

MONOGRAFIE

Indywidualizacja terapii zakażeń wirusami hepatotropowymi – rola biologii molekularnej

Waldemar Halota

Katedra Chorób Zakaźnych i Hepatologii, Collegium Medicum,
Uniwersytet Mikołaja Kopernika, Bydgoszcz

Personalized therapy of hepatotropic viruses infection – the role of molecular biology

Summary

Molecular techniques have become regular in clinical practice, becoming the basic tool in diagnosing infections, analyzing their natural histories, as well as it has become a significant marker in choosing therapeutical procedures.

Correlation was shown between HBV-DNA viral load and dynamics of clinical progression of HBV infection. The appearance of HBV-DNA in patients successfully treated, precedes other markers of the loss of therapeutical control. As a result, only routine, systematic viraemia monitoring in course of therapy and analysis of mutataing HBV appearance optimize therapeutic procedures.

Results of the RNA quantitative examinations and genotypes in HCV infected are the basis for the length of therapy. They are routinely performed during the period of treatment to predict its efficiency (RVR, cEVR, pEVR, EOT and SVR).

Adres do korespondencji

Waldemar Halota,
Katedra Chorób
Zakaźnych i Hepatologii,
Collegium Medicum,
Uniwersytet Mikołaja
Kopernika,
ul. Floriana 12,
85-838 Bydgoszcz;
e-mail: w.halota@wsoz.pl

Key words:

HBV, HCV, individualized management, molecular techniques.

1. Wstęp

Obraz kliniczny choroby zakaźnej jest efektem konfrontacji wrażliwości osobniczej z chorobotwórczością patogenu. Od znajomości patomechanizmu choroby oraz właściwości biologicznych zarazka, zależy skuteczność prognozowania naturalnego

zajścia choroby, a też indywidualizowanie procesu terapeutycznego. Najbardziej spektakularnym przykładem postępu w tym zakresie są przewlekłe zakażenia wirusami HBV i HCV.

Przełomem okazało się wprowadzenie metod biologii molekularnej do praktyki klinicznej. Trudno sobie obecnie wyobrazić diagnozowanie i leczenie zakażeń wirusami hepatotropowymi bez możliwości oznaczania wirerii, genotypów i mutacji wirusów zakażających. W konsekwencji techniki molekularne, zwłaszcza metoda polimerazowej reakcji łańcuchowej (PCR) stały się podstawowym narzędziem lekarskim w wyznaczaniu metod postępowania, również w zakresie indywidualizacji kryteriów terapeutycznych i leczenia (leczenie *a' la carte*, *tailoring*).

Wcześniej decyzje lekarskie podejmowane były na podstawie wyników badań biochemicznych, serologicznych i morfologicznych wątroby, co nie pozwalało na ich „personalizowanie”. Badanie biopsji wątroby, którego wynik w istocie stanowił podstawowe kryterium diagnostyczno-terapeutyczne, straciło rangę „złotego standardu”. Jeśli wczytamy się w polskie zalecenia dotyczące leczenia chorób wywoływanych przez HBV czy HCV, to nie ma wątpliwości, że wyniki badań molekularnych posiadają decydujące znaczenie. Stały się one podstawą rozpoznania, terapii, a też prognozowania czy to historii naturalnej, co ma miejsce w zakażeniach HBV, czy przewidywania efektów terapeutycznych w obu omawianych zakażeniach.

2. Zakażenia HBV

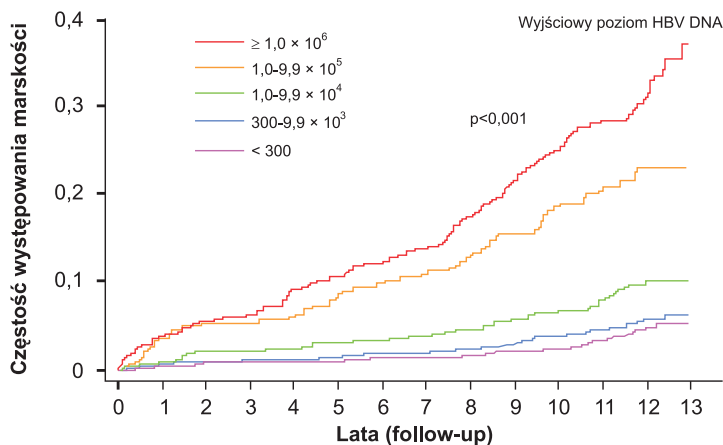
Oznaczenia HBV DNA w surowicy krwi, znakomicie pomagają w ocenie stanu chorobowego, aczkolwiek nie mają zasadniczej wartości w rozpoznawaniu tego zakażenia, gdyż znany od ponad 40. lat antygen HBs wyczerpuje te potrzeby.

Minireplikacja HBV u osób seronegatywnych w kierunku HBsAg to ważny problem kliniczny, który bez technik PCR byłby nadal nieznanym. Metody te zrewolucjonizowały prognozowanie historii naturalnej oraz kryteria terapeutyczne (1,2).

Na wykresach 1 i 2 przedstawiono korelację między wielkością wirerii a historią naturalną wirusowego zapalenia wątroby typu B.

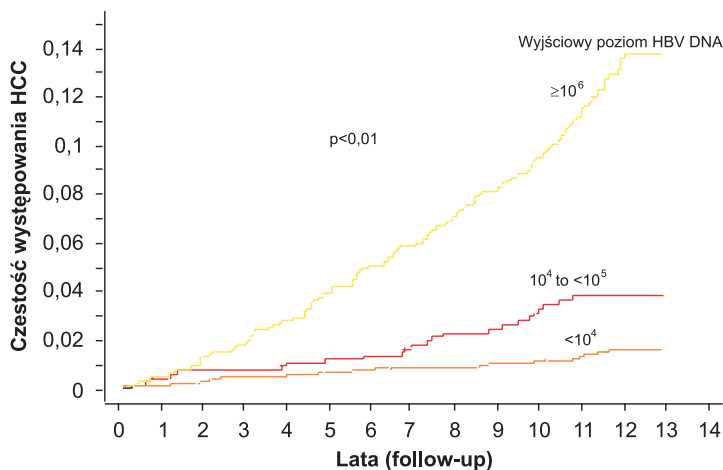
Okazało się, że częstość niekorzystnych następstw zakażenia HBV jest skorelowana z wielkością wirerii, która stanowi bezwzględne kryterium terapeutyczne (3). Znajduje to odzwierciedlenie w polskich standardach terapii (4). Leczymy chorych z HBV DNA powyżej 20 000 IU/mL, HBeAg seropozytywnych oraz HBV DNA powyżej 2000 IU/mL, HBeAg ujemnych, którzy wykazują zmiany histopatologiczne w wątrobie, niezależnie od aktywności AlAT. Badania morfologiczne wątroby są zbędne, gdy aktywność ta przekracza wartości prawidłowe.

Systematyczne monitorowanie HBV DNA jest rutynowym postępowaniem w przebiegu leczenia, o którego skuteczności przesądza niewykrywanie wirerii. Najwcześniejszym wykładnikiem pojawienia się lekooporności jest wykrycie HBV DNA u osoby wcześniej skutecznie leczonej. Wykrycie HBV DNA w przebiegu skutecznej tera-



Chen CJ et al. JAMA, January 4, 2006-Vol 295, No. 1

Rys. 1. Marskość wątroby.



Chen CJ et al. JAMA, January 4, 2006-Vol 295, No. 1

Rys. 2. Rak wątrobowokomórkowy.

pii wyprzedza tak zwany przełom biochemiczny i kliniczny, podobnie jak pojawienie się kwasów nukleinowych wirusa HBV po zakończeniu leczenia jest pierwszym wykładnikiem nawrotu choroby (5,6).

W przypadku lekooporności dalsze decyzje terapeutyczne bez diagnozowania rodzaju mutacji mogą być nietrafne.

3. Zakażenia HCV

Techniki molekularne odegrały podstawową rolę w odkryciu czynnika etiologicznego choroby nazywanej wcześniej wirusowym zapaleniem wątroby typu nie-A, nie-B. Zidentyfikowanie HCV oraz wprowadzenie testów diagnostycznych do praktyki laboratoryjnej ujawniło rangę kliniczną tego patogenu. Wprowadzenie tych badań do rutynowej praktyki klinicznej pozwoliło ponadto na stworzenie pojęcia epidemiologii molekularnej zakażeń HCV oraz opracowanie kryteriów leczenia i prognozowania jego efektywności. Stały się one też podstawową metodą oceny nieskuteczności terapeutycznej, precyzyjnie ilustrując zjawisko pierwotnej lekooporności, przełomu czy nawrotu (rys. 3) (7).

Wykazano jednoznaczne korelacje między skutecznością terapii, a kinetyką wiremii w początkowym okresie leczenia. Na podstawie wyników monitorowanych badań wirusologicznych można było odejść od standardowych, arbitralnie przyjętych metod terapii, różniących się wcześniej wyłącznie w zależności od zakażających genotypów HCV (8,9).

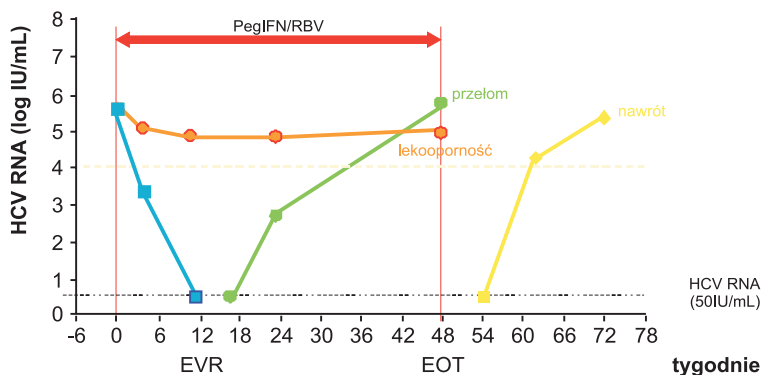
Indywidualizowanie czasu leczenia oparte na wynikach tych badań pozwoliło na wyłonienie chorych wymagających krótszego lub dłuższego okresu terapii (10-12).

Na rysunku 4 przedstawiono przesłanki wirusologiczne proponowanych zmian.

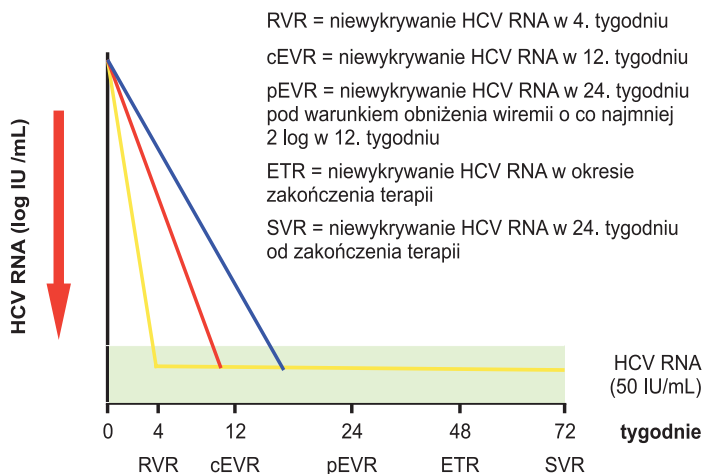
Chorzy szybko odpowiadający (RVR, ang. *Rapid Viral Response*) niezależnie od genotypu są kandydatami do krótszych terapii (13,14).

Przy niskiej wyjściowej wartości wiremii (poniżej 600 000 IU/mL) leczenie zakażonych genotypem 1/4 HCV może być skrócone do 24. tygodni, natomiast w przypadku genotypu 2/3 do 16. tygodni. RVR stał się najlepszym kryterium prognozowania sukcesu terapeutycznego, czyli trwałej odpowiedzi wirusologicznej (SVR, ang. *sustained viral response*) (15-17).

Wczesna odpowiedź wirusologiczna (EVR, ang. *Early Viral Response*) to niewykrywanie wiremii w 12. tygodniu terapii lub jej obniżenie się o 2 logarytmy w stosunku



Rys. 3. Modele nieskutecznej terapii.



Rys. 4. Modele kinetyki wirerii w przebiegu leczenia u zakażonych genotypem 1 HCV.

do wyjściowej wartości. Wykazano, że kontynuowanie leczenia przy braku EVR kończy się sukcesem terapeutycznym tylko u 2% pacjentów. Mimo że definicja ta jest znana od lat, okazało się, iż jej dwuczłonowość stanowi istotną różnicę w prognozowaniu skuteczności terapeutycznej przy standardowym czasie leczenia zakażeń genotypem 1 HCV. Pełna wczesna odpowiedź wirusologiczna (cEVR, ang. *Complete EVR*) jest lepszym predyktorem odpowiedzi terapeutycznej niż częściowa (pEVR, ang. *Partial EVR*) w ciągu 48-tygodniowego leczenia. Wykazano, że chorzy z pEVR, którzy obniżają wiramię do poziomów niewykrywalnych w 24. tygodniu leczenia uzyskują podobne odsetki SVR jak ci z cEVR, pod warunkiem wydłużenia terapii do 72. tygodni (18-20).

Mimo że kombinacje leków, pegylowanego interferonu z rybawiryną wyraźnie poprawiły skuteczność leczenia przewlekłych zapaleń wątroby typu C (około 50% w zakażeniach genotypem 1/4 HCV i niespełna 90% u zakażonych genotypem 2/3 HCV), systematycznie wzrasta grupa chorych leczonych nieskutecznie. Coraz częściej wskazuje się, że niektórzy z nich powinni być leczeni powtórnie. Problem ten nie budzi kontrowersji w przypadkach, gdy nie byli oni wcześniej leczeni interferonem pegylowanym, lub gdy w świetle obecnej wiedzy byli leczeni zbyt krótko, tj. 48 zamiast 72 tygodni. Wykazano jednakże, że powtórzenie terapii również u pozostałych może przynieść korzyści. W badaniu REPEAT sukces terapeutyczny osiągnęło 57% pacjentów, którzy mieli niewykrywalny HCV RNA w 12. tygodniu reterapii (21). W tych przypadkach dobre efekty terapeutyczne uzyskuje się zwłaszcza u chorych zakażonych genotypem 2/3 HCV oraz z niskimi stężeniami wirerii, a też gdy „nawrót” przesądził o nieskuteczności terapii (22).

Reasumując, wprowadzenie technik molekularnych do rutynowej praktyki klinicznej znacznie usprawniło diagnozowanie i leczenie przewlekłych wirusowych za-

paleń wątroby. W przebiegu zakażeń HBV wyniki tych badań stały się istotnym kryterium prognozowania, wykrywania oporności na leki, a też przesłanką do leczenia, również w przypadkach pojawienia się mutacji.

Podobne znaczenie odgrywają badania molekularne w rozpoznawaniu i leczeniu zakażeń HCV. Bez oznaczeń wyjściowych stężeń wirerii oraz genotypu zakażającego wirusa nie jest możliwe wyznaczenie standardowego czasu terapii. Analiza kinetyki wirerii w pierwszym okresie leczenia dostarcza dodatkowych danych na ten temat, prowadząc do skracania lub wydłużania czasu terapii w celu uzyskania jak najwyższego odsetka trwałych odpowiedzi wirusologicznych. Badania wirusologiczne u chorych leczonych nieskutecznie są istotnym narzędziem ich kwalifikacji do reterapii i prognozowania jej skuteczności.

Niezależnie od typu wirusowego zapalenia wątroby podstawowym warunkiem uzyskania sukcesu terapeutycznego jest obniżenie wirerii poniżej progu wykrywalności.

Literatura

1. Inada M., Yokosuka O., (2008), *Hepatology Research*, 38, 535-542.
2. Zoulim F., Perrillo R., (2008), *J. Hepatol.*, 48, S2-S19.
3. Liaw Y. F., (2009), *Liver International*, 29(s1), 100-107.
4. Juszczak J., Boroń-Kaczmarek A., Cianciara J., et al., (2008), *Zakażenia*, 8(2), 68.
5. Zoulim D., Durantel D., Deny P., (2009), *Liver International*, 29(s1), 108-115.
6. Zoulim F., Buti M., Lok A. S., (2007), *J. Viral. Hepatol.*, 14(suppl.1), 29-36.
7. Chevaliez S., Pawlotsky J. M., (2009), *Liver International*, 29(s1), 9-14.
8. Fried M. W., Shiffman M. I., Reddy K. R., et al., (2002), *N. Engl. J. Med.*, 347, 975-982.
9. Farnik H., Mim U., Zeuzen S., (2009), *Liver International*, 29(s1), 23-30.
10. Hadziyannis S. J., Sette H. Jr, Morgan T. R., et al., (2004), *Ann. Intern. Med.*, 140, 346-355.
11. Tarantino G., Craxi A., (2009), *Liver International*, 29(s1), 31-38.
12. Halota W., Juszczak J., (2009), *Przegl. Epidemiol.*, 63, 73-74.
13. Jensen D. M., Morgan T. R., Marcelin P., et al., (2006), *Hepatology*, 43, 954-960.
14. von Wagner M., Huber M., Berg T., et al., (2005), *Gastroenterology*, 129, 522-527.
15. Zeuzem S., Pawlotsky J. M., Lukasiewicz E., et al., (2005), *J. Hepatol.*, 43, 250-257.
16. Ferenci P., Laferl H., Scherz T. M., et al., (2008), *Gastroenterology*, 135, 451-458.
17. Ferenci P., Brunner H., for the Austrian Hepatitis Study Group, et al., (2008), *Hepatology*, 47, 1816-1823.
18. Berg T., von Wagner M., Nasser S., et al., (2006), *Gastroenterology*, 130, 1086-1097.
19. Pearlman B. L., Ehleben C., Saifee S., (2007), *Hepatology*, 46, 1688-1694.
20. Sanchez-Tapias J. M., Diago M., Escartin P., et al., (2006), *Gastroenterology*, 131, 451-460.
21. Jensen D. M., et al., (2007), *Hepatology*, suppl.1, 291-2A.
22. Heathcote J., (2009), *Liver International*, 29(s1), 49-56.