

Streszczenie

Wstęp: Światowa Organizacja Zdrowia szacuje, że na świecie żyje około 170 milionów osób zakażonych wirusem zapalenia wątroby typu C (HCV). W latach 2003-2011 standardem w terapii przewlekłego zakażenia HCV (PWZWC) było skojarzenie pegylowanego interferonu alfa i rybawiryny (PegIFN/RBV). Od 2012r. stosowane są leki działające bezpośrednio na wirusa (DAA), bez lub w skojarzeniu z interferonem. U pacjentów bez marskości wątroby skuteczność terapii PegIFN/RBV sięga 40-80%, a DAA - 80-100% w zależności od genotypu HCV.

Różnorodność opcji terapeutycznych wymaga zoptymalizowania procesu kwalifikacji do leczenia. Z uwagi na znaczenie mechanizmów komórkowej odpowiedzi odpornościowej dla eliminacji wirusa i progresji choroby, ocena obrazu morfologicznego wątroby oraz wybranych elementów określających stan immunologiczny *in situ* mogą stanowić czynnik prognostyczny dla powodzenia terapii opartej na interferonie alfa.

Cel: Celem podjętych badań była ocena skuteczności pegylowanego interferonu alfa (PegIFN α) i rybawiryny (RBV) w terapii przewlekłego wirusowego zapalenia wątroby typu C u pacjentów wcześniej nieleczonych oraz określenie, czy i w jakim stopniu parametry oceniane w klasycznym badaniu histopatologicznym, takie jak włóknienie, zapalenie, stłuszczenie oraz dodatkowe cechy morfologiczne, determinują skuteczność terapii a także, czy obraz morfologiczny, poza stopniem włóknienia, powinien być uwzględniany w wyborze metody leczenia opartej na interferonie oraz czy i w jakim stopniu immunofenotypowanie komórek odpornościowych *in situ*: CD4+, CD8+, CD45RA+, oraz ocena aktywności cytotoksycznej *in situ*: perforyna+, granzymB+ pozwala prognozować skuteczność terapii. Oceniano również wpływ podstawowych cech demograficznych, epidemiologicznych i wirusologicznych na skuteczność terapii.

Metody: Retrospektywnej analizie poddano dane 462 chorych przewlekłe zakażonych HCV, leczonych w latach 2003-2007 pegylowanym interferonem alfa i rybawiryną (PegIFN/RBV) zgodnie ze wskazaniami rejestracyjnymi. Ocenę skuteczności terapii przeprowadzono dla 398 osób wcześniej nieleczonych: 267 pacjentów zakażonych genotypem 1 lub 4 HCV oraz 131 pacjentów zakażonych genotypem 2 lub 3 HCV. Obraz morfologiczny oceniano z zastosowaniem skali Scheuer (zapalenie i włóknienie) oraz Dixon (zasięg stłuszczenia). Barwienie immunohistochemiczne z identyfikacją komórek CD4+, CD8+, CD45RA+ oraz ziaren granzymu B i perforyny wykonano na 61 preparatach bioptatów wątrób pobranych od pacjentów zakażonych genotypem 1 HCV. Analizę statystyczną przeprowadzono z wykorzystaniem StatSoft w.12.

Wyniki: W badanej populacji dominowała płeć męska (60,1%), średni wiek wynosił 46 lat, średni okres zakażenia 17,8 ($\pm 9,0$; 1-42) lat. Zakażenie genotypem 1 HCV obserwowano najczęściej (65,1%), rzadziej GT3 (32,2%), GT4 (1,5%) i GT2 (0,5%). Średnia wiremia HCV RNA była wysoka (1 347 122 IU/ml; 6,13 log₁₀), u 30,8% nie przekraczała 400 000 IU/ml (5,6 log₁₀). Średnie zaawansowanie włóknienia wątroby wynosiło 2,5 wg Scheuer, u 80,5% było co najmniej umiarkowane, u 32,8% znacznie zaawansowane lub rozpoznano marskość wątroby (*staging* ≥ 3). Zaawansowanie włóknienia było istotnie wyższe u mężczyzn niż u kobiet ($p=0,0098$). Nie wykazano różnic w zakresie stopnia włóknienia w zależności od genotypu HCV

($p > 0,05$). Nieprawidłową aktywność ALT w okresie kwalifikacji do terapii stwierdzono u ponad 90% osób. Co najmniej umiarkowaną aktywność zapalną (*grading* ≥ 2) *in situ* obserwowano u 67% pacjentów. Średnia aktywność aminotransferazy alaninowej była wyższa w przypadku zakażenia GT2/GT3 HCV niż w przypadku GT1/GT4 HCV.

Trwałą skuteczność terapii (SVR) obserwowano u 50% pacjentów, którzy ukończyli obserwację (*complete case analysis*) oraz u 37,9% pacjentów, którzy podjęli terapię PegIFN/RBV (*intent-to-treat*), tj. u 45% (35,2% ITT) osób zakażonych GT1/GT4 HCV oraz u 64% (43,5% ITT) osób zakażonych GT2/GT3 HCV.

Nie obserwowano wpływu starszego wieku na SVR. W zakażeniu GT2/GT3 HCV iloraz szans (OR) powodzenia terapii był nieco wyższy dla kobiet niż dla mężczyzn ($OR_{\text{♀}} 1,358$ vs $OR_{\text{♂}} 0,736$), analogicznych różnic nie obserwowano w zakażeniu GT1/GT4 HCV.

Trwała skuteczność wirusologiczna terapii PegIFN/RBV korelowała z genotypem HCV ($R=0,2$; $p=0,0025$), różniła się istotnie w zależności od stopnia włóknienia ($p=0,0061$). Przy niewielkim zaawansowaniu włóknienia, nie obserwowano istotnych statystycznie różnic w odsetku SVR w zależności od genotypu ($p=0,4313$).

W przypadku GT2/GT3 HCV istotnie wyższy odsetek SVR obserwowano przy mniej zaawansowanym włóknieniu ($p=0,0434$). W przypadku GT1/GT4 HCV wykazano nie tylko korzystne znaczenie niewielkiego stopnia włóknienia ($p=0,0215$) dla SVR, ale również niewielkiego stopnia ($p=0,0012$) stłuszczenia oraz zależność typu stłuszczenia i SVR ($R=-0,39$), poziomu wirerii HCV RNA $>400\ 000$ IU/ml ($R=0,2$; $p=0,001$) oraz prawidłowej aktywności ALT ($p=0,032$) i GGTP ($p=0,0479$) dla SVR. Korelacja włóknienia okołokomórkowego i okołozatokowego z SVR była wyższa ($R=-0,23$) niż włóknienia wg Sheuer ($R=-0,15$). Znaczenie rokownicze włóknienia dla SVR było wyższe u osób starszych ($R_{\text{GT2/3}}=-0,32$; $R_{\text{GT1/4}}=-0,20$).

W zakażeniu GT1/GT4 HCV z powodzeniem terapii korelowała intensywność nacieków limfocytów CD45RA+ w przestrzeni wrotno-żółciowej (pwż): brak ekspresji CD45RA+ wiązał się z niższym odsetkiem SVR ($R=0,19$, $p=0,04$). Silniejszą ekspresję CD45RA w pwż obserwowano u osób z mniej zaawansowanym włóknieniem ($R=0,25$; $p=0,070$). W grupie zakażonych GT1/GT4 HCV wykazano korzystne znaczenie rokownicze braku ekspresji perforyny w pwż ($R=-0,24$; $p=0,0696$) dla SVR. U pacjentów, którzy nie uzyskali SVR, częściej obserwowano silniejszą ekspresję CD8 niż CD4 w pwż ($p=0,07$); różnica ta była istotna statystycznie w przypadku bardziej zaawansowanych zmian włóknieniowych (*staging* ≥ 2) ($p=0,0455$). Niższy stosunek CD4+:CD8+ w pwż obserwowano przy bardziej zaawansowanym włóknieniu i wyższej aktywności zapalnej.

Wnioski: Na podstawie uzyskanych wyników sformułowano 10 wniosków szczegółowych i 2 wnioski ogólne

Wnioski:

1. Trwała skuteczność wirusologiczna (SVR) terapii PegIFNalfa/RBV zależy od genotypu HCV oraz od stopnia włóknienia. Korzystne rokowniczo jest podejmowanie terapii u pacjentów z mało zaawansowanymi zmianami morfologicznymi wątroby, ponieważ w przypadku niewielkich zmian morfologicznych skuteczność terapii jest wyższa i nie zależy istotnie od genotypu HCV.
2. Wiek potencjalnie wpływa na stan immunologiczny *in situ* ale jego wartość w rokowaniu powodzenia terapii ma ograniczone znaczenie. Najwyższe odsetki SVR obserwowano u osób młodych. Nie wykazano niekorzystnego znaczenia rokowniczego wieku powyżej 60.r.ż. dla SVR. Znaczenie rokownicze włóknienia dla SVR jest wyższe u osób starszych.
3. Niezależnie od genotypu HCV, niekorzystne znaczenie zaawansowanego stopnia włóknienia jest silniejsze przy niskiej wirerii HCV RNA.
4. Płeć stanowi czynniki rokowania powodzenia terapii o ograniczonym znaczeniu.
5. Nie obserwowano wpływu cukrzycy oraz nietolerancji glikemii, zakażenia HBV oraz nadużywania alkoholu na skuteczność terapii, co może wynikać z decydującego wpływu zaawansowanego stopnia włóknienia w badanej grupie.
6. U pacjentów zakażonych genotypem 1 lub 4 HCV wartość prognostyczna włóknienia okołokomórkowego i okołozatokowego dla powodzenia terapii jest wyższa niż stopnia włóknienia wg Scheuer. Nie wykazano znaczenia rokowniczego włóknienia okołozylnego dla SVR.
7. W zakażeniu genotypem 1 lub 4 HCV skuteczność terapii zależy nie tylko od włóknienia ale również od zasięgu i typu stłuszczenia wątroby: jest niższa u pacjentów z większym zasięgiem stłuszczenia oraz z grubo- lub mieszanokropelkowym typem stłuszczenia.
8. Aktywność biochemiczna procesu (GGTP, ALT) stanowi potencjalny czynnik rokowniczy powodzenia terapii w przypadku zakażenia genotypem 1 HCV. Jej znaczenie prognostyczne należy interpretować w kontekście zmian morfologicznych w wątrobie.
9. W zakażeniu genotypem 1 lub 4 HCV, dla rokowania SVR istotna jest ekspresja CD45RA+ w przestrzeni wrotno-żółciowej.
10. Stosunek limfocytów CD4 i CD8 w przestrzeni wrotno-żółciowej może stanowić narzędzie prognostyczne dla SVR a jego potencjalne znaczenie dla rokowania postępu choroby oraz karcynogenezy w przebiegu PWZWC wymaga dalszych obserwacji.

Na podstawie przedstawionych wniosków szczegółowych sformułowano wnioski ogólne:

1. Diagnostyka inwazyjna z oceną histopatologiczną oraz immunohistochemiczną tkanki wątroby (diagnostyczna biopsja gruboigłowa wątroby) ma znaczenie dla optymalnej kwalifikacji pacjentów przewlekle zakażonych genotypem 1 HCV do terapii przeciwwirusowej opartej na interferonie.
2. Podejmowanie terapii opartej na interferonie znajduje szczególne uzasadnienie w przypadku kobiet poniżej 40.r.ż. zakażonych genotypem 3 HCV z niewielkimi zmianami morfologicznymi *in situ*. Skuteczność terapii w tej grupie pacjentów sięga 87,5%.