Kim, H., Park, J. H., Song, B. C., Yoon, J. H., Kim, Y. J., Lee, H. S., & Hyun, J. W. (2008). The prevalence of hepatitis B virus preS deletions occurring naturally in Korean patients infected chronically with genotype C. *Journal of Medical Virology*, 80, 1189–1194.
368. Chen, B. F., Liu, C. J., Jow, G. M., Chen, P. J., Kao, J. H., & Chen, D. S. (2006). High prevalence and mapping of pre-S deletion in hepatitis B virus carriers with progressive liver diseases. *Gastroenterology*, 130, 1153–1168.
369. Liu, S., Zhang, H., Gu, C., Yin, J., He, Y., Xie, J., & Cao, G. (2009). Associations between hepatitis B virus mutations and the risk of hepatocellular carcinoma: A meta-analysis. *Journal of the National Cancer Institute*, 101, 1066–1082.
370. Werle-Lapostolle, B., Bowden, S., Locarnini, S., et al. (2004). Persistence of cccDNA during the natural history of chronic hepatitis B and decline during adefovir dipivoxil therapy. *Gastroenterology*, 126, 1750–1758.
371. Deguchi, M., Yamashita, N., Kagita, M., et al. (2004). Quantitation of hepatitis B surface antigen by an automated chemiluminescent microparticle immunoassay. *Journal of Virological Methods*, 115, 217–222.
372. Bonino, F., Brunetto, M. R., Colombatto, P., Moriconi, F., Torresani, E., Lunghi, G., et al. (2009). Use of the Elecsys HBsAg II assay for simple and accurate quantification of HBsAg levels in sera of patients infected with HBV. *Hepatology International*, 3, 108.
373. Frosner, G. G., Schomerus, H., Wiedmann, K. H., et al. (1982). Diagnostic significance of quantitative determination of hepatitis B surface antigen in acute and chronic hepatitis B infection. *European Journal of Clinical Microbiology*, 1, 52–58.
374. Chan, H. L., Wong, V. W., Tse, A. M., et al. (2007). Serum hepatitis B surface antigen quantitation can reflect hepatitis B virus in the liver and predict treatment response. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 5, 1462–1468.
375. Thomas, H. C., & Lemon, S. M. (2005). *Viral hepatitis* (3rd ed.). Blackwell Publishing.
376. Jaroszewicz, J., Calle Serrano, B., Wursthorn, K., et al. (2010). Hepatitis B surface antigen (HBsAg) levels in the natural history of hepatitis B virus (HBV)-infection: A European perspective. *Journal of Hepatology*, 52, 514–522.

377. Thompson, A. J., Nguyen, T., Iser, D., et al. (2010). Serum hepatitis B surface antigen and hepatitis B e antigen titers: Disease phase influences correlation with viral load and intrahepatic hepatitis B virus markers. *Hepatology*, 51,
378. Onino, F., Moriconi, F., Bowden, S., et al. (2011). Multicenter evaluation of the Elecsys HBsAg II Quant Assay. *Hepatology International*, 5, 80.
379. Sonneveld, M. J., Rijckborst, V., Boucher, C. A. B., et al. (2011). A comparison of two assays for quantification of hepatitis B surface antigen in serum of patients with chronic hepatitis B. *Journal of Hepatology*, 54, Abstract 750.
380. Wursthorn, K., Jaroszewicz, J., Zacher, B. J., et al. (2011). Correlation between the Elecsys HBsAg II assay and the Architect assay for the quantification of hepatitis B surface antigen (HBsAg) in the serum. *Journal of Clinical Virology*, 50, 292–296.
381. Chan, H. L., Wong, G. L., & Wong, V. W. (2009). A review of the natural history of chronic hepatitis B in the era of transient elastography. *Antiviral Therapy*, 14, 489–499.
382. Chan, H. L., Wong, V. W., Wong, G. L., Tse, C. H., Chan, H. Y., & Sung, J. J. (2010). A longitudinal study on the natural history of serum HBsAg changes in chronic hepatitis B. *Hepatology*, 52, 1232–1241.
383. Heng, P. N., Tsai, H. W., & Chang, T. T. (2011). Serum hepatitis B surface antigen level is associated with liver fibrosis in patients with HBeAg-positive chronic hepatitis B. *Journal of Hepatology*, 54, Abstract 362.
384. Seto, W. K., Wong, D. K., Fung, J., Hung, I. F., Fong, D. Y., Yuen, J. C., et al. (2012). A large case-control study on the predictability of hepatitis B surface antigen levels three years before hepatitis B surface antigen seroclearance. *Hepatology*, 56, 812–819.
385. Moucari, R., Mackiewicz, V., Lada, O., Ripault, M. P., Castelnau, C., Martinot-Peignoux, M., et al. (2009). Early serum HBsAg drop: a strong predictor of sustained virological response to pegylated interferon alfa-2a in HBeAg-negative patients. *Hepatology*, 49, 1151–1157.
386. Gramenzi, A., Loggi, E., Micco, L., Cursaro, C., Fiorino, S., Galli, S., et al. (2011). Serum hepatitis B surface antigen monitoring in long-term lamivudine-treated hepatitis B virus patients. *Journal of Viral Hepatitis*, 18, e468–e474.
387. Seto, W. K., Wong, D. K., Kopaniszen, M., Proitsi, P., Sham, P. C., Hung, I. F., et al. (2013). HLA-DP and IL28B polymorphisms: influence of host genome on hepatitis B surface antigen seroclearance in chronic hepatitis B. *Clinical Infectious Diseases*, 56, 1695–1703.

388. Seto, W. K., Wong, D. K., Fung, J., Hung, I. F., Fong, D. Y., Yuen, J. C., et al. (2012). A large case-control study on the predictability of hepatitis B surface antigen levels three years before hepatitis B surface antigen seroclearance. *Hepatology*, 56, 812–819.
389. Idilman, R., Cinar, K., Seven, G., Bozkus, Y., Elhan, A., Bozdayi, M., et al. (2012). Hepatitis B surface antigen seroconversion is associated with favorable long-term clinical outcomes during lamivudine treatment in HBeAg-negative chronic hepatitis B patients. *Journal of Viral Hepatitis*, 19, 220–226.
390. Lampertico, P., Vigano, M., Cheroni, C., Facchetti, F., Invernizzi, F., Valveri, V., et al. (2013). IL28B polymorphisms predict interferon-related HBsAg seroclearance in genotype D HBeAg-negative patients with chronic hepatitis B. *Hepatology*, 57, 890–896.
391. Seto, W. K., Fung, J., Yuen, M. F., & Lai, C. L. (2017). Future prevention and treatment of chronic hepatitis B infection. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 46, 725–734.
392. Seto, W. K., Fung, J., Yuen, M. F., & Lai, C. L. (2012). Future prevention and treatment of chronic hepatitis B infection. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 46, 725–734.
393. Gish, R. G., Chang, T. T., Lai, C. L., de Man, R., Gadano, A., Poordad, F., et al. (2010). Loss of HBsAg antigen during treatment with entecavir or lamivudine in nucleoside-naïve HBeAg-positive patients with chronic hepatitis B. *Journal of Viral Hepatitis*, 17, 16–22.
394. Chitnis, A. S., & Wong, R. J. (2022). Review of updated hepatitis B vaccine recommendations and potential challenges with implementation. *Gastroenterology & Hepatology*, 18(8), 447–451.
395. Toy, M., Hutton, D., Harris, A. M., Nelson, N., Salomon, J. A., & So, S. (2022). Cost-effectiveness of 1-time universal screening for chronic hepatitis B infection in adults in the United States. *Clinical Infectious Diseases*, 74(2), 210–217.
396. Tang, A. S., & Thornton, K. (2020). HBV Primary Care Workgroup. Hepatitis B management: guidance for the primary care provider.
397. Shen, A. K., Groom, A. V., Leach, D. L., Bridges, C. B., Tsai, A. Y., & Tan, L. (2019). A pathway to developing and testing quality measures aimed at improving adult vaccination rates in the United States. *Vaccine*, 37(10), 1277–1283.
398. Bruxvoort, K., Slezak, J., Huang, R., et al. (2020). Association of number of doses with hepatitis B vaccine series completion in US adults. *JAMA Network Open*, 3(11), e2027577.

399. Medhat, A., Arzumanyan, A., & Feitelson, M. A. (2021). Hepatitis B x antigen (HBx) is an important therapeutic target in the pathogenesis of hepatocellular carcinoma. *Oncotarget*, 12(24), 2421–2433.
400. Feitelson, M. A., Bonamassa, B., & Arzumanyan, A. (2014). The roles of hepatitis B virus-encoded X protein in virus replication and the pathogenesis of chronic liver disease. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, 18(3), 293–306.
401. Testoni, B., Lebossé, F., Scholtes, C., Berby, F., Miaglia, C., Subic, M., Loglio, A., Facchetti, F., Lampertico, P., Levrero, M., & Zoulim, F. (2019). Serum hepatitis B core-related antigen (HBcrAg) correlates with covalently closed circular DNA transcriptional activity in chronic hepatitis B patients. *Journal of Hepatology*, 70(4), 615–625.
402. Wu, J. W., Kao, J. H., & Tseng, T. C. (2021). Three heads are better than two: hepatitis B core-related antigen as a new predictor of hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma. *Clinical and Molecular Hepatology*, 27(4), 524–534.
403. Mak, L. Y., Wong, D. K., Cheung, K. S., Seto, W. K., Lai, C. L., & Yuen, M. F. (2018). Review article: hepatitis B core-related antigen (HBcrAg): an emerging marker for chronic hepatitis B virus infection. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 47(1), 43–54.
404. Wong, D. K., Seto, W. K., Cheung, K. S., Chong, C. K., Huang, F. Y., Fung, J., Lai, C. L., & Yuen, M. F. (2022). KASL clinical practice guidelines for management of chronic hepatitis B. *Clinical and Molecular Hepatology*, 28(2), 276–331.
405. KASL clinical practice guidelines for management of chronic hepatitis B. Korean Association for the Study of the Liver (KASL). Clin Mol Hepatol. 2022 Apr;28(2):276-331. doi: 10.3350/cmh.2022.0084. Epub 2022 Apr 1. PMID: 35430783.
406. Gandhi RT, Wurcel A, Lee HC, McGovern B, Boczanowski M, Gerwin R, et al. Isolated antibody to hepatitis B core antigen in human immunodeficiency virus type-1-infected individuals. Clin Infect Dis. 2003; 36: 1602–1605.
407. Lok AS, Lai CL, Wu PC. Prevalence of isolated antibody to hepatitis B core antigen in an area endemic for hepatitis B virus infection: implications in hepatitis B vaccination programs. HEPATOLOGY. 1988; 8: 766–770.
408. Mast EE, Margolis HS, Fiore AE, Brink EW, Goldstein ST, Wang SA, et al. A comprehensive immunization strategy to eliminate transmission of hepatitis B virus infection in the United States: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) part 1: immunization of infants, children, and adolescents. MMWR Recomm Rep. 2005; 54: 1–31.

409. Lok AS, Lai CL, Wu PC. Prevalence of isolated antibody to hepatitis B core antigen in an area endemic for hepatitis B virus infection: implications in hepatitis B vaccination programs. *HEPATOLOGY*. 2020; 8: 766–770.
410. McMahon BJ, Parkinson AJ. Clinical significance and management when antibody to hepatitis B core antigen is the sole marker for HBV infection. *Viral Hp Rev*. 2000; 6: 229–236.
411. Chronic hepatitis B. Anna S. F. Lok, Brian J. McMahon. First published: 26 January 2007.
412. Chronic hepatitis B. Anna S. F. Lok, Brian J. McMahon. First published: 26 January 2007.
413. *World J Gastroenterol*. 2020 Oct 7; 26(37): 5543–5560. Published online 2020 Oct 7. doi: 10.3748/wjg.v26.i37.5543. Hepatitis E virus: Epidemiology, diagnosis, clinical manifestations, and treatment. Abdullah Tarık Aslan and Hatice Yasemin Balaban.
414. Hoofnagle JH, Nelson KE, Purcell RH. Hepatitis E. *N Engl J Med*. 2012;367:1237–1244.
415. Krawczynski K. Foreword. Hepatitis E virus. *Semin Liver Dis*. 2013;33:1–2.
416. Chandra NS, Sharma A, Malhotra B, Rai RR. Dynamics of HEV viremia, fecal shedding and its relationship with transaminases and antibody response in patients with sporadic acute hepatitis E. *Virol J*. 2010;7:213.
417. Guerra JAAA, Kampa KC, Morsoletto DGB, Junior AP, Ivantes CAP. Hepatitis E: A Literature Review. *J Clin Transl Hepatol*. 2017;5:376–383.
418. Balayan MS, Andjaparidze AG, Savinskaya SS, Ketiladze ES, Braginsky DM, Savinov AP, Poleschuk VF. Evidence for a virus in non-A, non-B hepatitis transmitted via the fecal-oral route. *Intervirology*. 1983;20:23–31.
419. Ortona E, Pierdominici M. Έκδοση: ορμόνες φύλου και διαφορές φύλου στις ανοσολογικές αποκρίσεις. *Front Immunol*. 2019; 10: 1076. doi:10.3389/fimmu.2019.01076.
420. Villar LM, Cruz HM, Barbosa JR, et al. Ενημέρωση για τη διάγνωση του ιού της ηπατίτιδας B και C. *World J Virol*. 2016; 4: 323. doi:10.5501/wjv.v4.i4.323.
421. Ding Q, Heller B, Capuccino JM, Song B, Nimgaonkar I, Hrebikova G, Contreras JE, Ploss A. Hepatitis E virus ORF3 is a functional ion channel required for release of infectious particles. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2017;114:1147.
422. Liaw YF, Sung JJ, Chow WC, Farrell G, Lee CZ, Yuen H, et al. Lamivudine for patients with chronic hepatitis B and advanced liver disease. *N Engl J Med*. 2004; 351: 1521-1531.

423. Fried MW, Piratvisuth T, Lau GK, Marcellin P, Chow WC, Cooksley G, et al. HBeAg and hepatitis B virus DNA as outcome predictors during therapy with peginterferon alfa-2a for HBeAg-positive chronic hepatitis B. *Hepatology*. 2008; 47: 428-434.
424. Nowak MA, Bonhoeffer S, Hill AM, Boehme R, Thomas HC, McDade H. Viral dynamics in hepatitis B virus infection. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1996; 93: 4398-4402.
425. Global health sector strategy on viral hepatitis 2016–2021. Towards ending viral hepatitis. 2016.
426. Global elimination of chronic hepatitis. *N Engl J Med*. 2019; 380: 2041-2050.
427. Choi HS, J Brouwer WP, Zanjir WMR, et al. Nonalcoholic steatohepatitis is associated with liver-related outcomes and all-cause mortality in chronic hepatitis B. Thomas DL. *Hepatology*. 2020; 71: 539-548.
428. Papatheodoridi M, Papatheodoridis GV. Valenti. Is hepatitis delta underestimated? *Liver Int*. 2021; 41: 38-44.
429. Update on hepatitis B virus infection. You CR, Lee SW, Jang JW, Yoon SK. *World J Gastroenterol*. 2014 O7; 20(37):13293-305.
430. Can we cure hepatitis B virus with novel direct-acting antivirals? Martinez MG, Villeret F, Testoni B, Zoulim F. *Liver Int*. 2020 Feb; 40 Suppl 1:27-34.
431. Serum hepatitis B surface antigen and hepatitis B e antigen titers: Disease phase influences correlation with viral load and intrahepatic hepatitis B virus markers. Alexander J.V. Thompson, Tin Nguyen, David Iser, Anna Ayres, Kathy Jackson, Margaret Littlejohn, John Slavin, Scott Bowden, Edward J. Gane, et al.
432. Lu L, Ye D, Wang Y, Kwok A, Wong A, Yueng Y, et al. Correlation between HBV cccDNA and HBsAg levels and their reduction by peginterferon alfa-2a based therapy in patients with chronic hepatitis B [Abstract]. *Hepatology*. 2008; 48(Suppl 1): 746A.
433. Nguyen T, Thompson A, Desmond P, Bowden DS, Levy M, Locarnini S. Serum HBeAg and HBsAg concentrations: changing levels during the natural history of chronic hepatitis B. *J Hepatol*. 2009. In press.
434. Abdul Basit S, Dawood A, Ryan J, Gish R. Tenofovir alafenamide for the treatment of chronic hepatitis B virus infection. *Expert Rev Clin Pharmacol*. 2017. Jul 03; 10(7):707–716.
435. Agarwal K, Fung SK, Nguyen TT, Cheng W, Sicard E, Ryder SD, Flaherty JF, Lawson E, Zhao S, Subramanian GM, et al. Twenty-eight day safety, antiviral activity, and pharmacokinetics of tenofovir alafenamide for treatment of chronic hepatitis B infection. *J Hepatol*. 2015. Mar; 62(3):533–540.

436. Aghasadeghi MR, Aghakhani A, Mamishi S, Bidari-Zerehpooash F, Haghi Ashtiani MT, Sabeti S, Banifazl M, Karami A, Bavand A, Ramezani A. No evidence of occult HBV infection in population born after mass vaccination. *Wien Med Wochenschr.* 2020. Jun; 170(9–10):218–223.
437. Al-Qahtani AA, Al-Anazi MR, Nazir N, Abdo AA, Sanai FM, Al-Hamoudi WK, Alswat KA, Al-Ashgar HI, Khan MQ, Albenmousa A, et al. The correlation between hepatitis B virus Precore/core mutations and the progression of severe liver disease. *Front Cell Infect Microbiol.* 2018. Oct 22;
438. Seto, W. K., Wong, D. K., Fung, J., Hung, I. F., Fong, D. Y., Yuen, J. C., et al. (2012). A large case-control study on the predictability of hepatitis B surface antigen levels three years before hepatitis B surface antigen seroclearance. *Hepatology*, 56, 812–819.
439. Moucari, R., Mackiewicz, V., Lada, O., Ripault, M. P., Castelnau, C., Martinot-Peignoux, M., et al. (2009). Early serum HBsAg drop: a strong predictor of sustained virological response to pegylated interferon alfa-2a in HBeAg-negative patients. *Hepatology*, 49, 1151–1157.
440. Gramenzi, A., Loggi, E., Micco, L., Cursaro, C., Fiorino, S., Galli, S., et al. (2011). Serum hepatitis B surface antigen monitoring in long-term lamivudine-treated hepatitis B virus patients. *Journal of Viral Hepatitis*, 18, e468–e474.
441. Seto, W. K., Wong, D. K., Kopaniszen, M., Proitsi, P., Sham, P. C., Hung, I. F., et al. (2013). HLA-DP and IL28B polymorphisms: influence of host genome on hepatitis B surface antigen seroclearance in chronic hepatitis B. *Clinical Infectious Diseases*, 56, 1695–1703.
442. Medhat, A., Arzumanyan, A., & Feitelson, M. A. (2021). Hepatitis B x antigen (HBx) is an important therapeutic target in the pathogenesis of hepatocellular carcinoma. *Oncotarget*, 12(24), 2421–2433.
443. Feitelson, M. A., Bonamassa, B., & Arzumanyan, A. (2014). The roles of hepatitis B virus-encoded X protein in virus replication and the pathogenesis of chronic liver disease. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, 18(3), 293–306.
444. Testoni, B., Lebossé, F., Scholtes, C., Berby, F., Miaglia, C., Subic, M., Loglio, A., Facchetti, F., Lampertico, P., Levrero, M., & Zoulim, F. (2019). Serum hepatitis B core-related antigen (HBcrAg) correlates with covalently closed circular DNA transcriptional activity in chronic hepatitis B patients. *Journal of Hepatology*, 70(4), 615–625.
445. Wu, J. W., Kao, J. H., & Tseng, T. C. (2021). Three heads are better than two: hepatitis B core-related antigen as a new predictor of hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma. *Clinical and Molecular Hepatology*, 27(4), 524–534.

446. Mak, L. Y., Wong, D. K., Cheung, K. S., Seto, W. K., Lai, C. L., & Yuen, M. F. (2018). Review article: hepatitis B core-related antigen (HBcrAg): an emerging marker for chronic hepatitis B virus infection. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 47(1), 43–54.
447. Pastore, G., et al. (1992). Anti-HBe-positive chronic hepatitis B with HBV-DNA in the serum response to a 6-month course of lymphoblastoid interferon. *Journal of Hepatology*, 14(3), 221–225.
448. Brunetto, M. R., et al. (1993). Hepatitis B virus unable to secrete e antigen and response to interferon in chronic hepatitis B. *Gastroenterology*, 105(3), 845–850.
449. Brunetto, M. R., Oliveri, F., Colombatto, P., Moriconi, F., Ciccorossi, P., Coco, B., et al. (2010). Hepatitis B surface antigen serum levels help to distinguish active from inactive hepatitis B virus genotype D carriers. *Gastroenterology*, 139(2), 483–490.
450. Gessoni, G., Beggio, S., Barin, P., Favarato, M., Galli, C., Valverde, S., et al. (2014). Significance of anti-HBc only in blood donors: A serological and virological study after hepatitis B vaccination. *Blood Transfusion*, 12(Suppl 1), s63–68.
451. Raimondo, G., Locarnini, S., Pollicino, T., Levrero, M., Zoulim, F., Lok, A. S., et al. (2019). Update of the statements on biology and clinical impact of occult hepatitis B virus infection. *Journal of Hepatology*, 71(2), 397–408.
452. Huang, D., Lin, T., Wang, S., Cheng, L., Xie, L., Lu, Y., Chen, M., Zhu, L., Shi, J. (2019). The liver fibrosis index is superior to the APRI and FIB-4 for predicting liver fibrosis in chronic hepatitis B patients in China. *BMC Infectious Diseases*, 19(1), 878.
453. Kleinman, S. H., Kuhns, M. C., Todd, D. S., Glynn, S. A., McNamara, A., DiMarco, A., et al. (2003). Frequency of HBV DNA detection in US blood donors testing positive for the presence of anti-HBc: Implications for transfusion transmission and donor screening. *Transfusion*, 43(6), 696–704.
454. Witt, M. D., Lewis, R. J., Rieg, G., Seaberg, E. C., Rinaldo, C. R., Thio, C. L. (2013). Predictors of the isolated hepatitis B core antibody pattern in HIV-infected and -uninfected men in the multicenter AIDS cohort study. *Clinical Infectious Diseases*, 56(4), 606–612.
455. Liang, S. H., Chen, T. J., Lee, S. S., et al. (2010). Risk factors of isolated antibody against core antigen of hepatitis B virus: Association with HIV infection and age but not hepatitis C virus infection. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*, 54(2), 122–128.

456. French, A. L., Operskalski, E., Peters, M., et al. (2007). Isolated hepatitis B core antibody is associated with HIV and ongoing but not resolved hepatitis C virus infection in a cohort of US women. *Journal of Infectious Diseases*, 195(10), 1437–1442.
457. Pogany, K., Zaaier, H. L., Prins, J. M., Wit, F. W., Lange, J. M., Beld, M. G. (2005). Occult hepatitis B virus infection before and 1 year after start of HAART in HIV type 1-positive patients. *AIDS Research and Human Retroviruses*, 21(11), 922–926.
458. Tsui, J. I., French, A. L., Seaberg, E. C., et al. (2007). Prevalence and long-term effects of occult hepatitis B virus infection in HIV-infected women. *Clinical Infectious Diseases*, 45(6), 736–740.
459. Squadrito, G., Cacciola, I., Alibrandi, A., Pollicino, T., Raimondo, G. (2013). Impact of occult hepatitis B virus infection on the outcome of chronic hepatitis C. *Journal of Hepatology*, 59(4), 696–700.
460. Fukuda, R., Ishimura, N., Hamamoto, S., et al. (2001). Co-infection by serologically-silent hepatitis B virus may contribute to poor interferon response in patients with chronic hepatitis C by down-regulation of type-I interferon receptor gene expression in the liver. *Journal of Medical Virology*, 63(3), 220–227.
461. Bersoff-Matcha, S. J., Cao, K., Jason, M., et al. (2017). Hepatitis B Virus Reactivation Associated With Direct-Acting Antiviral Therapy for Chronic Hepatitis C Virus: A Review of Cases Reported to the U.S. Food and Drug Administration Adverse Event Reporting System. *Annals of Internal Medicine*, 166(11), 792–798.
462. Brunetto, M. R., Stemler, M., Schodel, F., Will, H., Ottoberelli, A., Rizzetto, M., Bonino, F. (1989). Identification of HBV variants which cannot produce precore derived HBeAg and may be responsible for severe hepatitis. *Italian Journal of Gastroenterology*, 21(3), 151-154.
463. Buckwold, V., Xu, Z., Chen, M., Yen, T., Ou, J. (1996). Effects of a naturally occurring mutation in the hepatitis B virus basal core promoter on precore gene expression and viral replication. *Journal of Virology*, 70(9), 5845-5851.
464. Carman, W., Jacyna, M., Hadziyannis, S., Karayiannis, P., McGarvey, M., Makris, A., Thomas, H. (1989). Mutation preventing formation of the hepatitis B e antigen in patients with chronic hepatitis B infection. *Lancet*, 2(8663), 588-591.
465. Chang, C., Enders, G., Sprengel, R., Peters, N., Varmus, H., Ganem, D. (1987). Expression of the precore region of an avian hepatitis B virus is not required for viral replication. *Journal of Virology*, 61(9), 3322-3325.

466. Chen, H., Kew, M., Hornbuckle, W., Tennant, B., Cote, P., Gerin, J., Purcell, R., Miller, R. (1992). The precore gene of the woodchuck hepatitis virus genome is not essential for viral replication in the natural host. *Journal of Virology*, 66(6), 5682-5684.
467. Chu, C., Lok, A. (2002). Clinical significance of hepatitis B virus genotypes. *Hepatology*, 35(5), 1274-1276.
468. Ganem, D., Schneider, R. (2001). Hepadnaviridae: The viruses and their replication. In D. Knipe & P. Howley (Eds.), *Fields Virology* (pp. 2923-2970).
469. Gripon, P., Rumin, S., Urban, S., Le Seyec, J., Glaise, D., Cannie, I., Guyomard, C., Lucas, J., Trepo, C., Guguen-Guillouzo, C. (2002). Infection of a human hepatoma line by hepatitis B virus. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 99(24), 15655-15660.
470. Chang, C., Enders, G., Sprengel, R., Peters, N., Varmus, H., & Ganem, D. (1987). Expression of the precore region of an avian hepatitis B virus is not required for viral replication. *Journal of Virology*, 61(10), 3322-3325.
471. Chen, H., Kew, M., Hornbuckle, W., Tennant, B., Cote, P., Gerin, J., Purcell, R., & Miller, R. (1992). The precore gene of the woodchuck hepatitis virus genome is not essential for viral replication in the natural host. *Journal of Virology*, 66(10), 5682-5684.
472. Chu, C., & Lok, A. (2002). Clinical significance of hepatitis B virus genotypes. *Hepatology*, 35(5), 1274-1276.
473. Ganem, D., & Schneider, R. (2001). Hepadnaviridae: The viruses and their replication. In D. Knipe & P. Howley (Eds.), *Fields virology* (pp. 2923-2970). Lippincott Williams & Wilkins.
474. Gripon, P., Rumin, S., Urban, S., Le Seyec, J., Glaise, D., Cannie, I., Guyomard, C., Lucas, J., Trepo, C., & Guguen-Guillouzo, C. (2002). Infection of a human hepatoma line by hepatitis B virus. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 99(24), 15655-15660.
475. Tang, H., Raney, A., & McLachlan, A. (2001). Replication of the wild type and a natural hepatitis B virus nucleocapsid promoter variant is differentially regulated by nuclear hormone receptors in cell culture. *Journal of Virology*, 75(18), 8937-8948.
476. Tong, S., Li, J., Vitvitski, L., & Trepo, C. (1990). Active hepatitis B virus replication in the presence of anti-HBe is associated with viral variants containing an inactive pre-C region. *Virology*, 176(2), 596-603.
477. Tong, S., Diot, C., Gripon, P., Vitvitski, L., Trepo, C., & Guguen-Guillouzo, C. (1991). In vitro replication competence of a cloned hepatitis B virus variant with a nonsense mutation in the distal pre-C region. *Virology*, 181(2), 733-737.

478. Walter, E., Keist, R., Niederost, B., Pult, I., & Blum, H. E. (1996). Hepatitis B virus infection of tupaia hepatocytes in vitro and in vivo. *Hepatology*, 24(1), 1-5.
479. Wasenauer, G., Kock, J., & Schlicht, H. (1993). Relevance of cysteine residues for biosynthesis and antigenicity of human hepatitis B virus e protein. *Journal of Virology*, 67(3), 1315-1321.
480. Yu, X., & Mertz, J. (2003). Distinct modes of regulation of transcription of hepatitis B virus by the nuclear receptors HNF4 and COUP-TF1. *Journal of Virology*, 77(4), 2489-2499.
481. Baptista, M., Kramvis, A., & Kew, M. (1999). High prevalence of 1762T1764A mutations in the basic core promoter of hepatitis B virus isolated from Black Africans with hepatocellular carcinoma compared with asymptomatic carriers. *Hepatology*, 29(3), 946-953.
482. Yuen, M. F., Tanaka, Y., Mizokami, M., Yuen, C. Y., & Wong, D. K. (2004). Role of hepatitis B virus genotypes Ba and C, core promoter and precore mutations of hepatocellular carcinoma: A case control study. *Carcinogenesis*, 25(9), 1593-1598.
483. Parekh, S., Zoulim, F., Ahn, S. H., Tsai, A., Li, J., Kawai, S., Khan, N., Trepo, C., Wands, J. R., & Tong, S. (2003). Genome replication, virion secretion, and e antigen expression of naturally occurring hepatitis B virus core promoter mutants. *Journal of Virology*, 77(12), 6601-6612.
484. Carman, W., Jacyna, M., Hadziyannis, S., Karayiannis, P., McGarvey, M., Makris, A., & Thomas, H. (1989). Mutation preventing formation of the hepatitis B e antigen in patients with chronic hepatitis B infection. *Lancet*, 2, 588-591.
485. Tong, S., Li, J., Vitvitski, L., & Trepo, C. (1990). Active hepatitis B virus replication in the presence of anti-HBe is associated with viral variants containing an inactive pre-C region. *Virology*, 176, 596-603.
486. Li, J., Tong, S., Wen, Y., Vitvitski, L., Zhang, Q., & Trepo, C. (1993). Hepatitis B virus genotype A rarely circulates as an HBe-minus mutant: Possible contribution of a single nucleotide in the precore region. *Journal of Virology*, 67, 5402-5410.
487. Tang, H., Raney, A., & McLachlan, A. (2001). Replication of the wild type and a natural hepatitis B virus nucleocapsid promoter variant is differentially regulated by nuclear hormone receptors in cell culture. *Journal of Virology*, 75, 8937-8948.
488. Tong, S., Li, J., Vitvitski, L., & Trepo, C. (1990). Active hepatitis B virus replication in the presence of anti-HBe is associated with viral variants containing an inactive pre-C region. *Virology*, 176, 596-603.
489. Carman, W., Jacyna, M., Hadziyannis, S., Karayiannis, P., McGarvey, M., Makris, A., & Thomas, H. (1989). Mutation preventing formation of the hepatitis B e antigen in patients with chronic hepatitis B infection. *Lancet*, 2, 588-591.

490. Tong, S., Diot, C., Gripon, P., Vitvitski, L., Trepo, C., & Guguen-Guillouzo, C. (2021). In vitro replication competence of a cloned hepatitis B virus variant with a nonsense mutation in the distal pre-C region. *Virology*, 181, 733-737.
491. Li, J., Tong, S., Wen, Y., Vitvitski, L., Zhang, Q., & Trepo, C. (2003). Hepatitis B virus genotype A rarely circulates as an HBe-minus mutant: Possible contribution of a single nucleotide in the precore region. *Journal of Virology*, 67, 5402-5410.
492. Centers for Disease Control and Prevention. (2020). Hepatitis B questions and answers for public health professionals. Atlanta, GA: Author.
493. Centers for Disease Control and Prevention. (2020). Immunization schedules. Atlanta, GA: Author.
494. Centers for Disease Control and Prevention. (2020). Interpretation of hepatitis B serological tests results. Atlanta, GA: Author.
495. Chan, H. L., Wang, H., Niu, J., Chim, A. M., & Sung, J. J. (2007). Two-year lamivudine treatment for hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B: A double-blind, placebo-controlled trial. *Antiviral Therapy*, 12(3), 345–353.
496. de Almeida Pondé, R. A. (2021). Dynamic profile of the HBeAg-anti-HBe system in acute and chronic hepatitis B virus infection: A clinical-laboratory approach. *Molecular Biology Reports*, 48(1), 843–854. doi:10.1007/s11033-020-06056-4
497. Murray, J. M., Purcell, R. H., & Wieland, S. F. (2006). The half-life of hepatitis B virions. *Hepatology*, 44(5), 1117–1121. doi:10.1002/hep.21364
498. Cacciola, I., Scoglio, R., Alibrandi, A., Squadrito, G., & Raimondo, G. (2017). Evaluation of liver enzyme levels and identification of asymptomatic liver disease patients in primary care. *Internal and Emergency Medicine*, 12(2), 181-186.
499. Woreta, T. A., & Alqahtani, S. A. (2014). Evaluation of abnormal liver tests. *Medical Clinics of North America*, 98(1), 1-16.
500. Hosseini, N., Shor, J., & Szabo, G. (2019). Alcoholic hepatitis: A review. *Alcohol and Alcoholism*, 54(4), 408-416.
501. Stravitz, R. T., & Lee, W. M. (2019). Acute liver failure. *Lancet*, 394(10201), 869-881.
502. Montrieff, T., Koyfman, A., & Long, B. (2019). Acute liver failure: A review for emergency physicians. *American Journal of Emergency Medicine*, 37(2), 329-337.
503. Jefferies, M., Rauff, B., Rashid, H., Lam, T., & Rafiq, S. (2018). Update on global epidemiology of viral hepatitis and preventive strategies. *World Journal of Clinical Cases*, 6(13), 589-599.

504. Gomes, T., Tadrous, M., Mamdani, M. M., Paterson, J. M., & Juurlink, D. N. (2018). The burden of opioid-related mortality in the United States. *JAMA Network Open*, 1(2), e180217.
505. Jefferies, M., Rauff, B., Rashid, H., Lam, T., & Rafiq, S. (2018). Update on global epidemiology of viral hepatitis and preventive strategies. *World Journal of Clinical Cases*, 6(13), 589-599.
506. European Association for the Study of the Liver. (2017). EASL Clinical Practical Guidelines on the management of acute (fulminant) liver failure. *Journal of Hepatology*, 66(5), 1047-1081.
507. Hey, P., Hanrahan, T. P., Sinclair, M., Testro, A. G., Angus, P. W., Peterson, A., Warrillow, S., Bellomo, R., Perini, M. V., Starkey, G., Jones, R. M., Fink, M., McClure, T., & Gow, P. (2019). Epidemiology and outcomes of acute liver failure in Australia. *World Journal of Hepatology*, 11(7), 586-595.
508. Schreiner, A. D., & Rockey, D. C. (2018). Evaluation of abnormal liver tests in the adult asymptomatic patient. *Current Opinion in Gastroenterology*, 34(4), 272-279.
509. Cacciola, I., Scoglio, R., Alibrandi, A., Squadrito, G., & Raimondo, G. (2017). Evaluation of liver enzyme levels and identification of asymptomatic liver disease patients in primary care. *Internal and Emergency Medicine*, 12(2), 181-186.
510. Agrawal, S., Dhiman, R. K., & Limdi, J. K. (2016). Evaluation of abnormal liver function tests. *Postgraduate Medical Journal*, 92(1086), 223-234.
511. European Association for the Study of the Liver. (2017). EASL Clinical Practical Guidelines on the management of acute (fulminant) liver failure. *Journal of Hepatology*, 66(5), 1047-1081.
512. Kwo, P. Y., Cohen, S. M., & Lim, J. K. (2017). ACG Clinical Guideline: Evaluation of abnormal liver chemistries. *American Journal of Gastroenterology*, 112(1), 18-35.
513. Kwo, P. Y., Cohen, S. M., & Lim, J. K. (2017). ACG Clinical Guideline: Evaluation of abnormal liver chemistries. *American Journal of Gastroenterology*, 112(1), 18-35.
514. Kwo, P. Y., Cohen, S. M., & Lim, J. K. (2017). ACG Clinical Guideline: Evaluation of abnormal liver chemistries. *American Journal of Gastroenterology*, 112(1), 18-35.
515. Kwo, P. Y., Cohen, S. M., & Lim, J. K. (2017). ACG Clinical Guideline: Evaluation of abnormal liver chemistries. *American Journal of Gastroenterology*, 112(1), 18-35.

516. Rockey, D. C., Caldwell, S. H., Goodman, Z. D., Nelson, R. C., & Smith, A. D. (2009). Liver biopsy. *Hepatology*, 49(3), 1017-1044.
517. Whalley, S. A., Murray, J. M., Brown, D., et al. (2001). Kinetics of acute hepatitis B virus infection in humans. *Journal of Experimental Medicine*, 193, 847–854.
518. Chulanov, V. P., Shipulin, G. A., Schaefer, S., et al. (2000). Kinetics of HBV DNA and HBsAg in acute hepatitis B patients with and without coinfection by other hepatitis viruses. *Journal of Medical Virology*, 69, 313–323.
519. Gerlich, W., & Stamm, B. (2017). Prognostic significance of quantitative HBsAg determination in acute hepatitis B. Partial report of a cooperative clinical study of the DFG-focus of “virus hepatitis.” *Verhandlungen der Deutschen Gesellschaft für Innere Medizin*, 83, 554–557.
520. Maruyama, T., McLauchlan, A., Lino, S., et al. (1993). The serology of chronic hepatitis infection revisited. *Journal of Clinical Investigation*, 91, 2586–2595.
521. Gerlich, W. H., Uy, A., Lambrecht, F., et al. (1986). Cutoff levels of immunoglobulin M antibody against viral core antigen for differentiation of acute, chronic, and past hepatitis B virus infections. *Journal of Clinical Microbiology*, 24, 288–293.
522. Garfein, R. S., Bower, W. A., Loney, C. M., et al. (2004). Factors associated with fulminant liver failure during an outbreak among injection drug users with acute hepatitis B. *Hepatology*, 40, 865–872.
523. Wilson, T. R. (2005). Τα αλφάβητα της ηπατίτιδας. *Νοσηλευτική Pract*, 30(6), 12-21, κούιζ 22-3.
524. Kusakabe, A., Tanaka, Y., Mochida, S., et al. (2009). Case-control study for the identification of virological factors associated with fulminant hepatitis B. *Hepatology Research*, 39, 648–657.
525. Ichai, P., Legeai, C., Francoz, C., et al. (2015). Patients with acute liver failure listed for superurgent liver transplantation in France: Reevaluation of the Clichy-Villejuif criteria. *Liver Transplantation*, 21(4), 512–523. doi:10.1002/lt.24092
526. Oketani, M., Ido, A., Nakayama, N., et al. (2013). Etiology and prognosis of fulminant hepatitis and late-onset hepatic failure in Japan: Summary of the annual nationwide survey between 2004 and 2009. *Hepatology Research*, 43(2), 97–105. doi:10.1111/j.1872-034X.2012.01105.x
527. Oketani, M., Ido, A., & Tsubouchi, H. (2011). Changing etiologies and outcomes of acute liver failure: A perspective from Japan. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 26(Suppl 1), 65–71. doi:10.1111/j.1440-1746.2010.06574.x.

528. McMahon, B. J., Alward, W. L., Hall, D. B., et al. (1985). Acute hepatitis B virus infection: Relation of age to the clinical expression of disease and subsequent development of the carrier state. *Journal of Infectious Diseases*, 151(4), 599–603. doi:10.1093/infdis/151.4.599.
529. Garfein, R. S., Bower, W. A., Loney, C. M., et al. (2004). Factors associated with fulminant liver failure during an outbreak among injection drug users with acute hepatitis B. *Hepatology*, 40, 865–872.
530. Wai, C. T., Fontana, R. J., Polson, J., et al. (2005). Clinical outcome and virological characteristics of hepatitis B-related acute liver failure in the United States. *Journal of Viral Hepatitis*, 12, 192–198.
531. Polson, J., & Lee, W. M. (2005). AASLD position paper: The management of acute liver failure. *Hepatology*, 41(5), 1179–1197. doi:10.1002/hep.20703.
532. Sandalova, E., Laccabue, D., Boni, C., et al. (2012). Increased levels of arginase in patients with acute hepatitis B suppress antiviral T cells. *Gastroenterology*, 143(1), 78–87 e3. doi:10.1053/j.gastro.2012.03.041.
533. Rivero, M., Crespo, J., Fabrega, E., et al. (2002). Apoptosis mediated by the Fas system in the fulminant hepatitis by hepatitis B virus. *Journal of Viral Hepatitis*, 9(2), 107–113. doi:10.1046/j.1365-2893.2002.00338.x.
534. Lettau, L. A., McCarthy, J. G., Smith, M. H., et al. (1987). Outbreak of severe hepatitis due to delta and hepatitis B viruses in parenteral drug abusers and their contacts. *New England Journal of Medicine*, 317(20), 1256–1262. doi:10.1056/NEJM198711123172004.
535. Wendon, J., Auzinger, G., Dhawan, A., & Jalan, R. (2010). Acute liver failure. *Lancet*, 376(9736), 190–201. doi:10.1016/S0140-6736(10)60274-5.
536. World Health Organization. (2017). Global Hepatitis Report 2017. Geneva, Switzerland.
537. Polaris Observatory Collaborators. (2018). Global prevalence, treatment, and prevention of hepatitis B virus infection in 2016: A modelling study. *The Lancet Gastroenterology & Hepatology*, 3, 383–403.
538. Schweitzer, A., Horn, J., Mikolajczyk, R. T., Krause, G., & Ott, J. J. (2015). Estimations of worldwide prevalence of chronic hepatitis B virus infection: A systematic review of data published between 1965 and 2013. *The Lancet*, 386, 1546–1555. doi:10.1016/S0140-6736(15)61412-X.
539. Lemoine, M., Nayagam, S., & Thursz, M. (2013). Viral hepatitis in resource-limited countries and access to antiviral therapies: Current and future challenges. *Future Virology*, 8, 371–380. doi:10.2217/fvl.13.11.

540. Zhu, D., Guo, N., Wang, J., et al. (2018). Socioeconomic inequality in hepatitis B vaccination of rural adults in China. *Human Vaccines & Immunotherapeutics*, 14, 464–470. doi:10.1080/21645515.2017.1396401.
541. Morisco, F., Stroffolini, T., Lombardo, F. L., et al. (2017). Prevalence of and risk factors for HBV infection in a metropolitan southern Italian area: Evidence for the effectiveness of universal hepatitis B vaccination. *Digestive and Liver Disease*, 49, 1257–1261. doi:10.1016/j.dld.2017.06.002.
542. Childs, L., Adrien, P., Minta, A. A., et al. (2019). Prevalence of chronic hepatitis B virus infection among children in Haiti, 2017. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 101, 214–219. doi:10.4269/ajtmh.19-0117.
543. Witt M.D., Lewis R.J., Rieg G., Seaberg E.C., Rinaldo C.R., Thio C.L. Predictors of the isolated hepatitis B core antibody pattern in HIV-infected and -uninfected men in the Multicenter AIDS Cohort Study. *Clin. Infect. Dis.* 2013; 56:606–612.
544. Arends P., Sonneveld M.J., Zoutendijk R., Carey I., Brown A., Fasano M., Mutimer D., Deterding K., Reijnders J.G., Oo Y., et al. Entecavir treatment does not eliminate the risk of hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis B: Limited role for risk scores in Caucasians. *Gut*. 2015; 64:1289–1295. doi: 10.1136/gutjnl-2014-307023.
545. Harris A.M., Link-Gelles R., Kim K., Chandrasekar E., Wang S., Bannister N., Pong P., Chak E., Chen M.S., Jr., Bowlus C., et al. Community-based services to improve testing and linkage to care among non-U.S.-born persons with chronic hepatitis B virus infection - Three U.S. programs, October 2014–September 2017. *MMWR Morb. Mortal Wkly. Rep.* 2018; 67:541–546. doi: 10.15585/mmwr.mm6719a2.
546. Yuen M.F., Chen D.S., Dusheiko G.M., Janssen H.L.A., Lau D.T.Y., Locarnini S.A., et al. Hepatitis B virus infection. *Nat Rev Dis Prim.* 2018; 4:18035. doi: 10.1038/nrdp.2018.35.
547. Papatheodoridis G.V., Sypsa V., Dalekos G., Yurdaydin C., van Boemmel F., Buti M., et al. Eight-year survival in chronic hepatitis B patients under long-term entecavir or tenofovir therapy is similar to the general population. *J Hepatol.* 2018; 68:1129–1136. doi: 10.1016/j.jhep.2018.01.031.
548. Toy M., Hutton D., Harris A.M., Nelson N., Salomon J.A., So S. Cost-effectiveness of one-time universal screening for chronic hepatitis B infection in adults in the United States. *Clin Infect Dis.* 2021. doi: 10.1093/cid/ciab405.
549. Ho E., Michielsen P., Van Damme P., Ieven M., Veldhuijzen I., Vanwolleghem T. Point-of-care tests for hepatitis B are associated with a higher linkage to care and lower cost compared to venepuncture sampling during outreach screenings in an Asian migrant population. *Ann Glob Health.* 2020; 86:81. doi: 10.5334/aogh.2848.

550. Lampertico P., Agarwal K., Berg T., Buti M., Janssen H.L.A., Papatheodoridis G., et al. EASL 2017 Clinical Practice Guidelines on the management of hepatitis B virus infection. *J Hepatol.* 2017; 67:370–398. doi: 10.1016/j.jhep.2017.03.021.
551. Vanwolleghem T., Groothuisink Z.M.A., Kreeft K., Hung M., Novikov N., Boonstra A. Hepatitis B core-specific memory B cell responses associate with clinical parameters in patients with chronic HBV. *J Hepatol.* 2020; 73:52–61. doi: 10.1016/j.jhep.2020.01.
552. Vanwolleghem T., Hou J., van Oord G., Andeweg A.C., Osterhaus A.D.M.E., Pas S.D., et al. Re-evaluation of hepatitis B virus clinical phases by systems biology identifies unappreciated roles for the innate immune response and B cells. *Hepatology (Baltimore, Md).* 2015; 62:87–100. doi: 10.1002/hep.27805.
553. Asselah T., Loureiro D., Boyer N., Mansouri A. Targets and future direct-acting antiviral approaches to achieve hepatitis B virus cure. *The Lancet Gastroenterol Hepatol.* 2019; 4:883–892. doi: 10.1016/s2468-1253(19)30190-6.
554. Chemin I., Guillaud O., Queyron P.C., Treppe C. The close monitoring of serum HBV DNA levels and liver enzyme levels is more useful in managing patients with latent HBV infection. *J Hepatol.* 2009; 51:824–825. doi: 10.1016/j.jhep.2009.06.007.
555. Saitta C., Musolino C., Marabello G., Martino D., Leonardi M.S., Pollicino T., Altavilla G., Raimondo G. Risk of reactivation of latent hepatitis B infection in patients with solid tumors undergoing chemotherapy. *Dig Liver Dis.* 2013; 45:683–686. doi: 10.1016/j.dld.2013.01.022.
556. Candotti D., Assennato S.M., Laperche S., Allain J.P., Levicnik-Stezinar S. Multiple transfusion transmissions of HBV from undetected latent infections: Revisiting the minimum infectious dose. *Gut.* 2019; 68:313–321. doi: 10.1136/gutjnl-2018-316490.
557. Mulrooney-Cousins P.M., Michalak T.I. Asymptomatic persistence of hepadnaviral infection and its consequences in the woodchuck model of latent hepatitis B infection. *J Clin Transl Hepatol.* 2015; 3:211–219. doi: 10.14218/JCTH.2015.00020.
558. Rehermann B., Ferrari C., Pasquinelli C., Chisari F.V. The hepatitis B virus persists for decades after patients' recovery from acute viral hepatitis despite active maintenance of a cytotoxic T-lymphocyte response. *Nat Med.* 1996; 2:1104–1108. doi: 10.1038/nm1096-1104.
559. Penna A., Artini M., Cavalli A., Levrero M., Bertoletti A., Pilli M., Chisari F.V., Rehermann B., Del Prete G., Fiaccadori F., et al. Long-lasting memory T cell responses after self-limiting acute hepatitis B. *J Clin Invest.* 1996; 98:1185–1194. doi: 10.1172/JCI118902.

560. Zerbini A., Pilli M., Boni C., Fisicaro P., Penna A., Di Vincenzo P., Giuberti T., Orlandini A., Raffa G., Pollicino T., et al. The characteristics of the cellular immune response define different profiles of latent hepatitis B virus infection. *Gastroenterology*. 2008; 134:1470–1481. doi: 10.1053/j.gastro.2008.02.017.
561. Korba B.E., Wells F.V., Baldwin B., Cote P.J., Tennant P.H., Popper H., Gerin J.L. Hepatocellular carcinoma in woodchuck hepatitis virus-infected woodchucks: Presence of viral DNA in tumor tissue from chronic carriers and serologically recovered animals. *Hepatology*. 1989; 9:461–470. doi: 10.1002/hep.1840090321.
562. Korba B.E., Wells F.V., Baldwin B., Cote P.J., Tennant B.C., Popper H., Gerin J.L. Hepatocellular carcinoma in woodchuck hepatitis virus-infected woodchucks: Presence of viral DNA in tumor tissue from chronic carriers and animals serologically recovered from acute infections. *Hepatology*. 1989;9:461–470. doi: 10.1002/hep.1840090321
563. Yamamoto K., Horikita M., Tsuda F., Itoh K., Akahane Y., Yotsumoto S., Okamoto H., Miyakawa Y., Mayumi M. Naturally occurring escape mutations of hepatitis B virus with various mutations in the S gene in seropositive carriers for hepatitis B surface antibody. *J. Virol.* 1994;68:2671–2676. DOI: 10.1128/JVI.68.4.2671-2676.1994.
564. Hou J., Karayiannis P., Waters J., Luo K., Liang C., Thomas H.C. A unique insertion in the S gene of surface antigen-negative hepatitis B virus carriers. *Hepatology*. 1995;21:273–278. DOI: 10.1016/0270-9139(95)90080-2.
565. Carman W.F., Van Deursen F.J., Mimms L.T., Hardie D., Coppola R., Decker R., Sanders R. The prevalence of hepatitis B virus surface antigen variants in Papua New Guinea, South Africa, and Sardinia. *Hepatology*. 1997;26:1658–1666. doi: 10.1002/hep.510260640.
566. Zhang L., Chang L., Laperche S., Ji H., Zhao J., Jiang X., Wang L., Candotti D. Occult HBV infection in Chinese blood donors: Role of N-glycosylation mutations and amino acid substitutions in S protein transmembrane domains. *Emerg. Microbes Infect.* 2019;8:1337–1346. doi: 10.1080/22221751.2019.1663130.
567. Pollicino T., Raffa G., Costantino L., Lisa A., Campello C., Squadrito G., Levrero M., Raimondo G. Molecular and functional analysis of occult hepatitis B virus isolates from patients with hepatocellular carcinoma. *Hepatology*. 2007;45:277–285. doi: 10.1002/hep.21529.
568. Chazouilleres O., Mamish D., Kim M., Carey K., Ferrell L., Roberts J.P., Ascher N.L., Wright T.L. “Occult” hepatitis B virus as a source of infection in liver transplant recipients. *Lancet*. 1994;343:142–146. doi: 10.1016/S0140-6736(94)90934-2.

569. Loomba R., Liang T.J. Hepatitis B reactivation associated with immune suppressive and biological modifier therapies: Current concepts, management strategies, and future directions. *Gastroenterology*. 2017;152:1297–1309. doi: 10.1053/j.gastro.2017.02.009.
570. Chaudhuri V., Tayal R., Nayak B., Acharya S.K., Panda S.K. Occult hepatitis B virus infection in chronic liver disease: Full-length genome and analysis of mutant surface promoter. *Gastroenterology*. 2004;127:1356–1371. doi: 10.1053/j.gastro.2004.08.003.
571. Wong D.K., Huang F.Y., Lai C.L., Poon R.T., Seto W.K., Fung J., Hung I.F.N., Yuen M.F. Occult hepatitis B infection and HBV replicative activity in patients with cryptogenic cause of hepatocellular carcinoma. *Hepatology*. 2011;54:829–836. doi: 10.1002/hep.24551.
572. Vivekanandan P., Kannangai R., Ray S.C., Thomas D.L., Torbenson M. Comprehensive genetic and epigenetic analysis of occult hepatitis B from liver tissue samples. *Clin. Infect. Dis.* 2008;46:1227–1236. doi: 10.1086/529437.
573. Guo Y., Li Y., Mu S., Zhang J., Yan Z. Evidence that methylation of hepatitis B virus covalently closed circular DNA in liver tissues of patients with chronic hepatitis B modulates HBV replication. *J. Med. Virol.* 2009;81:1177–1183. doi: 10.1002/jmv.21525.
574. Hong X., Kim E.S., Guo H. Epigenetic regulation of hepatitis B virus covalently closed circular DNA: Implications for epigenetic therapy against chronic hepatitis B. *Hepatology*. 2017;66:2066–2077. doi: 10.1002/hep.29479.
575. Bock C.T., Schwinn S., Locarnini S., Fyfe J., Manns M.P., Trautwein C., Zentgraf H. Structural organization of the hepatitis B virus minichromosome. *J. Mol. Biol.* 2001;307:183–196. doi: 10.1006/jmbi.2000.4481.
576. Pollicino T., Belloni L., Raffa G., Pediconi N., Squadrito G., Raimondo G., Levrero M. Hepatitis B virus replication is regulated by the acetylation status of hepatitis B virus cccDNA-bound H3 and H4 histones. *Gastroenterology*. 2006;130:823–837. doi: 10.1053/j.gastro.2006.01.001. Penna A., Artini M., Cavalli A., Levrero M., Bertoletti A., Pilli M., Chisari F.V., Rehermann B., Del Prete G., Fiaccadori F., et al. Long-lasting memory T cell responses following self-limited acute hepatitis B. *J. Clin. Investig.* 1996;98:1185–1194. doi: 10.1172/JCI118902.
577. Rehermann B., Ferrari G., Pasquinelli G., Chisari F.V. The hepatitis B virus persists for decades after recovery from acute viral hepatitis despite the active maintenance of a cytotoxic T lymphocyte response. *Nat. Med.* 1996;2:1104–1108. doi: 10.1038/NM1096-1104.

578. Bes M., Vargas V., Piron M., Casamitjana N., Esteban J.I., Vilanova N., Pinacho A., Quer J., Puig L., Guardia J., et al. T cell responses and viral variability in blood donation candidates with occult hepatitis B infection. *J. Hepatol.* 2012;56:765–774. doi: 10.1016/j.jhep.2011.11.011.
579. Zerbini A., Pilli M., Boni C., Fiscaro P., Penna A., Di Vincenzo P., Giuberti T., Orlandini A., Raffa G., Pollicino T., et al. The characteristics of the cell-mediated immune response identify different profiles of occult hepatitis B virus infection. *Gastroenterology.* 2008;134:1470–1481. doi: 10.1053/j.gastro.2008.02.017.
580. Zerbini A., Pilli M., Boni C., Fiscaro P., Penna A., Di Vincenzo P., Giuberti T., Orlandini A., Raffa G., Pollicino T., et al. The characteristics of the cell-mediated immune response identify different profiles of occult hepatitis B virus infection. *Gastroenterology.* 2008;134:1470–1481. doi: 10.1053/j.gastro.2008.02.017.
581. Korba B.E., Wells F.V., Baldwin B., Cote P.J., Tennant B.C., Popper H., Gerin J.L. Hepatocellular carcinoma in woodchuck hepatitis virus-infected woodchucks: Presence of viral DNA in tumor tissue from chronic carriers and animals serologically recovered from acute infections. *Hepatology.* 1989;9:461–470. doi: 10.1002/hep.1840090321.
582. Michalak T.I., Pardoe I.U., Coffin C.S., Churchill N.D., Freake D.S., Smith P., Trelegan C.L. Occult lifelong persistence of infectious hepadnavirus and residual liver inflammation in woodchucks convalescent from acute viral hepatitis. *Hepatology.* 1999;29:928–938. doi: 10.1002/hep.510290329.
583. Raimondo G., Allain J.P., Brunetto M.R., Buendia M.A., Chen D.S., Colombo M., Craxì A., Donato F., Ferrari C., Gaeta G.B., et al. Statements from the Taormina expert meeting on occult hepatitis B virus infection. *J. Hepatol.* 2008;49:652–657
584. Raimondo G., Locarnini S., Pollicino T., Levrero M., Zoulim F., Lok A.S., Taormina Workshop on Occult HBV Infection Faculty Members. Update of the statements on biology and clinical impact of occult hepatitis B virus infection. *J. Hepatol.* 2019;71:397–408. doi: 10.1016/j.jhep.2019.03.034.
585. Raimondo G., Locarnini S., Pollicino T., Levrero M., Zoulim F., Lok A.S., Taormina Workshop on Occult HBV Infection Faculty Members. Update of the statements on biology and clinical impact of occult hepatitis B virus infection. *J. Hepatol.* 2019;71:397–408. doi: 10.1016/j.jhep.2019.03.034.
586. Candotti D., Laperche S. Hepatitis B virus blood screening: Need for reappraisal of blood safety measures? *Front. Med.* 2018;5:29. doi: 10.3389/fmed.2018.00029.
587. Kazemi-Shirazi L., Petermann D., Muller C. Hepatitis B virus DNA in sera and liver tissue of HBsAg negative patients with chronic hepatitis C. *J. Hepatol.* 2000;33:785–790. doi: 10.1016/S0168-8278(00)80311-6.

588. Raimondo G., Caccamo G., Filomia R., Pollicino T. Occult HBV infection. *Semin. Immunopathol.* 2013;35:39–52. doi: 10.1007/s00281-012-0327-7.
589. Ji D.Z., Pang X.Y., Shen D.T., Liu S.N., Goyal H., Xu H.G. Global prevalence of occult hepatitis B: A systematic review and meta-analysis. *J. Viral. Hepat.* 2022;29:317–329. doi: 10.1111/jvh.13660.
590. Torbenson M., Thomas D.L. Occult hepatitis B. *Lancet Infect. Dis.* 2002;2:479–486. doi: 10.1016/S1473-3099(02)00345-6.
591. Torbenson M., Kannangai R., Astemborski J., Strathdee S.A., Vlahov D., Thomas D.L. High prevalence of occult hepatitis B in Baltimore injection drug users. *Hepatology.* 2004;39:51–57. doi: 10.1002/hep.20025.
592. Kao J.H., Chen P.J., Lai M.Y., Chen D.S. Occult hepatitis B virus infection and clinical outcomes of patients with chronic hepatitis C. *J. Clin. Microbiol.* 2002;40:4068–4071. doi: 10.1128/JCM.40.11.4068-4071.2002.
593. Gupta S., Singh S. Occult hepatitis B virus infection in ART-naïve HIV infected patients seen at a tertiary care centre in north India. *BMC Infect. Dis.* 2010;10:53. doi: 10.1186/1471-2334-10-53.
594. Bell T.G., Makondo E., Martinson N.A., Kramvis A. Hepatitis B virus infection in human immunodeficiency virus infected southern African adults: Occult or overt—that is the question. *PLoS ONE.* 2012; Mudawi
595. Di Stefano M., Volpe A., Stallone G., Tartaglia L., Prato R., Martinelli D., Pastore G., Gesualdo L., Fiore J.R. Occult HBV infection in hemodialysis setting is marked by presence of isolated antibodies to HBcAg and HCV. *J. Nephrol.* 2009;22:381–386.
596. Di Stefano M., Volpe A., Stallone G., Tartaglia L., Prato R., Martinelli D., Pastore G., Gesualdo L., Fiore J.R. Occult HBV infection in hemodialysis setting is marked by presence of isolated antibodies to HBcAg and HCV. *J. Nephrol.* 2009;22:381–386.
597. Chan H.L., Tsang S.W., Leung N.W., Tse C.H., Hui Y., Tam J.S., Chan F.K., Sung J.J. Occult HBV infection in cryptogenic liver cirrhosis in an area with high prevalence of HBV infection. *Am. J. Gastroenterol.* 2002;97:1211–1215. doi: 10.1111/j.1572-0241.2002.05706.x.
598. Ghisetti V., Marzano A., Zamboni F., Barbui A., Franchello A., Gaia S., Marchiaro G., Salizzoni M., Rizzetto M. Occult hepatitis B virus infection in HBsAg negative patients undergoing liver transplantation: Clinical significance. *Liver Transpl.* 2004;10:356–362. doi: 10.1002/lt.20093.

599. Saitta C., Caruso A., Maimone S., Filomia R., Cacciola I., Caccamo G., Franzè M.S., Pitrone C., Alibrandi A., Gaeta M., et al. Antibody to hepatitis B virus core antigen positivity is a predictor of non-alcoholic fatty liver disease severity. *Intern. Emerg. Med.* 2022. doi: 10.1007/s11739-022-02971-5. [In press].
600. Raimondo G., Saitta C., Lombardo D., Giraudi P.J., Rosso N., Ieni A., Lazzara S., Palmisano S., Bonazza D., Alibrandi A., et al. Occult hepatitis B virus infection predicts non-alcoholic steatohepatitis in severely obese individuals from Italy. *Liver Int.* 2020;40:1601–1609. doi: 10.1111/liv.14473.
601. Raimondo G., Navarra G., Mondello S., Costantino L., Colloredo G., Cucinotta E., Di Vita G., Scisca C., Squadrito G., Pollicino T. Occult hepatitis B virus in liver tissue of individuals without hepatic disease. *J. Hepatol.* 2008;48:743–746. doi: 10.1016/j.jhep.2008.01.023.
602. Hollinger F.B., Sood G. Occult hepatitis B virus infection: A covert operation. *J. Viral. Hepat.* 2010;17:1–15. doi: 10.1111/j.1365-2893.2009.01245.x.
603. Stramer S.L., Wend U., Candotti D., Foster G.A., Hollinger F.B., Dodd R.Y., Allain J.P., Gerlich W. Nucleic acid testing to detect HBV infection in blood donors. *N. Engl. J. Med.* 2011;364:236–247. doi: 10.1056/NEJMoa1007644.
604. Allain J.P., Cox L. Challenges in hepatitis B detection among blood donors. *Curr. Opin. Hematol.* 2011;18:461–466. doi: 10.1097/MOH.0b013e32834bac10.
605. Allain J.P., Cox L. Challenges in hepatitis B detection among blood donors. *Curr. Opin. Hematol.* 2011;18:461–466. doi: 10.1097/MOH.0b013e32834bac10.
606. Allain J.P., Mihaljevic I., Gonzalez-Fraile M.I., Gubbe K., Holm-Harritshoj L., Garcia J.M., Brojer E., Erikstrup C., Saniewski M., Wernish L., et al. Infectivity of blood products from donors with occult hepatitis B virus infection. *Transfusion.* 2013;53:1405–1415. doi: 10.1111/trf.12096.
607. Candotti D., Assennato S.M., Laperche S., Allain J.P., Levicnik-Stezinar S. Multiple HBV transfusion transmissions from undetected occult infections: Revising the minimal infectious dose. *Gut.* 2019;68:313–321. doi: 10.1136/gutjnl-2018-316490.
608. Cholongitas, E., Papatheodoridis, G. V., & Burroughs, A. K. (2010). Liver grafts from anti-hepatitis B core positive donors: A systematic review. *Journal of Hepatology*, 52(2), 272–279. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2009.11.009>
609. Cheung, C. K., Lo, C. M., Man, K., & Lau, G. K. (2010). Occult hepatitis B virus infection of donor and recipient origin after liver transplantation despite nucleoside analogue prophylaxis. *Liver Transplantation*, 16(12), 1314–1323. <https://doi.org/10.1002/lt.22169>

610. Coffin, C. S., Mulrooney-Cousins, P. M., van Marle, G., Roberts, J. P., Michalak, T. I., & Terrault, N. A. (2011). Hepatitis B virus quasispecies in hepatic and extrahepatic viral reservoirs in liver transplant recipients on prophylactic therapy. *Liver Transplantation*, 17(8), 955–962. <https://doi.org/10.1002/lt.22312>
611. Cheung, C. K., Lo, C. M., Man, K., & Lau, G. K. (2010). Occult hepatitis B virus infection of donor and recipient origin after liver transplantation despite nucleoside analogue prophylaxis. *Liver Transplantation*, 16(12), 1314–1323. <https://doi.org/10.1002/lt.22169>
612. Coffin, C. S., Mulrooney-Cousins, P. M., van Marle, G., Roberts, J. P., Michalak, T. I., & Terrault, N. A. (2011). Hepatitis B virus quasispecies in hepatic and extrahepatic viral reservoirs in liver transplant recipients on prophylactic therapy. *Liver Transplantation*, 17(8), 955–962. <https://doi.org/10.1002/lt.22312>
613. Roche, B., Feray, C., Gigou, M., Roque-Afonso, A. M., Arulnaden, J. L., Delvart, V., Dussaix, E., Guettier, C., Bismuth, H., & Samuel, D. (2003). HBV DNA persistence 10 years after liver transplantation despite successful anti-HBs passive immunoprophylaxis. *Hepatology*, 38(1), 86–95.
614. Hussain, M., Soldevila-Pico, C., Emre, S., Luketic, V., Lok, A. S., & NIH HBV-OLT Study Group. (2007). Presence of intrahepatic (total and ccc) HBV DNA is not predictive of HBV recurrence after liver transplantation. *Liver Transplantation*, 13(8), 1137–1144. <https://doi.org/10.1002/lt.21179>
615. Toniutto, P., Minisini, R., Fabris, C., De Feo, T., Marangoni, F., Burlone, M., Avellini, C., Bitetto, D., Fornasiere, E., Fumolo, E., et al. (2009). Occult hepatitis B virus infection in liver transplant recipients with recurrent hepatitis C: Relationship with donor age and fibrosis progression. *Clinical Transplantation*, 23(2), 184–190. <https://doi.org/10.1111/j.1399-0012.2009.00964.x>
616. Kusumoto, S., Tanaka, Y., Mizokami, M., & Ueda, R. (2009). Reactivation of hepatitis B virus following systemic chemotherapy for malignant lymphoma. *International Journal of Hematology*, 90(1), 13–23. <https://doi.org/10.1007/s12185-009-0359-5>
617. Raimondo, G., Locarnini, S., Pollicino, T., Levrero, M., Zoulim, F., Lok, A. S., & Taormina Workshop on Occult HBV Infection Faculty Members. (2019). Update of the statements on biology and clinical impact of occult hepatitis B virus infection. *Journal of Hepatology*, 71(2), 397–408.
618. Pei, S. N., Chen, C. H., Lee, C. M., Wang, M. C., Ma, M. C., Hu, T. H., & Kuo, C. Y. (2010). Reactivation of hepatitis B virus following rituximab-based regimens: A serious complication in both HBsAg-positive and HBsAg-negative patients. *Annals of Hematology*, 89(3), 255–262. <https://doi.org/10.1007/s00277-009-0806-7>

619. Hsu, C., Tsou, H. H., Lin, S. J., Wang, M. C., Yao, M., Hwang, W. L., Kao, W. Y., Chiu, C. F., Lin, S. F., Lin, J., et al. (2014). Chemotherapy-induced hepatitis B reactivation in lymphoma patients with resolved HBV infection: A prospective study. *Hepatology*, 59(6), 2092–2100. <https://doi.org/10.1002/hep.26718>
620. Yeo, W., Chan, T. C., Leung, N. W., Lam, W. Y., Mo, F. K., Chu, M. T., Chan, H. L., Hui, E. P., Lei, K. I., Mok, T. S., et al. (2009). Hepatitis B virus reactivation in lymphoma patients with prior resolved hepatitis B undergoing anticancer therapy with or without rituximab. *Journal of Clinical Oncology*, 27(5), 605–611. <https://doi.org/10.1200/JCO.2008.18.0182>
621. Pauly, M. P., Tucker, L. Y., Szpakowski, J. L., Ready, J. B., Baer, D., Hwang, J., & Lok, A. S. (2018). Incidence of hepatitis B virus reactivation and hepatotoxicity in patients receiving long-term treatment with tumor necrosis factor antagonists. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 16(12), 1964–1973. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2018.04.033>
622. Mucke, M. M., Backus, L. I., Mucke, V. T., Coppola, N., Preda, C. M., Yeh, M. L., Tang, L. S., Belperio, P. S., Wilson, E. M., Yu, M. L., et al. (2018). Hepatitis B virus reactivation during direct-acting antiviral therapy for hepatitis C: A systematic review and meta-analysis. *Lancet Gastroenterology & Hepatology*, 3(3), 172–180. [https://doi.org/10.1016/S2468-1253\(18\)30002-5](https://doi.org/10.1016/S2468-1253(18)30002-5)
623. Tamori, A., Abiru, S., Enomoto, H., Kioka, K., Korenaga, M., Tani, J., Enomoto, M., Sugiyama, M., Masaki, T., Kawada, N., et al. (2018). Low incidence of hepatitis B virus reactivation and subsequent hepatitis in patients with chronic hepatitis C receiving direct-acting antiviral therapy. *Journal of Viral Hepatitis*, 25(6), 608–611. <https://doi.org/10.1111/jvh.12840>
624. Soriano, V., Aguilera, A., Gonzalez, R., Gomez-Gallego, F., Barea, L., Treviño, M., & Corral, O. (2019). Occult hepatitis B and HIV infection. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology*, 31(12), 1403–1407. <https://doi.org/10.1097/MEG.0000000000001417>
625. Onozawa, M., Hashino, S., Izumiyama, K., Kahata, K., Chuma, M., Mori, A., Kondo, T., Toyoshima, N., Ota, S., Kobayashi, S., et al. (2005). Progressive disappearance of anti-hepatitis B surface antigen antibody and reverse seroconversion after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in patients with previous hepatitis B virus infection. *Transplantation*, 79(5), 616–619. <https://doi.org/10.1097/01.TP.0000151661.52601.FB>
626. Bloquel B., Jeulin H., Burty C., Letranchant L., Rabaud C., Venard V. Occult hepatitis B infection in patients infected with HIV: Report of two cases of hepatitis B reactivation and prevalence in a hospital cohort. *J. Med. Virol.* 2010;82:206–212.

627. Soriano V., Aguilera A., Gonzalez R., Gomez-Gallego F., Barea L., Treviño M., Corral O. Occult hepatitis B and HIV infection. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* 2019;31:1403–1407.
628. Cholongitas E., Haidich A.B., Apostolidou-Kiouti F., Chalevas P., Papatheodoridis G.V. Hepatitis B virus reactivation in HBsAg-negative, anti-HBc-positive patients receiving immunosuppressive therapy: A systematic review. *Ann. Gastroenterol.* 2018;31:480–490.
629. Spreafico M., Berzuini A., Foglieni B., Candotti D., Raffaele L., Guarnori I., Colli A., Maldini F.F., Allain J.P., Prati D. Poor efficacy of nucleic acid testing in identifying occult HBV infection and consequences for safety of blood supply in Italy. *J. Hepatol.* 2015;63:1068–1076.
630. European Association for the Study of the Liver EASL 2017 clinical practice guidelines on the management of hepatitis B virus infection. *J. Hepatol.* 2017;67:370–398.
631. European Association for the Study of the Liver EASL 2017 clinical practice guidelines on the management of hepatitis B virus infection. *J. Hepatol.* 2017;67:370–398.
632. Chan H.L., Wong V.W., Tse A.M., et al. Serum hepatitis B surface antigen quantitation can reflect hepatitis B virus in the liver and predict treatment response. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007;5:1462-8.
633. Tuyen T., Thompson A.J., Bowden S., et al. Hepatitis B surface antigen levels during the natural history of chronic hepatitis B: a perspective on Asia. *J Hepatol* 2010;52:508-13.
634. Thompson A.J., Nguyen T., Iser D., et al. Serum hepatitis B surface antigen and hepatitis B e antigen titers: disease phase influences correlation with viral load and intrahepatic hepatitis B virus markers. *Hepatology* 2010;51:1933-44.
635. Aaroszewicz J., Calle Serrano B., Wursthorn K., et al. Hepatitis B surface antigen (HBsAg) levels in the natural history of hepatitis B virus (HBV)-infection: a European perspective. *J Hepatol* 2010;52:514-22.
636. Trépo C., Chan H.L., Lok A. Hepatitis B virus infection. *Lancet.* 2014 Dec 06;384(9959):2053-63.
637. Hollinger F.B., Liang T.J. Hepatitis B virus. In: Knipe D.M., Howley P.M., Griffin D.E., Lamb R.A., Martin M.A., Roizman B., et al., editors. *Fields Virology*. 4. Philadelphia, PA: Lippincott-Raven Publishers; 2001. pp. 2971–3036.
638. Kang H.Y., Lee S., Park S.G., Yu J., Kim Y., Jung G. Phosphorylation of hepatitis B virus Cp at Ser87 facilitates core assembly. *Biochem J.* 2006;398:311–317.

639. Bustin S.A., Benes V., Nolan T., et al. Quantitative real-time RT-PCR--a perspective. *J Mol Endocrinol* 2005;34:597-601.
640. Lin C.L., Kao J.H. The clinical implications of hepatitis B virus genotype: Recent advances. *J Gastroenterol Hepatol* 2011;26 Suppl 1:123-30.
641. Zehender G., Ebranati E., Gabanelli E., et al. Enigmatic origin of hepatitis B virus: an ancient travelling companion or a recent encounter? *World J Gastroenterol* 2014;20:7622-34.
642. Krugman S., Overby L.R., Mushahwar I.K., Ling C.M., Frosner G.G., Deinhardt F. Viral hepatitis, type B. Studies on natural history and prevention re-examined. *N Engl J Med*. 1999;300:101–106.
643. Liang T.J., Ghany M. Hepatitis B e antigen--the dangerous endgame of hepatitis B. *N Engl J Med*. 2002;347:208–210.
644. Kobayashi M., Suzuki F., Arase Y., et al. Infection with hepatitis B virus genotype A in Tokyo, Japan during 1976 through 2001. *J Gastroenterol* 2004;39:844-50.
645. Wai C.T., Fontana R.J., Polson J., et al. Clinical outcome and virological characteristics of hepatitis B-related acute liver failure in the United States. *J Viral Hepat* 2005;12:192-8.
646. Yeo W., Johnson P.J. Diagnosis, prevention and management of hepatitis B virus reactivation during anticancer therapy. *Hepatology* 2006;43:209-20.
647. Squadrito G., Cacciola I., Alibrandi A., et al. Impact of occult hepatitis B virus infection on the outcome of chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2013;59:696-700.
648. Tabor E., Hoofnagle J.H., Barker L.F., Pineda-Tamondong G., Nath N., Smallwood L.A., et al. Antibody to hepatitis B core antigen in blood donors with a history of hepatitis. *Transfusion*. 1981;21:366–371.
649. Kuhns M.C., Busch M.P. New strategies for blood donor screening for hepatitis B virus: nucleic acid testing versus immunoassay methods. *Mol Diagn Ther*. 2006;10:77–91.
650. Loomba R., Liang T.J. Treatment of chronic hepatitis B. *Antivir Ther*. 2007;12(Suppl 3)
651. McMahon B.J., Alward W.L., Hall D.B., Heyward W.L., Bender T.R., Francis D.P., et al. Acute hepatitis B virus infection: relation of age to the clinical expression of disease and subsequent development of the carrier state. *J Infect Dis*. 1985;151:599–603.
652. Barker L.F., Murray R. Relationship of virus dose to incubation time of clinical hepatitis and time of appearance of hepatitis-associated antigen. *Am J Med Sci*. 1972;263:27–33.

653. Berk P.D., Popper H. Fulminant hepatic failure. *Am J Gastroenterol.* 1978;69:349–400.
654. Hoofnagle J.H., Carithers R.L., Jr, Shapiro C., Ascher N. Fulminant hepatic failure: summary of a workshop. *Hepatology.* 1995;21:240–252.
655. Guidotti L.G., Chisari F.V. Immunobiology and pathogenesis of viral hepatitis. *Annu Rev Pathol.* 2006;1:23–61.
656. Guidotti L.G., Matzke B., Schaller H., Chisari F.V. High-level hepatitis B virus replication in transgenic mice. *J Virol.* 1995;69:6158–69.
657. Guidotti L.G., Rochford R., Chung J., Shapiro M., Purcell R., Chisari F.V. Viral clearance without destruction of infected cells during acute HBV infection. *Science.* 1999;284:825–9.
658. Thimme R., Wieland S., Steiger C., Ghayeb J., Reimann K.A., Purcell R.H., et al. CD8(+) T cells mediate viral clearance and disease pathogenesis during acute hepatitis B virus infection. *J Virol.* 2003;77:68–76.
659. Chisari F.V., Ferrari C. Hepatitis B virus immunopathogenesis. *Annu Rev Immunol.* 1995;13:29–60.
660. Ferrari C., Missale G., Boni C., Urbani S. Immunopathogenesis of hepatitis B. *J Hepatol.* 2003;39(Suppl 1)
661. Ganem D., Prince A.M. Hepatitis B virus infection--natural history and clinical consequences. *N Engl J Med.* 2004;350:1118–29.
662. Wieland S., Thimme R., Purcell R.H., Chisari F.V. Genomic analysis of the host response to hepatitis B virus infection. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004;101:6669–74.
663. Wieland S.F., Chisari F.V. Stealth and cunning: hepatitis B and hepatitis C viruses. *J Virol.* 2005;79:9369–80.
664. Seeger C., Mason W.S. Hepatitis B virus biology. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2000;64:51–68.
665. Wieland S., Thimme R., Purcell R.H., Chisari F.V. Genomic analysis of the host response to hepatitis B virus infection. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004;101:6669–74.
666. Su A.I., Guidotti L.G., Pezacki J.P., Chisari F.V., Schultz P.G. Gene expression during the priming phase of liver regeneration after partial hepatectomy in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002;99:11181–6.
667. Squadrito G., Spinella R., Raimondo G. The clinical significance of occult HBV infection. *Ann Gastroenterol.* 2014;27:15-19.

668. Saitta C., Pollicino T., Raimondo G. Occult hepatitis B virus infection: An update. *Viruses*. 2022;14:1504.
669. de Almeida N.A.A., de Paula V.S. Occult hepatitis B virus (HBV) infection and challenges for hepatitis elimination: A literature review. *J Appl Microbiol*. 2022;132:1616-1635.
670. Kwak M.S., Kim Y.J. Occult hepatitis B virus infection. *World J Hepatol*. 2014;6:860-869.
671. Smith S.M., Tandi T.E., Cho Y., Akam A.J.-C., et al. Προσδιορισμός-μέγεθος δείγματος. Qualtrics, 2013.
672. Equity Health. 2015;14:43. doi:10.1186/s12939-015-0172-0.
673. Pollicino T., Saitta C. Occult hepatitis B virus and hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol*. 2014;20:5951-5961.
674. Brunetto M.R., Oliveri F., Colombatto P., Moriconi F., Ciccorossi P., Coco B., et al. Hepatitis B surface antigen serum levels help to distinguish active from inactive hepatitis B virus genotype D carriers. *Gastroenterology*. 2010;139:483–490. doi:10.1053/j.gastro.2010.04.052.
675. Gissa S.B., Minaye M.E., Yeshitela B., et al. Occult hepatitis B virus infection among patients with chronic liver disease of unidentified cause, Addis Ababa, Ethiopia. *Sci Rep*. 2022;12:13188.
676. Mak L.Y., Wong D.K., Pollicino T., et al. Occult hepatitis B infection and hepatocellular carcinoma: Epidemiology, virology, hepatocarcinogenesis and clinical significance.
677. Takuissu G.R., Kenmoe S., Amougou Atsama M., et al. Global epidemiology of occult hepatitis B virus infections in blood donors: A systematic review and meta-analysis. *PloS One*. 2022;17
678. Mina P., Georgiadou S.P., Rizos C., et al. Prevalence of occult hepatitis B virus infection in haemodialysis patients from central Greece. *World J Gastroenterol*. 2010;16:225-231.
679. Varaklioti A., Kouramba A., Ioannidou P., Katsarou O. Occult hepatitis B virus infection in Greek patients with congenital bleeding disorders.
680. Raptopoulou M., Papatheodoridis G., Antoniou A., Ketikoglou J., Tzourmakliotis D., Vasiliadis T., et al. Epidemiology, course and disease burden of chronic hepatitis B virus infection: HEPNET study for chronic hepatitis B: A multicentre Greek study. *J Viral Hepat*. 2009;16(3):195-202.

681. Azzam A., Khaled H., El-Kayal E.S., Gad F.A., Omar S. Prevalence of occult hepatitis B virus infection in Egypt: A systematic review with meta-analysis. *J Egypt Public Health Assoc.* 2023;98(1):13.
682. Takuissu G.R., Kenmoe S., Amougou Atsama M., Atenguena Okobalemba E., Mbaga D.S., Ebogo-Belobo J.T., et al. Global epidemiology of occult hepatitis B virus infections in blood donors: A systematic review and meta-analysis. *PloS One.* 2022;17(8)
683. Mina P., Georgiadou S.P., Rizos C., Dalekos G.N., Rigopoulou E.I. Prevalence of occult hepatitis B virus infection in haemodialysis patients from central Greece. *World J Gastroenterol.* 2010;16(2):225-231.
684. Varaklioti A., Kouramba A., Ioannidou P., Katsarou O. Occult hepatitis B virus infection in Greek patients with congenital bleeding disorders. *Infection, Genetics and Evolution.* 2017;54:397-401.
685. Georgiadou S.P., Zachou K., Liaskos C., Gabeta S., Rigopoulou E.I., Dalekos G.N. Occult hepatitis B virus infection in patients with autoimmune liver diseases. *Liver Int.* 2009;29(3):434-442.
686. Zervou E.K., Dalekos G.N., Boumba D.S., Tsianos E.V. Value of anti-HBc screening of blood donors for prevention of HBV infection: Results of a 3-year prospective study in Northwestern Greece. *Transfusion.* 2001;41(5):652-658.
687. Weber B. Genetic variability of the S gene of hepatitis B virus: Clinical and diagnostic impact. *J Clin Virol.* 2005;32(2):102-112.
688. Lu H.Y., Zeng Z., Xu X.Y., Zhang N.L., Yu M., Gong W.B. Mutations in surface and polymerase gene of chronic hepatitis B patients with coexisting HBsAg and anti-HBs. *World J Gastroenterol.* 2006;12(26):4219-4223.
689. Candotti D., Laperche S. Hepatitis B virus blood screening: Need for reappraisal of blood safety measures? *Front Med.* 2018;5:29.