

Andrzej Marszałek

**Katedra i Klinika Chorób Zakaźnych
Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego
w Poznaniu**

**Retrospektywna analiza przebiegu przewlekłego
zakażenia wirusem zapalenia wątroby typu B
nabytego w dzieciństwie**

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych

Promotor: dr hab. med. Arleta Kowala-Piaskowska prof. UM

Poznań 2015

Przede wszystkim dziękuję mojej promotor Profesor Arlecie Kowali-Piaskowskiej za CAŁĄ POMOC jakiej mi udzieliła.

Dziękuję również Pani Profesor Iwonie Mozer-Lisewskiej za motywację do działania i słowa otuchy w trudnych chwilach.

Chcę też wyrazić wdzięczność Pani Doktor Iwonie Bereszyńskiej za umożliwienie mi dostępu do dokumentacji medycznej pacjentów Poradni Wirusowego Zapalenia Wątroby.

Dziękuję wszystkim moim koleżankom i kolegom z pracy, a w szczególności Pani Docent Agnieszce Adamek za merytoryczne uwagi, Panu Doktorowi Maciejowi Burze za wiarę we mnie, Pani Doktor Katarzynie Świątek za życzliwość i Panu Doktorowi Pawłowi Migdalskiemu za chęć niesienia pomocy.

Szczególne podziękowania należą się mojemu kierownikowi specjalizacji Panu Doktorowi Jackowi Adamkowi za wprowadzenie mnie w arkana zakaźnictwa i służenie ojcowską radą oraz mojemu pierwszemu szefowi Panu Profesorowi Jackowi Juszczykowi za nauczanie dyscypliny pracy.

Największe podziękowania składam mojej Żonie za wyrozumiałość i wsparcie oraz Mamie, Siostrze Anecie i nieżyjącemu już Tacie za bycie ze mną, gdy tego potrzebowałem.

Dziękuję jeszcze raz wszystkim, bez których ta praca nie mogłaby powstać.

SPIS TREŚCI

WYKAZ SKRÓTÓW	6
1. WSTĘP – WIRUS ZAPALENIA WĄTROBY TYPU B	7
1.1. RYS HISTORYCZNY	7
1.2. BUDOWA	7
1.3. EPIDEMIOLOGIA	9
1.4. CYKL ŻYCIOWY	10
1.5. DROGI ZAKAŻENIA	12
1.6. PATOGENEZA	12
1.7. PRZEBIEG KLINICZNY	14
1.7.1. Ostre i nadostre wirusowe zapalenie wątroby	15
1.7.2. Przewlekłe wirusowe zapalenie wątroby typu B	16
1.7.3. Zakażenie utajone	19
1.7.4. Marskość wątroby	20
1.7.5. Rak wątrobowokomórkowy	20
1.8. BADANIE HISTOPATOLOGICZNE WĄTROBY	21
1.8.1. Morfologia ostrego wirusowego zapalenia wątroby typu B (owzwB)	21
1.8.2. Morfologia przewlekłego wirusowego zapalenia wątroby typu B (pwzwB)	21
1.9. LECZENIE	21
1.9.1. Interferony (IFN) alfa	21
1.9.2. Analogi nukleozydowe i nukleotydydowe (AN)	23
2. CEL	24
3. MATERIAŁ I METODY	25
3.1. MATERIAŁ	25
3.2. METODY	26
4. WYNIKI	29
4.1. LICZEBNOŚĆ, WIEK I PŁEĆ BADANYCH	29
4.2. MOMENT ZAKAŻENIA	30
4.3. OKRES OBSERWACJI	31
4.4. ANALIZA PRZEBIEGU ZAKAŻENIA HBV W WYBRANYCH GRUPACH	32

4.4.1. Grupa badanych, u których do zakażenia doszło w 1. roku życia	32
4.4.1.1. Faza zakażenia HBV w momencie wykrycia	32
4.4.1.2. Leczenie przeciwwirusowe	33
4.4.1.3. Objawy kliniczne	34
4.4.1.4. Wyniki badań laboratoryjnych	34
4.4.1.5. Wyniki badań obrazowych oraz badań histopatologicznych wątroby	37
4.4.2. Grupa badanych, u których do zakażenia doszło od 2. do 6. roku życia	37
4.4.2.1. Faza zakażenia HBV w momencie wykrycia	38
4.4.2.2. Leczenie przeciwwirusowe	38
4.4.2.3. Objawy kliniczne	40
4.4.2.4. Wyniki badań laboratoryjnych	40
4.4.2.5. Wyniki badań obrazowych oraz badań histopatologicznych wątroby	45
4.4.3. Grupa badanych, u których do zakażenia doszło od 7. do 12. roku życia	46
4.4.3.1. Faza zakażenia HBV w momencie wykrycia	46
4.4.3.2. Leczenie przeciwwirusowe	46
4.4.3.3. Objawy kliniczne	47
4.4.3.4. Wyniki badań laboratoryjnych	48
4.4.3.5. Wyniki badań obrazowych oraz badań histopatologicznych wątroby	52
4.4.4. Grupa badanych, u których do zakażenia doszło od 13. do 18. roku życia	53
4.4.4.1. Faza zakażenia HBV w momencie wykrycia	53
4.4.4.2. Leczenie przeciwwirusowe	54
4.4.4.3. Objawy kliniczne	55
4.4.4.4. Wyniki badań laboratoryjnych	56
4.4.4.5. Wyniki badań obrazowych oraz badań histopatologicznych wątroby	62
4.5. ZBIORCZA ANALIZA PRZEBIEGU ZAKAŻENIA HBV	64
4.5.1. Faza zakażenia HBV w momencie wykrycia	64
4.5.2. Leczenie przeciwwirusowe	64
4.5.3. Objawy kliniczne	65
4.5.4. Wyniki badań laboratoryjnych	67
4.5.4.1. Bilirubina	67

4.5.4.2. Aminotransferazy	68
4.5.4.3. Układ „e”	68
4.5.4.4. Dynamika zakażenia HBV w wyselekcjonowanych grupach	69
4.5.5. Ultrasonografia jamy brzusznej	72
4.5.6. Badanie histopatologiczne wątroby	74
4.5.6.1. Wyniki badań według „starej nomenklatury”	74
4.5.6.2. Wyniki badań według skali METAVIR	75
5. OMÓWIENIE WYNIKÓW I DYSKUSJA	78
6. WNIOSKI	89
7. STRESZCZENIE	90
SUMMARY	93
8. LITERATURA	95

WYKAZ SKRÓTÓW

AASLD - Amerykańskie Towarzystwo Badań nad Wątrobą, ang. *American Association Study of The Liver*

AlAT – aminotransferaza alaninowa, ang. *alanine aminotransferase*

AN – analog nukleozydowy

AspAT – aminotransferaza asparaginianowa, ang. *aspartate aminotransferase*

CccDNA – kowalentnie domknięte koliste DNA, ang. *covalently closed circular DNA*

EASL – Europejskie Towarzystwo Badań nad Wątrobą, ang. *European Association for The Study of The Liver*

ETV – entekawir, ang. *entecavir*

HBcAg – antygen rdzeniowy wirusa B zapalenia wątroby, ang. *hepatitis B core antigen*

HBeAg – antygen otoczkowy wirusa B zapalenia wątroby, ang. *hepatitis B envelope antigen*

HBsAg - antygen powierzchniowy wirusa B zapalenia wątroby, ang. *hepatitis B surface antigen*

HBV - wirus B zapalenia wątroby, ang. *hepatitis B virus*

HCA – przewlekłe aktywne zapalenie wątroby, lac. *hepatitis chronica activa*

HCC – rak wątrobowokomórkowy, ang. *hepatocellular carcinoma*

HCP – przewlekłe przetrwałe zapalenie wątroby, lac. *hepatitis chronica persistens*

HDV - wirus D zapalenia wątroby, ang. *hepatitis D virus*

IFN – interferon, ang. *interferon*

IL – interleukina, ang. *interleukin*

NK – komórka NK, ang. *natural killer cell*

NKT - komórka NKT, ang. *natural killer T cell*

ORF – otwarta ramka odczytu, ang. *open reading frame*

OWZWB – ostre wirusowe zapalenie wątroby typu B

PegIFN – pegylowany interferon, ang. *pegylated interferon*

PWZWB - przewlekłe wirusowe zapalenie wątroby typu B

PZH – Państwowy Zakład Higieny

TDF – tenofowir, ang. *tenofovir*

TLR – receptor Toll-like, ang. *Toll-like receptor*

WHO – Światowa Organizacja Zdrowia, ang. *World Health Organisation*

1. WSTĘP – WIRUS ZAPALENIA WĄTROBY TYPU B

Wirusem zapalenia wątroby typu B (HBV) jest zakażonych więcej niż 500 milionów ludzi na kuli ziemskiej. Zakażenie nim może spowodować ostre i/lub przewlekłe wirusowe zapalenie wątroby, marskość wątroby, raka wątrobowokomórkowego oraz związane z nim pozawątrobowe choroby. Pomimo dostępności szczepienia i metod szybkiej diagnostyki, zakażenie HBV stanowi nadal poważny problem epidemiologiczny, społeczny i ekonomiczny. Do infekcji może dojść w każdym wieku.

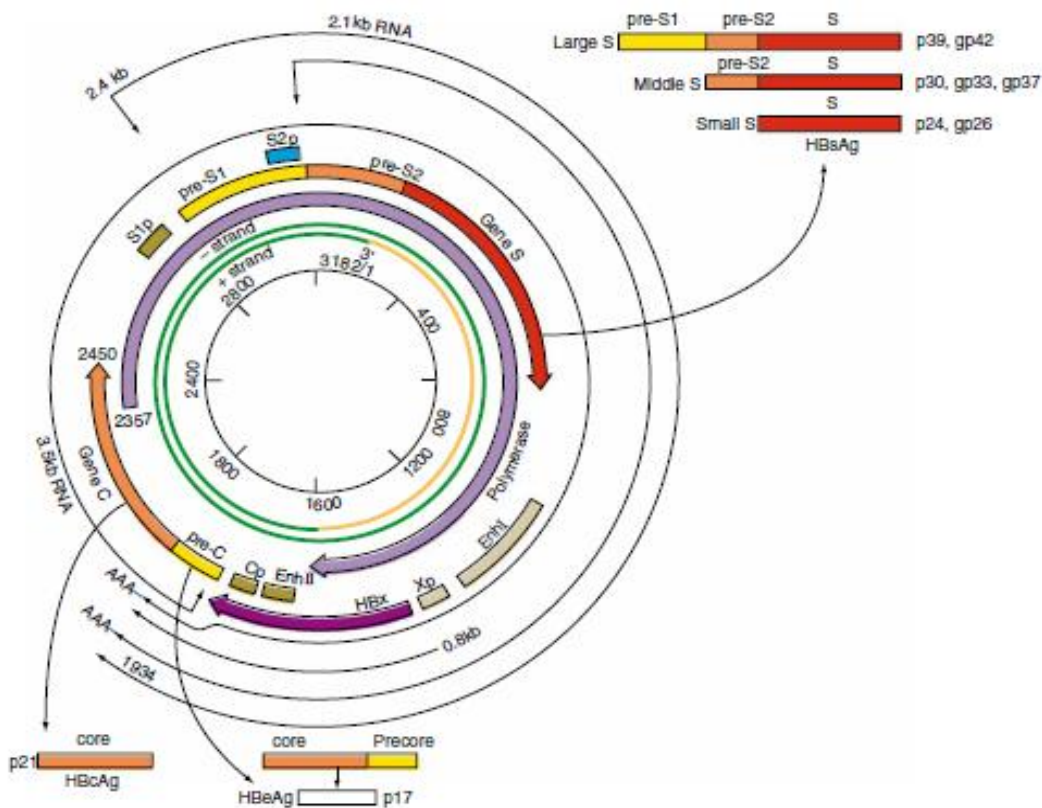
1.1. Rys historyczny

Już około 4000 lat przed naszą erą rozprzestrzenianie się żółtaczki odkrył Hipokrates. W 1885r. Lurman opisał wzrost zachorowania na żółtaczkę epidemiczną wśród pracowników stoczni, którzy otrzymali szczepionkę przeciwko ospie prawdziwej uzyskaną z ludzkiej surowicy (Lurmann, 1885). Na początku XX wieku zwiększona częstość używania zanieczyszczonych igieł i strzykawk u diabetyków oraz u pacjentów leczonych z powodu kiły, istotnie zwiększyła zachorowalność na wirusowe zapalenie wątroby (wzw) (Flaum i wsp. 1926; Bigger i wsp., 1943). Pierwszym, który odkrył antygen HBV był Blumberg. Nazwał go antygenem Australia (Au), ponieważ dowiódł jego obecności w surowicy u australijskich Aborygenów (Blumberg i wsp., 1965). Za to odkrycie otrzymał w 1976r. nagrodę Nobla w dziedzinie fizjologii i medycyny. W 1971r. HBV i jego antygen powierzchniowy został uwidoczniiony w mikroskopie elektronowym (Dane i wsp., 1970). Z powodu unikalnej budowy molekularnej i hepatotropizmu HBV został zaszeregowany razem z innymi HBV-podobnymi wirusami, wywołującymi *hepatitis* u zwierząt, do rodziny *Hepadnaviridae* (Robinson i wsp., 1982). HBV w 1979r. został sklonowany i poznano jego sekwencję DNA (Sninsky i wsp., 1979).

1.2. Budowa

HBV ma średnicę 42nm (cząstka Dane'a) i zawiera luźno, podwójnie skręconą nić DNA o kolistej strukturze zawartą w kapsydzie (Dane i wsp., 1970; Landers i wsp., 1977). Poza tym w mikroskopie elektronowym są widoczne kuliste i nitkowate

struktury o wymiarze 22nm będące cząstkami wirionu (Dane i wsp., 1970). Na zewnątrz tych cząstek eksponowany jest antygen powierzchniowy „s” (HBsAg). HBsAg stanowi też składnik osłonki lipoproteinowej wirusa. Kapsyd wirusa jest fosfoproteiną znaną powszechnie jako antygen rdzeniowy „c” (HBcAg) (Roosinck i wsp., 1987). Genom HBV jest częściowo, podwójną skręconą nicią DNA (Ryc. 1). HBV DNA koduje produkty genów z 4 otwartych ramek odczytu (ORF): S dla antygeny powierzchniowego (HBsAg); C dla nukleokapsydu (core) i antygeny „e” (HBcAg i HBeAg); P dla polimerazy; X dla białka X (HBx).

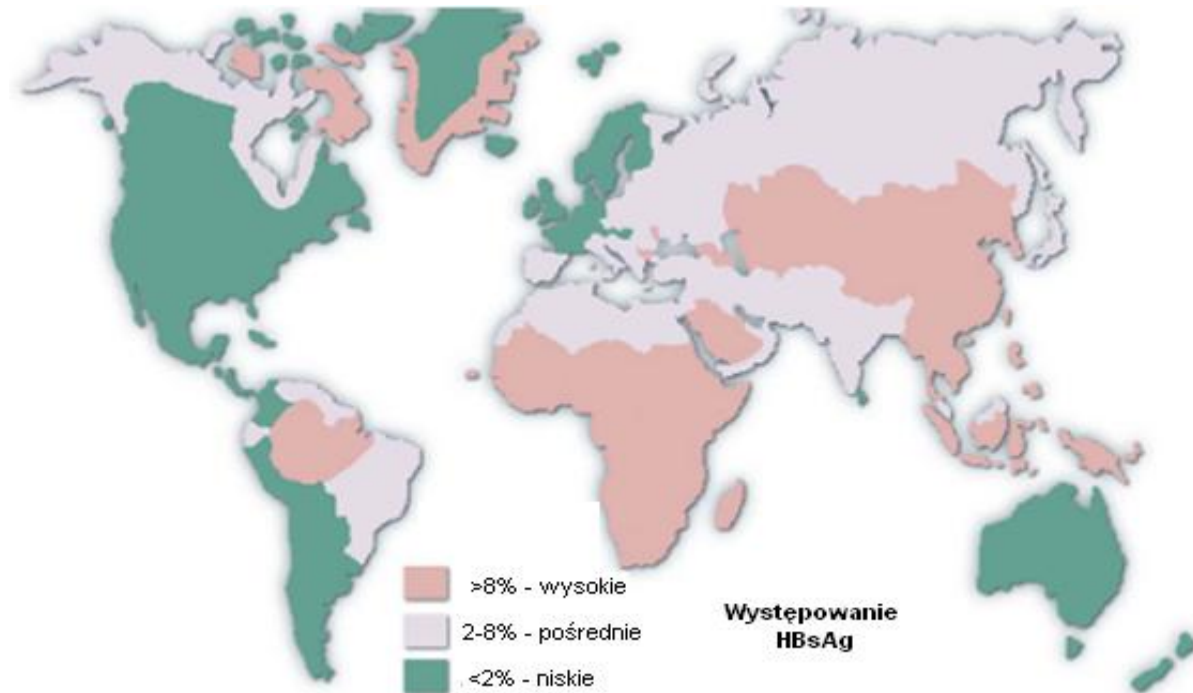


Rycina 1. Organizacja genomu HBV. (Murray PA, Rosenthal KS, Kobayashi GS i wsp. *Medical Microbiology, 4th Ed. St. Louis, MO, Mosby.* 2002:591-605).

HBV dzieli się na 8 genotypów, oznaczonych literami alfabetu od A do H, w zależności od stopnia zróżnicowania sekwencji DNA, które wynosi minimum 8% (Okamoto i wsp., 1988).

1.3. Epidemiologia

Na świecie co najmniej 2 miliardy ludzi ma serologiczne dowody kontaktu z HBV (Lavanchy, 2004). Około 350 milionów osób zakażonych HBV ma wykrywalny HBsAg. Występowanie nosicielstwa HBsAg przedstawia rycina 2.



Rycina 2. Występowanie HBsAg. (Z WHO. Introduction of Hepatitis B Vaccine into Childhood Immunization Services. Geneva. 2001, zmodyfikowano).

Obszary o najmniejszym występowaniu HBsAg (0,1-2%) to USA, Kanada, Europa Zachodnia, Australia i Nowa Zelandia. Największa częstość występowania HBsAg (>8%) dotyczy Południowowschodniej Azji, Afryki, Haiti, Dominikany, Chin oraz Bliskiego Wschodu z wyjątkiem Izraela. Wyższa częstość występowania przewlekłego zakażenia HBV ma najprawdopodobniej związek z momentem zakażenia w okresie okołoporodowym. Chronicyzacja w tych przypadkach wynosi 90%. Każdego roku z powodu zakażenia HBV umiera na świecie od pół do dwóch milionów ludzi (Lavanchy, 2004).

W Polsce rejestrację zakażeń HBV wprowadzono w 1979 roku. Według Państwowego Zakładu Higieny (PZH) w latach 1979-1985 rejestrowano rocznie średnio szesnaście tysięcy nowych przypadków. Średnia zapadalność w tym okresie wynosiła 44/100000 mieszkańców. Od momentu wprowadzenia w 1996r.

obowiązkowego szczepienia noworodków na terenie całego kraju, a od 2000r. u młodzieży w wieku 14 lat, zapadalność znacznie zmniejszyła się wynosząc w 2008r. 3,5/100000 mieszkańców. Według doniesień epidemiologicznych PZH średnia zapadalność na wzvB w latach 2008-2013 wynosiła 4/100000 mieszkańców (Tabela 1).

Tabela 1. Liczba zachorowań i zapadalność na 100 tysięcy ludności na wzvB w latach 2008-2013 (PZH. Meldunki o zachorowaniach na choroby zakaźne, zakażenia i zatrucia w Polsce. Warszawa).

Okres (rok)	2008	2009	2010	2011	2012	2013
Liczba zachorowań	1337	1475	1633	1583	1583	1540
Zapadalność na 100 tysięcy ludności	3,51	3,86	4,35	4,14	4,11	4,00

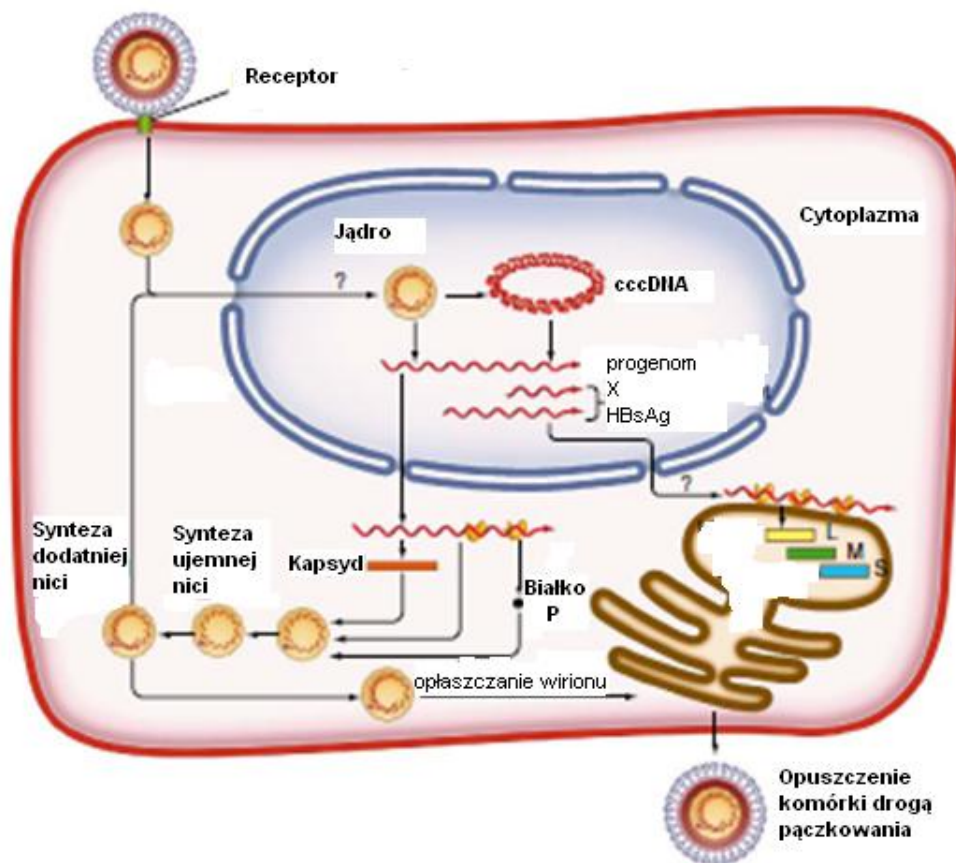
W USA, Afryce Subsaharyjskiej i Europie Zachodniej dominuje genotyp A. Genotypy B i C najczęściej występują w Chinach i Japoni. W krajach śródziemnomorskich i Indiach najczęstszy jest genotyp D, E w Afryce Zachodniej i Południowej, F w Ameryce Południowej i Środkowej. G we Francji, a H w Meksyku (Chu i wsp., 2005; Kao, 2007). W Polsce dominuje zakażenie genotypem A (81,2%), a następnie genotypem D (18,8%) (Grabarczyk i wsp., 2009).

Zakażenie HBV zwiększa ryzyko rozwoju raka wątrobowokomórkowego (HCC) około 100 razy (Beasley, 1988). Jest ono dziesięciokrotnie wyższe u chorych z antygenem HBs i sześćdziesięciokrotnie wyższe z antygenem HBe (Zhang i wsp., 2008). Rak wątroby występuje częściej w zakażeniu genotypem C (Chen i wsp., 2007; Kao, 2007).

1.4. Cykl życiowy

Wirus przedostaje się do komórki hepatocyty przez bliżej nieokreślony receptor (Neurath i wsp., 1986; Gripon i wsp., 2005). DNA wirusa przedostaje się do jądra

komórkowego gospodarza i jest przekształcane w kolistą postać kowalentnie domkniętą tzw. cccDNA (ang. *covalently closed circular DNA*, podwójna kowalentnie domknięta nić DNA), który jest źródłem reaktywacji replikacji (Doo i wsp., 2001). Ujemna nić cccDNA służy jako matryca do transkrypcji przez komórkową polimerazę II RNA gospodarza do progenomowego RNA i matrycowego RNA (mRNA). mRNA ma cztery geny: c, s, p i x, które kodują odpowiednio HBc/eAg, HBsAg, polimerazę i białka HBx (Ganem i wsp., 2001). W cytoplazmie tworzony jest nukleokapsyd, który w połączeniu z polimerazą bierze udział w procesie syntezy ujemnej nici DNA (aktywność rewertyazy), a następnie dodatniej nici DNA. Nukleokapsyd z podwójnym DNA jest umieszczany w siateczce endoplazmatycznej, gdzie jest spłaszczany. Wiriony opuszczają komórkę drogą egzocytozy (Ganem i wsp., 2001). Cykl życiowy HBV przedstawia rycina 3.



Rycina 3. Cykl życiowy HBV. (Flint SJ, Enquist LW, Racaniello VR, i wsp. *Principles of Virology, 2nd ed. Washington, DC. 2004:809, zmodyfikowano*).

1.5. Drogi zakażenia

Do zakażenia HBV może dojść drogą parenteralną, seksualną i wertykalną. Już liczba 100 wirionów wystarcza, żeby doszło do zakażenia podczas ekspozycji skażoną krwią błon śluzowych czy na drodze parenteralnej (Gerberding, 1994). HBV poza krwią znajduje się również w nasieniu, wydzielinie szyjki macicy i ślinie. Dominująca droga zakażenia zależy od częstości jego występowania na danym obszarze. Na terenach o wysokiej częstości występowania HBsAg (>8%) dominują zakażenia wertykalne. W krajach o niskiej częstości występowania zakażenia HBV (<2%) dominuje droga zakażeń związana z ryzykownymi zachowaniami seksualnymi oraz używaniem wspólnego sprzętu do dożylnego podawania narkotyków. Transmisja horyzontalna jest najczęstsza w państwach o pośredniej częstości występowania infekcji HBV (2-8%) (Lavanchy, 2004).

1.6. Patogeneza

Mechanizm uszkodzenia hepatocytów przez HBV jest coraz lepiej poznany. Wiele badań wyklucza działanie cytopatyczne wirusa na komórkę wątroby (Ferrari i wsp., 2003; Chang i wsp., 2007), co potwierdza występowanie bezobjawowych nosicieli HBsAg z prawidłowym obrazem histopatologicznym wątroby. Rozszerzone badania na ludziach i zwierzętach pokazują, że uszkodzenie wątroby wywołane przez HBV wiąże się ze specyficzną komórkową i humoralną odpowiedzią układu odpornościowego.

Nie bez znaczenia są również nieswoiste mechanizmy obronne, a zwłaszcza udział receptorów TLR (ang. *toll-like receptors*), które w wątrobie znajdują się na komórkach dendrytycznych, Browicza-Kupffera i hepatocytach. Wzbudzają aktywność limfocytów, są jednym z podstawowych elementów łączących odporność wrodzoną z układem odporności nabytej (Juszczak, 2010). W owzwB zwiększona jest ekspresja TLR-4 (Zhang i wsp., 2009). W pwzwB jest zmniejszona ekspresja TLR-2, co świadczy o ich dysfunkcji (Visvanathan i wsp., 2007). Komórki dendrytyczne, poprzez indukcję TLR-9, wytwarzają IFN- α , IL-10 i IL-12, regulując lokalną odpowiedź odpornościową w wątrobie (Zou i wsp., 2009). HBV ma prawdopodobnie mechanizmy omijania tego wczesnego etapu obrony (Waltman i wsp., 2009). Komórki

Browicza-Kupffera rozpoznając HBV (same nie ulegają zakażeniu) uwalniają znaczne ilości cytokin, a przede wszystkim interleukinę-6 (IL-6), która kontroluje transkrypcję genów HBV (Hösel i wsp., 2009).

Łącznikami uruchomienia odpowiedzi nabytej są komórki NK (ang. *natural killer*) i NKT (ang. *natural killer T*) (Juszczuk, 2010), które są źródłem interferonu gamma (IFN- γ). Limfocyty NK rozpoznają zakażone hepatocyty jako obce, zwiększają swoją liczbę (Webster i wsp., 2000), mają własność indukowania apoptozy oraz wywierania efektu cytotoksycznego w komórce wątroby (Kondo i wsp., 1997). Decydujące znaczenie w eliminacji HBV ma mocna odpowiedź komórek cytotoksycznych na różne epitopy (Juszczuk, 2010). W owzwb przebiegającym z wyleczeniem, w tkance wątroby zaobserwowano znaczne nagromadzenie limfocytów T CD8+ i CD4+ (ok. 20-krotnie wyższe niż w surowicy) (Sprengers i wsp., 2006). Swoistość limfocytów T dotyczy przede wszystkim epitopów rdzenia i nie jest tak samo wydatna w stosunku do antygenów otoczkowych HBV (Ferrari i wsp., 1990). Hepatocyty zakażone HBV są eliminowane z wątroby poprzez efekt cytotoksyczny komórek CD8+, komórek NK i NKT (Chisari i wsp., 1995; Balmasova i wsp., 2014). W zakażeniu przewlekłym dochodzi do hiporeaktywności wyżej wymienionych komórek, które w różnym stopniu kontrolują replikację HBV, ale nie potrafią „wyleczyć hepatocytu z zakażenia wirusem” (Maini i wsp., 2000; Bertoletti i wsp., 2007). W warunkach nadmiaru antygeny wirusowego dochodzi do stłumienia funkcji limfocytów CD8+. Przy wiremii HBV-DNA $>10^7$ kopii/ml udowodniono brak obecności swoistych dla HBV limfocytów cytotoksycznych (Webster i wsp., 2004). Znaczenie ma również długi okres kontaktu z nadmiarem antygeny HBV, co sprzyja wykształceniu się stanu anergii klonalnej limfocytów T i doprowadza do ich apoptozy (Wherry i wsp., 2003; Brooks i wsp., 2005). U noworodków rolę odgrywa także delecja komórek T grasiczozależnych (Chisari i wsp., 1995). W okresie zaostrzenia pzwzwb wzrasta liczba limfocytów T CD4+, zwiększa się synteza IFN- α , aktywność makrofagów i komórek NKT (Tsai i wsp., 1992; Rossol i wsp., 1997; Webster i wsp., 2004). W zakażeniu przewlekłym komórki dendrytyczne wykazują upośledzenie prezentacji antygeny i mają cechy fenotypowej niedojrzałości (Van der Molen i wsp., 2004). Z kolei komórki Treg (limfocyty T regulatorowe) o fenotypie CD4+CD25+

hamują aktywność limfocytów CD4+ i CD8+. Znacząco większy odsetek tych komórek występuje we krwi bezobjawowych nosicieli HBsAg (Xing i wsp., 2009).

HBV jest onkogenem i zwiększa ryzyko rozwoju HCC. Wirus, integrując się z genomem hepatocytów podczas ich podziałów, powoduje akumulację nienaprawialnych błędów transkrypcji (Lee i wsp., 2005; Chan i wsp., 2006). Największe znaczenie w nowotworzeniu przypisuje się białku HBx, które bezpośrednio może zaburzać podziały komórkowe hepatocytów i bierze udział w angiogenezie (Zhang i wsp., 2008). Poza tym reguluje ekspresję około 40 genów, aktywuje protoonkogeny i efekторы apoptozy (Han i wsp., 2000) oraz zakłóca przepływ różnych sygnałów komórkowych (Chan i wsp., 2006; Zhang i wsp., 2008). HCC może pojawić się u pacjenta zakażonego HBV bez cech marskości wątroby.

1.7. Przebieg kliniczny

Okres wylęgania choroby wynosi od 25 do 180 dni (Leevy i wsp., 1994).

Zakres klinicznych manifestacji zakażenia HBV można podzielić, w zależności od lokalizacji na wątrobowe i pozawątrobowe oraz w zależności od czasu, na ostre i przewlekłe. Do chorób o manifestacji wątrobowej należą:

- ostre i nadostre wirusowe zapalenie wątroby,
- przewlekłe wirusowe zapalenie wątroby,
- nosicielstwo HBV,
- marskość wątroby,
- HCC.

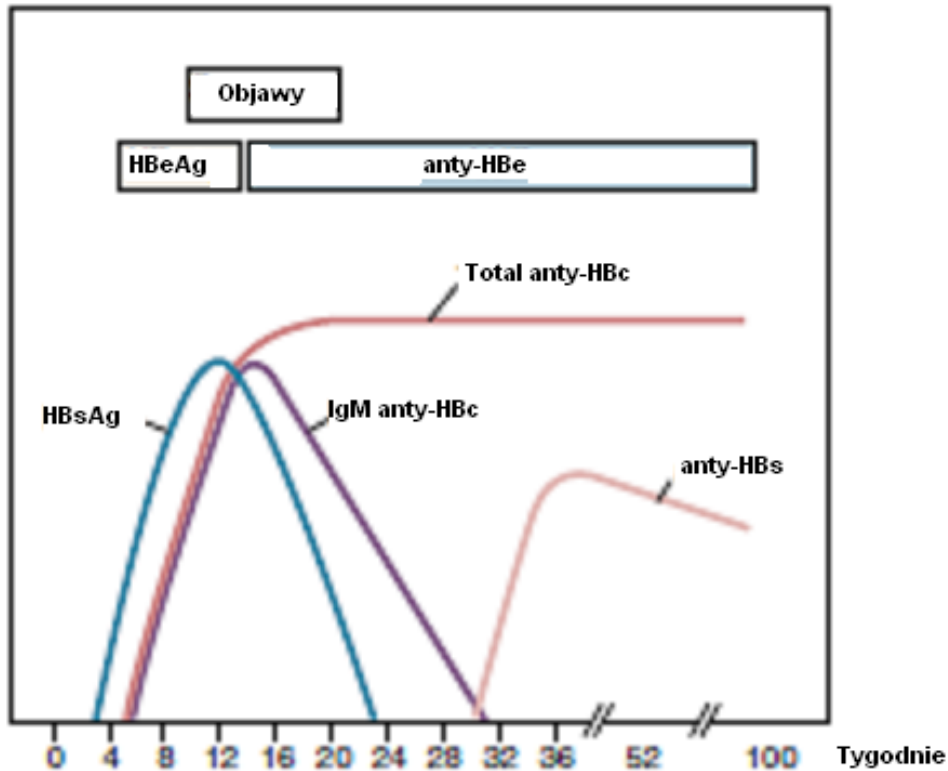
Choroby o manifestacji pozawątrobowej mogą zdarzyć się w trakcie ostrej i przewlekłej fazy zakażenia, a należą do nich:

- zespół objawów przypominających chorobę posurowiczą,
- zespół Gianotti-Crosti,
- guzkowe zapalenie tętnic,
- błoniaste i błoniastorozplamowe kłębuszkowe zapalenie nerek,
- inne rzadsze schorzenia: *polymyalgia rheumatica*, krioglobulinemia typu mieszanego, zespół Guillaina-Barrégo, zapalenie mięśnia sercowego, itd.

1.7.1. Ostre i nadostre wirusowe zapalenie wątroby

Ostre wirusowe zapalenie wątroby typu B (owzwB) jest zespołem klinicznych objawów manifestujących się najczęściej osłabieniem, brakiem apetytu, rzadziej wymiotami, dyskomfortem w jamie brzusznej i żółtaczką. W badaniu fizykalnym stwierdza się zwykle powiększenie wątroby. Wystąpienie żółtaczki jest odwrotnie proporcjonalne do wieku pacjenta. Objawowe owzwB jest bardzo rzadkie u niemowląt, dotyczy około 10% dzieci w wieku 1-5 lat, a w starszych grupach wiekowych występuje u 30-80% (McMahon i wsp., 1985). Żółtaczka częściej towarzyszy innym przewlekłym chorobom wątroby. Objawy ustępują głównie po 1-3 miesiącach od momentu ich wystąpienia, niektórzy pacjenci dłużej odczuwają zmęczenie, nawet po całkowitej normalizacji aktywności aminotransferaz.

W badaniach laboratoryjnych najczęściej stwierdza się podwyższenie aktywności aminotransferazy alaninowej (AlAT) i asparaginianowej (AspAT) w granicach do 1000-2000 IU/l, przy czym AlAT jest wyższe niż AspAT. Stężenie bilirubiny może być w normie. Czas protrombinowy (PT, *ang. prothrombin time*) jest najlepszym wskaźnikiem zapowiadającym nadostre zapalenie wątroby (Lee, 1997). U pacjentów, którzy wyzdrowieli (wyliminowali HBsAg) zaobserwowano normalizację aktywności aminotransferaz w czasie od 1 do 4 miesięcy. Utrzymywanie się podwyższonej aktywności AlAT powyżej 6 miesięcy świadczy o progresji w kierunku pwzwB. Pierwszym markerem serologicznym, który pojawia się w surowicy jest HBsAg. W ciągu pierwszego miesiąca po pojawieniu się HBsAg i na 1-2 tygodnie przed wzrostem aktywności aminotransferaz, można wykryć przeciwciała w klasie IgM przeciwko antygenowi „c” HBV (anty-HBcAg IgM). Podczas zdrowienia miano anty-HBc IgM obniża się, a anty-HBc w klasie IgG podwyższa. Po zaniku antygeny powierzchniowego HBsAg pojawiają się przeciwciała anty-HBsAg. Typowy przebieg parametrów laboratoryjnych u pacjenta z owzwB przedstawia rycina 4. Znaczna większość dorosłych immunokompetentnych pacjentów ulega wyzdrowieniu. U około 5% dorosłych chorych zakażenie HBV przechodzi w proces przewlekły. Chronicyzacja dotyczy średnio 10-25% dzieci i około 90% niemowląt (McMahon i wsp., 1985).



Rycina 4. Typowy przebieg owzwB. (Mandell GL, Bennett JE, Dolin R., i wsp. *Principles and practice of infectious diseases, 7th ed. Philadelphia, PA. 2010:2066, zmodyfikowano).*

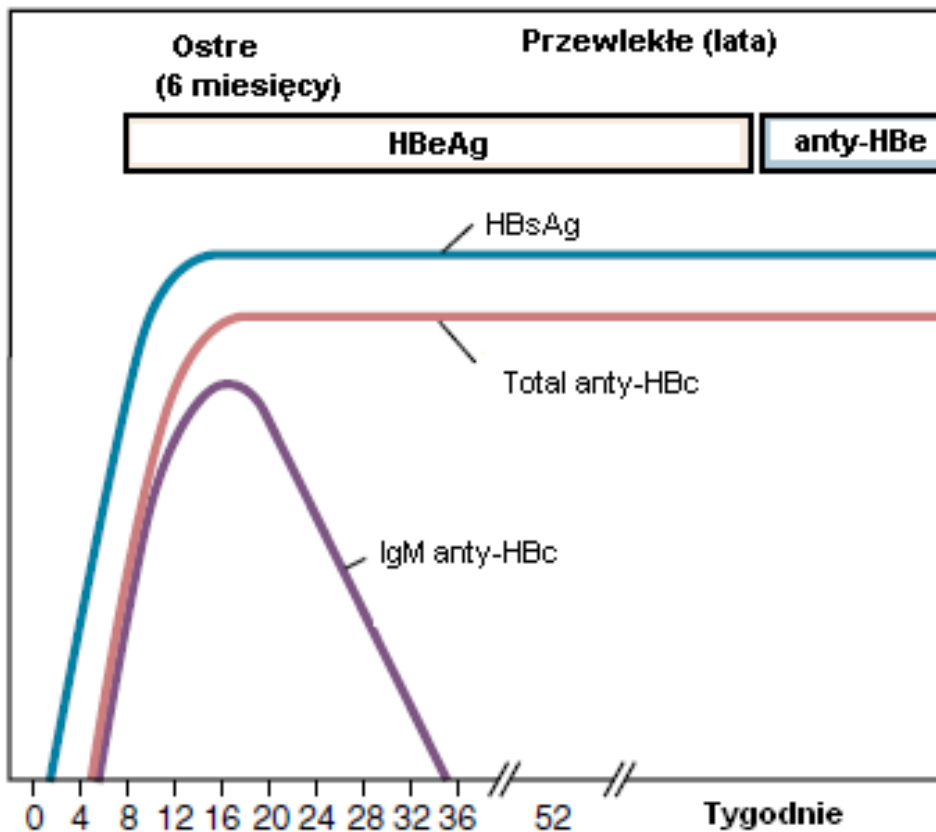
Nadostre zapalenie wątroby zdarza się u 0,1-0,5% pacjentów z zakażeniem HBV. Jest to gwałtownie postępujące ostre zapalenie przebiegające z objawami niewydolności wątroby, takimi jak: koagulopatia i encefalopatia (w tym obrzęk mózgu). Rokowniczo złym prognostycznie parametrem jest niskie ciśnienie tętnicze i małopłytkowość (Schiodt i wsp., 1999). Częściej występuje z jednoczesnym zakażeniem HDV (Wu i wsp., 1994) i u pacjentów pobierających leki immunosupresyjne (Vento i wsp., 1996).

1.7.2. Przewlekle wirusowe zapalenie wątroby typu B

Przewlekle wirusowe zapalenie wątroby typu B (pwzwB) definiuje się jako zakażenie HBV utrzymujące się dłużej niż 6 miesięcy. Najczęściej diagnozuje się je przypadkowo w momencie wykrycia podwyższonej aktywności aminotransferaz, a nie jako następstwo owzwB. Objawy, jeśli w ogóle występują, są niespecyficzne.

Należą do nich osłabienie, nudności, brak apetytu, tkliwość w górnym prawym kwadrancie brzucha. Badanie fizykalne wypada prawidłowo lub stwierdza się powiększoną wątrobę.

W badaniach laboratoryjnych aktywność aminotransferaz może być w normie lub nieznacznie podwyższona. W surowicy krwi stwierdza się markery replikacji HBV, takie jak: HBsAg, HBV-DNA. Podczas serokonwersji do anty-HBe może dojść do podwyższenia aktywności prób wątrobowych, nawet do ponad 20 razy powyżej normy. Częstość spontanicznej serokonwersji zależy od wieku pacjenta, u dorosłych wynosi 10-20% na rok (Wong i wsp., 1995). Typowy przebieg parametrów laboratoryjnych u pacjenta z pzwzB przedstawia rycina 5.



Rycina 5. Typowy przebieg pzwzB. (Mandell GL, Bennett JE, Dolin R., i wsp. *Principles and practice of infectious diseases, 7th ed. Philadelphia, PA. 2010:2066, zmodyfikowano).*

W pzwB wyróżnia się 4 fazy, które zależą od interakcji pomiędzy wirusem, a gospodarzem (Fattovich i wsp., 2008), a na ich sekwencyjność ma wpływ okres życia, w którym doszło do zakażenia. Należą do nich:

- faza tolerancji immunologicznej,
- faza klirensu immunologicznego,
- faza kontroli immunologicznej (nosicielstwa),
- faza reaktywacji.

W fazie immunotolerancji w surowicy wykrywa się HBeAg, HBV-DNA powyżej 10^7 IU/ml oraz aktywność aminotransferaz w granicach referencyjnych (Yim i wsp., 2006). Zmiany zapalne w tkance wątroby są minimalne lub w ogóle może ich nie być. Pacjent nie ma objawów klinicznych. W zakażeniu perinatalnym za tę fazę odpowiada przechodzenie do płodu antygenu „e”, co powoduje hamowanie przez limfocyty Th odpowiedzi odpornościowej i brak oddziaływania limfocytów CD8+ (Milich i wsp., 1990; Liaw i wsp., 2009). W przypadku zakażenia okołoporodowego częstość samoistnej serokonwersji do anti-HBe w ciągu pierwszych 3 lat życia wynosi 2%, a po 20 latach 15% (Lok i wsp., 1987; Chang i wsp., 1995).

Faza klirensu immunologicznego u dorosłych odpowiada profilowi wirusologicznemu i zmianom morfologicznym wątroby jak w owzwB i może się przedłużać nawet dziesiątki lat, jeśli odpowiedź układu immunologicznego nie jest wystarczająco silna. W surowicy krwi, przynajmniej w początkowym okresie, wykrywa się HBeAg i wysokie wartości HBV-DNA (Yim i wsp., 2006). Komórki immunokompetentne rozpoznają HBeAg i HBcAg, co skutkuje podwyższeniem aktywności aminotransferaz, a w wątrobie stwierdza się zmiany martwiczo-zapalne (Chu i wsp., 1987; Tsai i wsp., 1992). Pod wpływem presji immunologicznej zmniejsza się okresowo HBV-DNA oraz może dojść do zaniku HBeAg i syntezy anti-HBe (Liaw i wsp., 1983). U około 1-4% pacjentów dochodzi do reserokonwersji z zanikiem anti-HBe i pojawieniem się HBeAg (Hsu i wsp., 2002). W tym okresie może dojść do niewydolności wątroby (Liaw i wsp., 1983).

Faza kontroli immunologicznej odpowiada pojęciu nieaktywnego nosicielstwa HBsAg (Juszyk, 2010). Niewykrywalny jest HBeAg, obecne są przeciwciała anti-HBe, a aktywność aminotransferaz jest w granicach referencyjnych lub nieznacznie

powyżej normy (Manno i wsp., 2004). W powtarzalnych oznaczeniach HBV-DNA uzyskuje się wyniki wirerii 2×10^3 IU/ml i niższe (Lok i wsp., 2007). W biopsji wątroby u znacznej części chorych nasilenie zmian zapalnych i włóknienia jest minimalne (Manno i wsp., 2004). W przypadku zakażenia w okresie prenatalnym ta faza zdarza się najczęściej w 2.-3. dekadzie życia, a prawdopodobieństwo serokonwersji do anty-HBe wynosi 10-20% na rok (Liaw i wsp., 1984; Lok i wsp., 1987) i jest odwrotnie proporcjonalne do aktywności aminotransferaz (Fattovich i wsp., 1991). Bardzo głębokie stłumienie replikacji z serokonwersją do anty-HBs zdarza się rzadko. Po okresie 11-letniej obserwacji, u osób anty-HBe dodatnich, wartość ta wynosiła 1,2% pacjentów/rok (Fattovich i wsp., 2008). W przypadku, gdy do zakażenia dochodzi w okresie niemowlęcym lub wczesnym dzieciństwie, wartość ta waha się w granicach 0,05-0,8% pacjentów/rok (Liaw i wsp., 1991; McMahon i wsp., 2001).

Fazę czwartą określa się reaktywacją zakażenia (Lok i wsp., 1987). Dochodzi do niej u około 25% nosicieli HBsAg w okresie pięcioletniej obserwacji (Liaw, 2003). W surowicy stwierdza się brak HBeAg, obecność anty-HBe, podwyższone wartości HBV-DNA. W biopsji wątroby można wykazać zmiany martwiczo-zapalne.

1.7.3. Zakażenie utajone

Sytuację, w której w surowicy i/lub w wątrobie wykrywa się HBV-DNA bez obecności HBsAg lub stwierdza się markery zakażenia HBV po ekspozycji, nazywa się zakażeniem utajonym (Craxi i wsp., 2006; Zerbini i wsp., 2008). Ta forma zakażenia ma znaczenie w związku z możliwością przeniesienia infekcji na innego osobnika i ryzykiem wznowy pod wpływem czynników powodujących obniżenie odporności (Juszczak, 2010). Jest to ściśle związane z przetrwaniem DNA HBV pod postacią cccDNA w komórkach gospodarza (Rehermann i wsp., 1996). Utajone zakażenie może brać udział w transformacji nowotworowej hepatocytów (Pollicino i wsp., 2004).

1.7.4. Marskość wątroby

Według Światowej Organizacji Zdrowia (WHO, ang. *World Health Organization*) marskość wątroby to rozlany, przewlekły proces chorobowy, charakteryzujący się zaburzeniem architektoniki wątroby z wyodrębnieniem guzków rzekomych. Pod względem czynnościowym dzieli się na wyrównaną i niewyrównaną. U części pacjentów brak jest istotnych objawów klinicznych, a marskość wątroby stwierdza się przypadkowo np. podczas badania ultrasonograficznego jamy brzusznej. U większości chorych mogą występować różnorodne objawy, począwszy od tych niespecyficznych (osłabienie, spadek masy ciała), poprzez symptomy dotyczące innych niż wątroba narządów i układów (np. małopłytkowość, ginekomastia, obecność pajęczków naczyniowych itd.), skończywszy na powikłaniach (np. żylaki przełyku, zespół wątrobowo-nerkowy, wodobrzusze, encefalopatia). W zakażeniu HBV ryzyko marskości wątroby wzrasta proporcjonalnie do wartości wirerii (począwszy od 10000 kopii/ml bez związku z układem „e” i aktywnością aminotransferaz) (Chen i wsp., 2006; Iloeje i wsp., 2006). Inne czynniki ryzyka to: starszy wiek, płeć męska, współzakażenie HDV i/lub HCV i/lub HIV oraz zakażenie genotypem C HBV (Fung i wsp., 2005). Prawdopodobieństwo rozwoju objawów niewyrównanej marskości wątroby po okresie pięcioletniej obserwacji od stwierdzenia marskiej przebudowy wynosi 15-20% i jest czterokrotnie większe u pacjentów z HBV DNA powyżej 10000 kopii/ml (Fattovich i wsp., 2002). 5-letni okres przeżycia w niewyrównanej marskości wątroby wynosi 30-50% (Chu i wsp., 2006).

1.7.5. Rak wątrobowokomórkowy

Rak wątrobowokomórkowy jest 5. najczęstszym nowotworem na świecie wśród mężczyzn i stanowi trzecią najczęstszą przyczynę śmiertelności związaną z chorobami nowotworowymi (Garcia i wsp., 2007). HBV i HCV są głównymi czynnikami ryzyka HCC i odpowiadają za ponad 75% przypadków tej choroby na świecie (Parkin i wsp., 2005). Najczęściej rozwija się na podłożu wątroby marskiej, choć nie jest to warunek konieczny (Juszczak, 2010). Objawy występują w zaawansowanym stadium choroby i należą do nich: ból w prawym podżebrzu, utrata masy ciała, niekiedy w badaniu fizykalnym można wyczuć guz wątroby (Bialecki i wsp., 2005). Przerzuty odległe

mogą powodować bóle kostne, biegunkę, duszność i zmiany skórne (Bialecki i wsp., 2005). Prawie 40% chorych nie ma żadnych objawów w momencie rozpoznania (Hayashi i wsp., 2006). Według zaleceń EASL (ang. *European Association for the Study of the Liver*) z 2014 roku do rozpoznania HCC wystarczy stwierdzenie w badaniu obrazowym hiperwaskularnego guzka o średnicy powyżej 2 cm.

1.8. Badanie histopatologiczne wątroby

Badanie histopatologiczne wątroby jest nadal uznawane za „złoty standard” w diagnostyce przewlekłych schorzeń wątroby. Według AASLD (ang. *American Association Study of The Liver*) wycinek wątroby powinien mieć co najmniej 20mm lub zawierać 12 przestrzeni wrotnych.

Martwica hepatocytów wynika z mechanizmów immunologicznych nastawionych na eliminację HBV.

1.8.1. Morfologia owzwB

W przebiegu owzw stwierdza się martwicę wokół żył środkowych, której towarzyszą nacieki z makrofagów i komórek limfoidalnych. Jednocześnie występuje zwyrodnienie hepatocytów przede wszystkim w pobliżu żył środkowych. W owzwB nie obserwuje się włóknienia.

1.8.2. Morfologia pwzwB

W przewlekłym wzw obecny jest naciek zapalny w przestrzeni wrotnej złożony z komórek jednojądrzastych. W niektórych przypadkach dochodzi do niszczenia komórek w blaszce granicznej, a nawet śródzrazikowej martwicy hepatocytów. Zmianom zapalnym w pwzw towarzyszy włóknienie o różnym stopniu nasilenia. Aktualnie, do oceny aktywności zmian zapalnych (*grading*) i stopnia włóknienia (*staging*), używa się skali METAVIR (Bedossa i wsp., 1996). Aktywność martwiczo-zapalną (*activity*) określa się w skali od A0 do A3 gdzie: A0 - brak aktywności, A1 – minimalna aktywność, A2 - umiarkowana aktywność, A3 – ciężka aktywność.

Włóknienie (*fibrosis*) określa się w skali od F0 do F4 gdzie: F0 - brak włóknienia, F1 – wrotne włóknienie bez przegród, F2 – wrotne włóknienie z przegradami, F3 – wrotne włóknienie z wieloma przegradami, F4 – marskość.

Jeszcze do początku lat 90-tych w opisie morfologicznym pzwz funkcjonował podział na *hepatitis chronica persistens* (HCP), gdzie naciek zapalny miał miejsce w przestrzeniach bramno-żółciowych oraz na *hepatitis chronica activa vel agressiva* (HCA), gdzie naciek zapalny przekraczał blaszkę graniczną oraz doprowadzał do stopniowej defragmentacji narządu.

1.9. Leczenie

Głównym celem leczenia jest wydłużenie przeżywalności i poprawa jakości życia pacjentów zakażonych HBV, co można osiągnąć poprzez:

- supresję replikacji HBV,
- zahamowanie zmian zapalnych i włóknienia wątroby,
- normalizację aktywności aminotransferaz,
- zmniejszenie ryzyka rozwoju HCC,
- zmniejszenie zachorowalności w populacji.

W terapii pzwzB wykorzystuje się preparaty interferonu alfa oraz analogi nukleozydowe i nukleotydydowe.

1.9.1. Interferony alfa

W terapii stosuje się interferony klasyczne: IFN- α 2a i IFN- α 2b oraz pegylowany interferon alfa 2a (PegIFN- α 2a). Czas trwania leczenia wynosi 48 tygodni. Według Polskiej Grupy Ekspertów HBV preferuje się postać pegylowaną. Do leczenia preparatami interferonu szczególnie kwalifikują się pacjenci:

- w młodym wieku,
- HBeAg (+),
- z HBV-DNA $< 10^7$ IU/ml,
- z aktywnością AlAT przekraczającą 3 razy górną granicę normy,
- z wyraźną aktywnością zmian zapalnych w wątrobie,
- immunokompetentni,

- z wyrównaną chorobą wątroby,
- młode kobiety.

1.9.2. Analogi nukleozydowe i nukleotydowe

Do analogów nukleozydowych należą: lamiwudyna, telbiwudyna i entekawir, a do nukleotydowych: adefowir i tenofowir. Poprzez bezpośrednie oddziaływanie na polimerazę HBV hamują proces replikacji wirusa poprzez zatrzymanie etapu odwrotnej transkrypcji. Łączy je zdolność do przerywania procesu wydłużania nici HBV DNA. Zastosowanie lamiwudyny w miarę upływu czasu powoduje wystąpienie oporności HBV. Najczęstsza mutacja dotyczy motywu YMDD w aktywnym fragmencie polimerazy HBV. Pojawienie się mutantów nasila replikację HBV i postęp zmian zapalno-martwiczych w tkance wątroby. Według Polskiej Grupy Ekspertów HBV w terapii preferuje się entekawir (ETV) lub tenofowir (TDF), które mają większy potencjał tłumienia replikacji HBV. Do leczenia AN szczególnie kwalifikują się pacjenci:

- z przeciwwskazaniami do interferonu,
- HBeAg (-),
- z HBV-DNA > 10⁷ IU/ml,
- immunoniekompetentni,
- z niewyrównaną chorobą wątroby.

Czas leczenia nie powinien być krótszy niż 48 tygodni. Po 5 latach leczenia entekawirem wykazano, że w 94% przypadków HBV-DNA jest poniżej 300 kopii/ml, a w 80% AlAT jest w normie (Chang i wsp., 2010). Częstość mutacji powodujących oporność na entekawir osiąga po 6 latach 1,2 % (Tenney i wsp., 2009). Z kolei w badaniach przeprowadzonych przez Marcellin i wsp. wykazano, że po 48 tygodniach leczenia tenofowirem pacjentów HBeAg-ujemnych, 93% ma HBV-DNA poniżej 400 kopii/ml, a 54% uzyskuje normalizację AlAT (Marcellin i wsp., 2008). Dotychczas nie wykryto oporności na tenofowir.

2. CEL

Celem rozprawy doktorskiej jest retrospektywna analiza objawów klinicznych, wyników badań obrazowych i laboratoryjnych oraz leczenia u pacjentów z rozpoznany przewlekłym zakażeniem HBV nabytym w dzieciństwie.

Celami szczegółowymi są:

- ocena wpływu wieku w momencie zakażenia na przebieg choroby z uwzględnieniem faz zakażenia HBV,
- ocena wpływu leczenia przeciwwirusowego na zmianę naturalnego przebiegu zakażenia HBV.

3. MATERIAŁ I METODY

3.1. Materiał

Źródłem informacji do rozprawy są dane pozyskane z dokumentacji medycznej (kartotek) 79 pacjentów Poradni Wirusowego Zapalenia Wątroby Wielospecjalistycznego Szpitala Miejskiego im. Józefa Strusia z Zakładem Opiekuńczo-Lecznym SPZOZ w Poznaniu. Kierownikiem wyżej wymienionej Poradni jest dr Iwona Bereszyńska.

Do badania zakwalifikowano pacjentów, którzy spełniali wszystkie niżej wymienione kryteria:

- rozpoznane przewlekłe zakażenie HBV,
- wykrycie zakażenia HBV w okresie do 18. roku życia oraz ustalenie z dokładnością do 1 roku momentu zakażenia,
- wykonanie przynajmniej raz w okresie do 18. roku życia jak i po 18. roku życia badania klinicznego (wywiad i badanie fizykalne), oznaczenie poziomu bilirubiny i aktywności aminotransferaz oraz wykonanie badania obrazowego (USG lub KT jamy brzusznej).

Retrospektywnej analizie poddano następujące dane pacjentów:

- aktualny wiek,
- wiek, w którym doszło do zakażenia HBV,
- płeć,
- zgłaszane dolegliwości,
- odchylenia w badaniu przedmiotowym mogące mieć związek z chorobą wątroby,
- wiremię HBV-DNA,
- badania serologiczne HBeAg i anty-HBe,
- badania biochemiczne (bilirubina, AlAT, AspAT),
- wyniki badań histopatologicznych wątroby i/lub elastograficznych wątroby,
- wyniki badań obrazowych (ultrasonografia, ew. tomografia komputerowa jamy brzusznej),
- rodzaj stosowanej terapii przeciwwirusowej.

3.2. Metody

Jako kryterium rozpoznania przewlekłego zakażenia HBV przyjęto utrzymywanie się antygenu HBs lub dodatni wynik HBV-DNA powyżej sześciu miesięcy od momentu infekcji.

Za wiek, w którym doszło do zakażenia HBV uznano moment, w którym pacjent miał rozpoznane owzwB lub wystąpił w jego życiu istotny czynnik ryzyka mogący doprowadzić do wyżej wymienionej infekcji np. przetoczenie krwi lub preparatów krwiopochodnych, hospitalizacja powyżej miesiąca lub liczne hospitalizacje (min. 3 razy w jednym roku), dodatni antygen HBs stwierdzany u matki (transmisja wertykalna), ryzykowne zachowania, itp.

W przypadku oceny stanu klinicznego uwzględniono te objawy, stwierdzone w badaniu podmiotowym i przedmiotowym, które mogą mieć związek z chorobą wątroby. Pod uwagę brano przede wszystkim występowanie następujących symptomów zgłaszanych w badaniu podmiotowym:

- ból brzucha,
- nudności,
- zgaga,
- osłabienie,
- świąd skóry,
- odbijania,

oraz stwierdzanych w badaniu przedmiotowym:

- powiększenie wątroby, śledziona,
- pajączki naczyniowe,
- rumień dłoniowy,
- obrzęki,
- wodobrzusze.

Wiremię HBV-DNA oznaczano z wykorzystaniem różnych metod. Najczęściej stosowanymi były: test Amplitect NA Detection Systems, test RoboGene Quantification of Hepatitis B Virus (HBV) Genomes oraz test INNO-LiPa HBV DRv2 Innogenetics.

HBV-DNA podawany w jednostkach pg/ml lub kopiach/ml przekonwertowano do IU/ml według następującego wzoru:

$HBV-DNA\ 20000IU/ml=100000kopp/ml=0,35pg/ml$ (Hwang i wsp., 1996).

Badania serologiczne HBsAg, HBeAg oraz anty-HBe oznaczano najczęściej z wykorzystaniem testu immunochemicznego z użyciem mikrocząstek i znacznika chemiluminescencyjnego ARCHTECT Qualitative II.

Wyniki badań biochemicznych: bilirubiny, AlAT i AspAT oznaczano w różnych laboratoriach przy pomocy rutynowo stosowanych metod. Aktualnie poziom bilirubiny oznaczany jest z wykorzystaniem metody kolorymetrycznej z dializowanym kwasem sulfanilowym i innymi akceleratorami, natomiast aktywność AlAT i AspAT oznaczano przy pomocy metody kinetycznej z NADH i buforem tris.

Wyniki badań histopatologicznych wątroby były podawane w skali METAVIR uwzględniającej zaawansowanie zmian zapalnych (G0-G3) i włóknienia (S0-S4) lub według niefunkcjonującej już nomenklatury oceniającej kryteria morfologiczne (łac. *hepatitis chronica activa* - HCA, lac. *hepatitis chronica persistens* - HCP).

Do nieinwazyjnej oceny stopnia zaawansowania włóknienia wątroby metodą elastograficzną, u niektórych pacjentów, użyto urządzenia FibroScan. Urządzenie to, poprzez pomiar prędkości wygenerowanej fali ultradźwiękowej, mierzy szybkość jej rozchodzenia się w tkance wątroby, która jest wprost proporcjonalna stopnia zaawansowania włóknienia wątrobie. Ostateczny wynik podawany jest w stopniach włóknienia (F0-F4) według skali METAVIR.

Podczas oceny wyników badań obrazowych (ultrasonografia i/lub tomografia komputerowa jamy brzusznej) uwzględniono dane dotyczące wielkości, echogeniczności, struktury i zmian ogniskowych wątroby, wielkości śledziony, patologii układu wrotnego. Badania obrazowe były przeprowadzane w różnych pracowniach i w różnym czasie przy pomocy aktualnie dostępnej, rutynowo stosowanej aparatury.

Wszystkie dane zmienne dotyczące badanej grupy umieszczono w bazie danych uwzględniającej rok życia, w której zostały zaobserwowane.

Badanych podzielono na 4 grupy (1.-4.) w zależności od okresu życia, w którym doszło do zakażenia HBV. Podział ten jest zbliżony do zaproponowanego przez Marię Żebrowską (Żebrowska, 1976), w którym Autorka wyróżnia następujące okresy: niemowlęstwo (pierwszy rok życia), wiek poniemowlęcy (od 1 do 3 lat), wiek przedszkolny (od 3 do 7 lat), młodszy wiek szkolny (od 7 do 11-12 lat), wiek dorastania (od 11-12 do 17-18 lat).

W ten sposób wyróżniono:

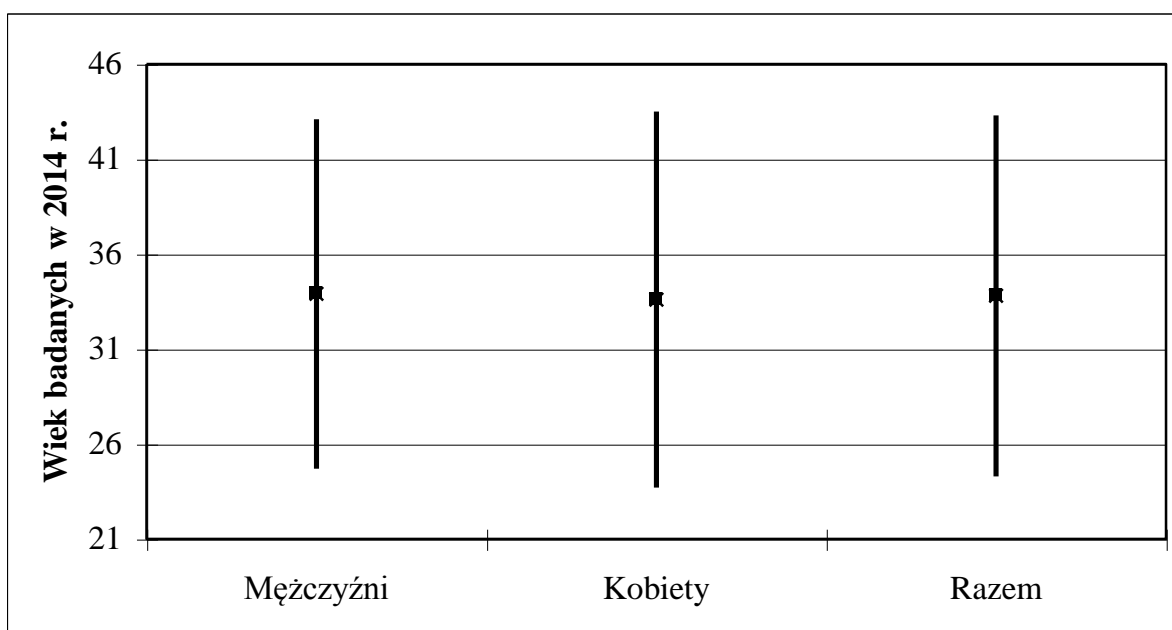
- grupę 1. – pacjenci, u których do zakażenia doszło w 1. roku życia,
- grupę 2. – pacjenci, u których do zakażenia doszło pomiędzy 2. a 6. rokiem życia,
- grupę 3. – pacjenci, u których do zakażenia doszło pomiędzy 7. a 12. rokiem życia,
- grupę 4. – pacjenci, u których do zakażenia doszło pomiędzy 13. a 18. rokiem życia.

W poszczególnych grupach przeprowadzono analizę danych zmiennych z uwzględnieniem leczenia przeciwwirusowego w okresie dzieciństwa wykorzystując metody statystyki opisowej. Dla porównania danych kategoryalnych użyto testu Chi-kwadrat, dokładnego testu Fishera, testu McNemara, testu dla jednej proporcji. Do porównania rozkładu cech w poszczególnych grupach użyto testu Manna-Whitneya. Za poziom istotności arbitralnie uznano wartości dla $p < 0,05$. Obliczenia wykonano przy pomocy arkusza kalkulacyjnego MS Excel pakietu MS Office 2000 oraz programu STATISTICA 10.

4. WYNIKI

4.1. Liczebność, wiek i płeć badanych

Do badania zakwalifikowano 79 pacjentów, którzy ulegli zakażeniu HBV w okresie do ukończenia 17. roku życia i nadal mają dodatni wynik HBsAg. Grupę włączonych do analizy stanowiło 47 (59,5%) mężczyzn i 32 (40,5%) kobiety. W 2014 roku średnia wieku wszystkich chorych wynosiła $33,8 \pm 9,5$ lat, z czego średnia wieku kobiet wynosi $33,6 \pm 9,9$ lat, a mężczyzn $33,9 \pm 9,2$ lat. Zarówno najmłodszy mężczyzna jak i kobieta, w dniu zakończenia obserwacji, mieli po 21 lat, a najstarszy mężczyzna i kobieta mieli po 50 lat. Nie wykazano statystycznie istotnej różnicy pomiędzy wiekiem kobiet i mężczyzn. Średni wiek (w 2014 roku) z podziałem na kobiety i mężczyzn przedstawia rycina 6.



Rycina 6. Wykres przedstawiający średni wiek grupy badanej, w tym kobiet i mężczyzn w momencie zakończenia obserwacji (w 2014 roku).

4.2. Moment zakażenia

Na podstawie danych z dokumentacji ustalono z dokładnością do jednego roku moment zakażenia HBV u każdego pacjenta włączonego do badania. Liczbę chorych, ich płeć oraz wiek zakażenia przedstawia tabela 2.

Tabela 2. Liczbowy wykaz pacjentów z uwzględnieniem wieku w momencie zakażenia HBV.

Wiek w którym doszło do zakażenia HBV	Liczba pacjentów		
	Mężczyźni	Kobiety	Razem
1. r.ż. (noworodkowy)	3	4	7
1. r.ż. (niemowlęcy)	1	0	1
2 r.ż.	3	1	4
3. r.ż.	1	4	5
4. r.ż.	1	3	4
5. r.ż.	2	0	1
6. r.ż.	2	1	4
7. r.ż.	1	1	2
8. r.ż.	1	3	4
9. r.ż.	1	0	1
10. r.ż.	4	0	4
11. r.ż.	0	2	2
12. r.ż.	3	1	4
13. r.ż.	4	1	5
14. r.ż.	5	1	6
15. r.ż.	6	2	8
16. r.ż.	3	4	7
17. r.ż.	6	4	10

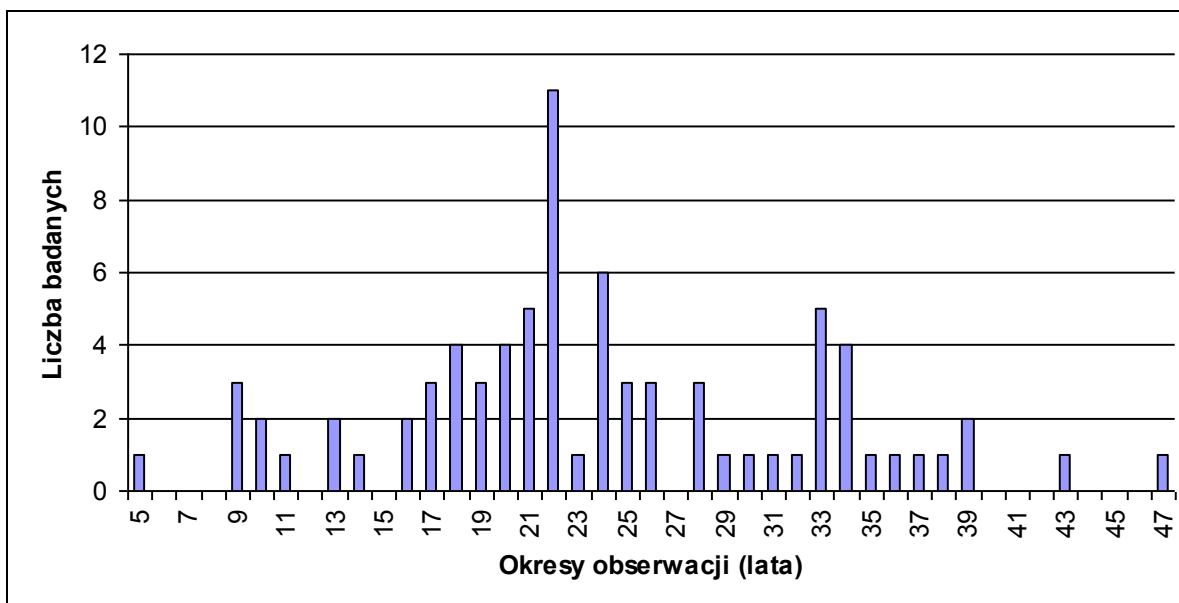
W zależności od okresu życia, w którym doszło do zakażenia przydzielono badanych do poszczególnych czterech grup, zgodnie ze zmodyfikowanym podziałem wg Żebrowskiej. Liczbę chorych, z podziałem na płeć, przynależnych do poszczególnych grup przedstawia tabela 3.

Tabela 3. Liczba pacjentów, u których doszło do zakażenia HBV w poszczególnym okresie życia.

Grupa	Okres życia, w którym doszło do zakażenia (zakres lat)	Liczba chorych		
		Chłopcy	Dziewczynki	Razem
1.	Noworodkowy i niemowlęcy (do 1. r.ż.)	4	4	8
2.	Dzieciństwo (2.-6. r.ż.)	9	9	18
3.	Szkolny (7.-12. r.ż.)	10	7	17
4.	Młodzież nastoletnia (13.-18. r.ż.)	24	12	36

4.3. Okres obserwacji

Okresem obserwacji nazwano długość czasu od momentu zakażenia do momentu ukończenia badania, czyli 2014 roku. Wyliczono ją odejmując od wieku chorego w 2014 roku wiek, w którym doszło do zakażenia HBV. Uznano, że okres obserwacji jest jednoznaczny z długością zakażenia. Wykres zależności liczby badanych od długości obserwacji przedstawia rycina 7.



Rycina 7. Wykres przedstawia liczbę badanych w stosunku do czasu obserwacji.

Najdłuższy okres obserwacji wynosił 47 lat, a najkrótszy 5 lat. Średnia wynosiła $23,8 \pm 8,5$ lat.

4.4. Analiza przebiegu zakażenia HBV w wybranych grupach

4.4.1. Grupa badanych, u których do zakażenia doszło w 1. roku życia (grupa 1.)

W grupie 1. znalazło się osiem osób, odpowiednio 4 mężczyzn (50%) i 4 kobiety (50%). Czas od momentu zakażenia HBV do momentu jego wykrycia wynosił minimalnie pół roku, a maksymalnie 6 lat, średnio $1,7 \pm 1,9$ roku.

Okres obserwacji, czyli długość czasu od momentu wykrycia zakażenia HBV do momentu ostatniej oceny wynosił minimalnie 15 lat, a maksymalnie 34 lata (średnio $23 \pm 6,8$ lata).

4.4.1.1. Faza zakażenia HBV w momencie wykrycia

Na podstawie wyników badań biochemicznych (aktywności aminotransferaz), serologicznych (układu „e”) i molekularnych (wiremia HBV), ustalono w jakiej fazie zakażenia byli pacjenci w momencie wykrycia HBV. Powyższą obserwację prezentuje tabela 4.

Tabela 4. Liczba pacjentów grupy 1. będących w określonej fazie zakażenia HBV.

Faza zakażenia HBV	Liczba pacjentów		
	mężczyźni	kobiety	razem
Tolerancji immunologicznej	3	3	6
Klirensu immunologicznego	1	1	2
Kontroli immunologicznej	0	0	0
Reaktywacji zakażenia	0	0	0

Z powyższej obserwacji wynika, że w fazie tolerancji immunologicznej było 75%, a w fazie klirensu immunologicznego pozostałe 25% badanych. Wykazano statystycznie istotną różnicę w częstości występowania poszczególnych faz zakażenia HBV w momencie wykrycia infekcji ($p=0,0074$).

4.4.1.2. Leczenie przeciwwirusowe

100% badanych tej grupy miało zastosowane leczenie przeciwwirusowe. Pięć osób (62,5%) było już leczonych w okresie do 18. roku życia. Wszyscy chorzy w okresie dorosłości otrzymali kurację przeciwwirusową. Rodzaj zastosowanego leku przeciwwirusowego u poszczególnych badanych przedstawia tabela 5.

Tabela 5. Rodzaj zastosowanych leków przeciwwirusowych u pacjentów grupy 1.

Lp. (kolejny pacjent)	Rodzaj zastosowanego preparatu	
	do 18. roku życia	po 18. roku życia
1	interferon	entekawir
2	nie leczono	entekawir
3	lamiwudyna	pegylowany interferon entekawir
4	nie leczono	lamiwudyna entekawir
5	nie leczono	entekawir
6	interferon	pegylowany interferon entekawir
7	interferon	lamiwudyna entekawir
8	interferon lamiwudyna	lamiwudyna entekawir

Nie wykazano statystycznie istotnej różnicy w częstości zastosowania leczenia przeciwwirusowego przed i po 18. roku życia ($p=0,25$).

4.4.1.3. Objawy kliniczne

Trzech, spośród ośmiu badanych (37,5%), miało objawy kliniczne sugerujące związek z chorobą wątroby, dotyczyło to całego okresu obserwacji. U 2 na 3 pacjentów objawy pod postacią braku apetytu i splenomegalii wystąpiły w okresie dzieciństwa. Z kolei u jednego mężczyzny pojawiły się nudności w 34. roku życia. Objawy te wystąpiły jeszcze przed wdrożeniem jakiegokolwiek leczenia przeciwwirusowego, natomiast nie były już zgłaszane i obserwowane po leczeniu. Nie wykazano statystycznie istotnej różnicy w częstości występowania objawów klinicznych przed i po 18 roku życia ($p=1,0$).

4.4.1.4. Wyniki badań laboratoryjnych

4.4.1.4.1. Bilirubina

U wszystkich badanych grupy 1. stężenia bilirubiny były w zakresie wartości referencyjnych.

4.4.1.4.2 Aminotransferazy alaninowa i asparaginianowa, wiremia HBV oraz układ „e”

Zmiany wartości aktywności aminotransferaz, logarytmu wirerii HBV oraz parametrów układu „e” z uwzględnieniem okresów leczenia przeciwwirusowego u badanych grupy 1. w przedziale czasowym przedstawia rycina 8.

Dwoje pacjentów (25%) miało w momencie wykrycia zakażenia HBV podwyższone aktywności aminotransferaz (2,5-7 razy norma), wyniki AlAT i AspAT pozostałych 80% badanych nie przekraczały górnej granicy normy.

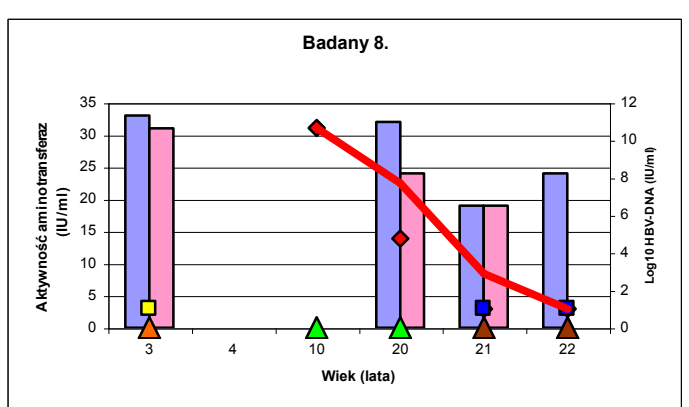
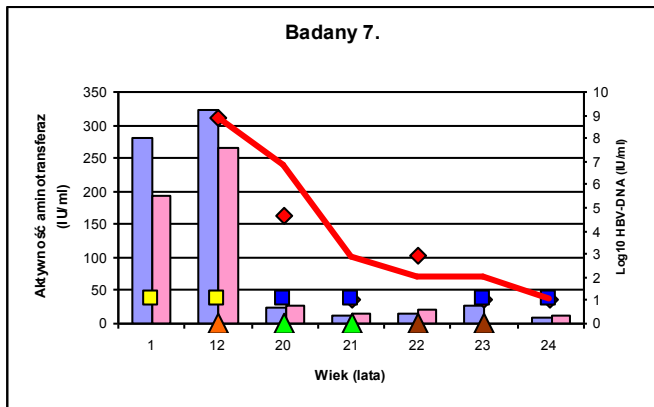
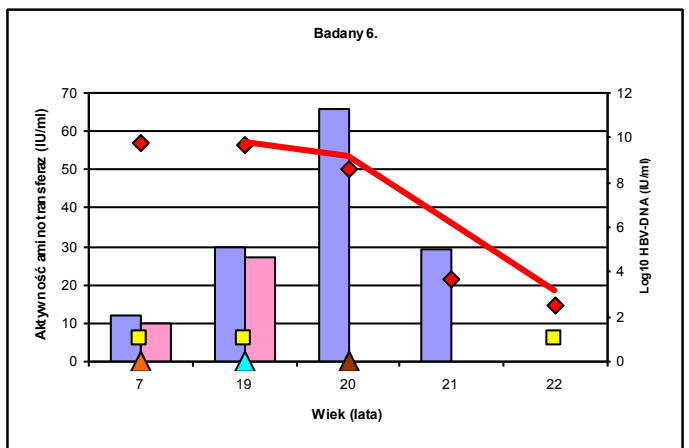
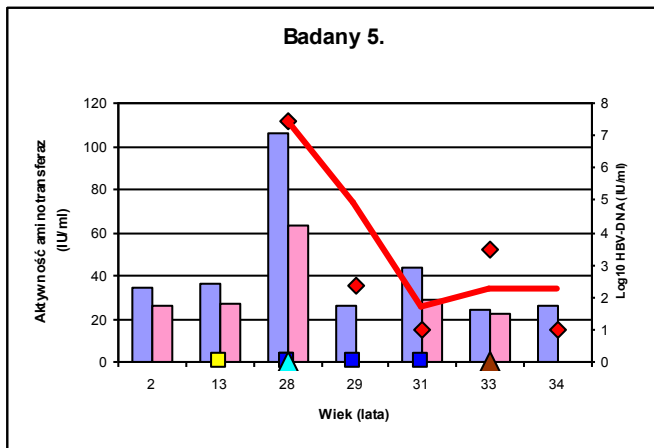
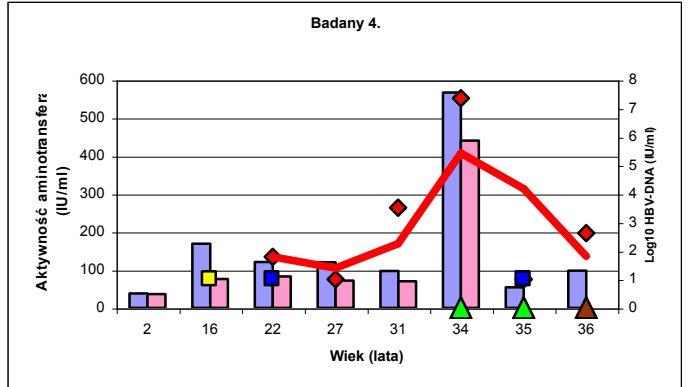
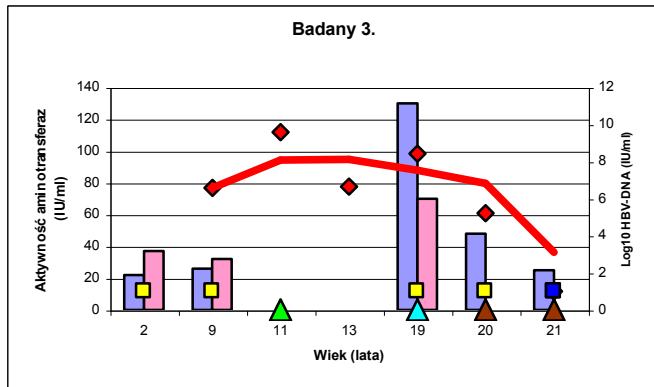
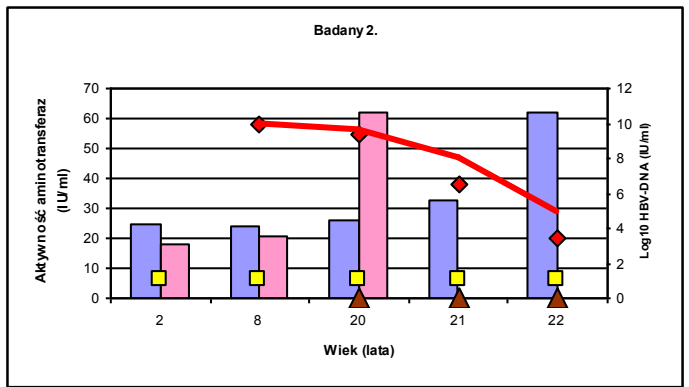
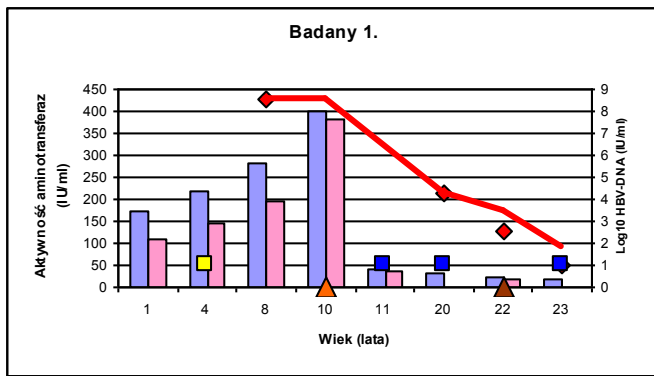
Niektórzy pacjenci w chwili rozpoznania zakażenia mieli wykonane badania HBV-DNA i układu „e” – stwierdzono u nich dodatni antygen HBe oraz wiramię HBV powyżej 10^7 IU/ml.

3 spośród 8 badanych (37,5%) nie miało wdrożonego leczenia przeciwwirusowego w okresie do momentu osiągnięcia wieku dorosłego. U 2 z tych pacjentów faza tolerancji immunologicznej utrzymywała się odpowiednio do około 16. i 28. roku życia, wówczas zaobserwowano wzrost aktywności aminotransferaz i serokonwersję w układzie „e”. U pozostałego 1 pacjenta w 20. roku życia

zaobserwowano jedynie wzrost aktywności AspAT, nie zauważono zaniku antygenu HBe, jednakże z powodu utrzymującej się wiremii HBV powyżej 10^9 IU/ml chory otrzymał leczenie przeciwwirusowe.

5 spośród 8 badanych (62,5%) miało wdrożone leczenie w okresie dzieciństwa. Dwoje z tych chorych, którzy byli w fazie klirensu immunologicznego w chwili rozpoznania zakażenia HBV, leczono preparatami interferonu po około 10 latach od momentu wykrycia choroby. Do tego czasu u obu tych pacjentów obserwowano istotny wzrost aktywności aminotransferaz. Pozostałych trzech badanych, będących w fazie tolerancji immunologicznej w chwili wykrycia zakażenia HBV poddano leczeniu przeciwwirusowemu odpowiednio w 7., 10. i 11. roku życia. Pacjenta, którego poddano kuracji w 11. roku życia cechował do tego momentu wzrost wiremii HBV o 2 logarytmy w porównaniu do ostatniego badania wykonanego 2 lata wcześniej. Z kolei pacjenta, którego poddano leczeniu w 10. roku życia nie można było poddać analizie z powodu braku kontrolnych badań w dokumentacji medycznej.

Pacjenci leczeni przeciwwirusowo w okresie dzieciństwa otrzymali w 3 przypadkach preparat interferonu, w 1 przypadku lamiwudynę i w 1 przypadku najpierw interferon, a następnie lamiwudynę. Interferon otrzymało dwóch chorych, którzy w momencie wykrycia zakażenia byli w fazie klirensu immunologicznego. U tych pacjentów, po wyżej wymienionym leczeniu, zaobserwowano obniżenie się aktywności aminotransferaz do wartości referencyjnych, istotny spadek wiremii HBV oraz serokonwersję HBeAg do anty-HBe. U pozostałych 3 chorych, będących w momencie wykrycia zakażenia w fazie tolerancji immunologicznej, zastosowano odpowiednio lamiwudynę, interferon oraz najpierw interferon, a następnie lamiwudynę. Badany, który otrzymał lamiwudynę miał spadek wiremii HBV o około 3 logarytmy (brak danych odnośnie zmian w zakresie aktywności aminotransferaz), natomiast utrzymywała się obecność antygenu HBe. U chorego, który był leczony interferonem nie zaobserwowano istotnych zmian w zakresie wiremii HBV, aktywności aminotransferaz i układu HBeAg/anty-HBe. Ostatni z tych chorych, po leczeniu interferonem, a następnie lamiwudyną dokonał serokonwersji HBeAg do anty-HBe oraz miał istotny spadek wiremii.



Legenda

- ALT (IU/ml)
- AspAT (IU/ml)
- Log10 HBV-DNA (IU/ml)
- HBeAg
- anty-HBe
- ▲ IFN
- ▲ LAM
- ▲ PegIFN
- ▲ ETV

Rycina 8. Zmiany wartości aktywności aminotransferaz, logarytmu wirerii HBV oraz parametrów układu „e” z uwzględnieniem okresów leczenia przeciwwirusowego u badanych z grupy 1.

4.4.1.5 Wyniki badań obrazowych oraz badań histopatologicznych wątroby

Wszyscy pacjenci grupy 1. mieli wykonane badania obrazowe jamy brzusznej (w przeważającej większości badanie ultrasonograficzne).

Tylko u jednego pacjenta (12,5%) w wieku dziecięcym stwierdzono patologię w badaniu USG jamy brzusznej pod postacią powiększenia śledziony. Dotyczy to badanego, który w momencie rozpoznania znajdował się w fazie klirensu immunologicznego. Natomiast w okresie dorosłości odchylenia w badaniu USG jamy brzusznej stwierdzono u 3 chorych (37,5%). Dotyczy to badanych, którzy w momencie rozpoznania zakażenia HBV byli w fazie tolerancji immunologicznej, ale też nie byli leczeni preparatami interferonu w wieku dziecięcym. U jednego z nich w 33. roku życia zaobserwowano ziarnistą echogeniczność miąższu wątroby. Nie wykazano statystycznie istotnej różnicy w częstości występowania patologii w badaniu USG jamy brzusznej przed i po 18. roku życia ($p=0,6171$).

Sześciu badanych grupy 1. miało wykonaną biopsję wątroby, z czego połowa z nich dwukrotnie. U 2 pacjentów, którzy w chwili rozpoznania byli w fazie klirensu immunologicznego, w wykonanych bioptatach wątroby przeprowadzonych w okresie dzieciństwa stwierdzono zmiany zapalne trzeciego stopnia (G3). U pozostałych 4 chorych badanie histopatologiczne wątroby przeprowadzone w okresie dzieciństwa nie wykazało istotnej patologii (maksymalnie pierwszy stopień zmian zapalnych i włóknienia). Dwóch z nich miało wykonaną biopsję wątroby powyżej 18. roku życia. Dotyczy to badanych będących początkowo w fazie tolerancji immunologicznej. U jednego badanie histopatologiczne wykazało pierwszy stopień zmian zapalnych i włóknienia w wątrobie, a u drugiego z nich zauważono drugi stopień zmian zapalnych i włóknienia.

4.4.2. Grupa badanych, u których do zakażenia doszło od 2 do 6 roku życia (grupa 2.)

W grupie 2. znalazło się osiemnaście osób, odpowiednio 9 mężczyzn (50%) i 9 kobiet (50%). Czas od momentu zakażenia HBV do momentu jego wykrycia wynosił minimalnie pół roku, a maksymalnie 4 lata, średnio $1,5 \pm 1,3$ roku.

Okres obserwacji, czyli długość czasu od momentu wykrycia zakażenia HBV do momentu ostatniej oceny wynosił minimalnie 16 lat, a maksymalnie 45 lat (średnio $22 \pm 7,9$ lat).

4.4.2.1. Faza zakażenia HBV w momencie wykrycia

Na podstawie wyników badań biochemicznych (aktywności aminotransferaz), układu „e” i molekularnych (wiremia HBV) ustalono, w jakiej fazie zakażenia byli pacjenci w momencie wykrycia HBV. Powyższą obserwację prezentuje tabela 6.

Tabela 6. Liczba pacjentów grupy 2. będących w określonej fazie zakażenia HBV.

Faza zakażenia HBV	Liczba pacjentów		
	mężczyźni	kobiety	razem
Tolerancji immunologicznej	5	2	7
Klirensu immunologicznego	3	4	7
Kontroli immunologicznej	1	3	4
Reaktywacji zakażenia	0	0	0

Z powyższej obserwacji wynika, że w fazie tolerancji immunologicznej i w fazie klirensu immunologicznego było po 38,9% pacjentów, a w fazie kontroli immunologicznej pozostałych 22,2% badanych. Zwraca uwagę fakt, że w momencie wykrycia zakażenia HBV fazę tolerancji immunologicznej miało nieco ponad dwukrotnie więcej osób płci męskiej niż kobiet, natomiast fazę kontroli immunologicznej miało trzykrotnie więcej dziewczynek niż chłopców. Nie wykazano statystycznie istotnej różnicy w częstości występowania poszczególnych faz zakażenia HBV w momencie wykrycia infekcji ($p=0,0620$).

4.4.2.2. Leczenie przeciwwirusowe

14/18 badanych tej grupy (77,8%) miało zastosowane leczenie przeciwwirusowe w okresie dorosłości. 10 z nich (71,4%) było już leczonych w okresie do 18. roku życia. Rodzaj zastosowanego leku przeciwwirusowego u poszczególnych badanych przedstawia tabela 7.

Tabela 7. Rodzaj zastosowanych leków przeciwwirusowych u pacjentów grupy 2.

Lp. (kolejny pacjent)	Rodzaj zastosowanego preparatu	
	do 18. roku życia	po 18. roku życia
1.	nie leczono	lamiwudyna entekawir
2.	interferon	lamiwudyna lamiwudyna+adefowir entekawir
3.	lamiwudyna	lamiwudyna entekawir
4.	lamiwudyna entekawir	entekawir
5.	nie leczono	lamiwudyna entekawir
6.	interferon	entekawir
7.	nie leczono	nie leczono
8.	interferon lamiwudyna	entekawir
9.	nie leczono	lamiwudyna entekawir
10.	nie leczono	entekawir
11.	nie leczono	nie leczono
12.	nie leczono	nie leczono
13.	interferon	entekawir
14.	interferon lamiwudyna	entekawir
15.	interferon	entekawir
16.	interferon	lamiwudyna entekawir
17.	interferon	interferon lamiwudyna entekawir
18.	nie leczono	nie leczono

Nie wykazano statystycznie istotnej różnicy w częstości zastosowania leczenia przeciwwirusowego przed i po 18. roku życia ($p=0,1336$).

4.4.2.3. Objawy kliniczne

Czterech spośród osiemnastu badanych (22,2%) miało objawy kliniczne mogące mieć związek z chorobą wątroby w trakcie całego okresu obserwacji. Objaw pod postacią przewlekłego bólu brzucha wystąpił u jednego chłopca i jednej dziewczynki w okresie dzieciństwa. Objawy te wystąpiły jeszcze przed wdrożeniem jakiegokolwiek leczenia przeciwwirusowego, a nie były już zgłaszane i obserwowane po leczeniu. Z kolei u jednego mężczyzny pojawiły się kliniczne objawy marskości wątroby w 19. roku życia, a u jednej kobiety od 38. roku życia obserwowano ból brzucha. Nie wykazano statystycznie istotnej różnicy w częstości występowania objawów klinicznych przed i po 18. roku życia ($p=0,6171$).

4.4.2.4. Wyniki badań laboratoryjnych

4.4.2.4.1. Bilirubina

U znacznej większości badanych grupy 2. (89%) nie było istotnego wzrostu stężenia bilirubiny w trakcie całego okresu obserwacji. U tych pacjentów poziomy bilirubiny zawsze były w zakresie wartości referencyjnych. U pozostałych 2 chorych (11%) obserwowano stężenie bilirubiny ok. 2 razy powyżej normy. Dotyczyło to 1 chłopca w 5. roku życia, który był w fazie klirensu immunologicznego i 1 mężczyzny, u którego w 19. roku życia rozpoznano marskość wątroby.

4.4.2.4.2. Aminotransferazy alaninowa i asparaginianowa, wiremia HBV oraz układ „e”

Zmiany wartości aktywności aminotransferaz, logarytmu wiremii HBV oraz parametrów układu „e” z uwzględnieniem okresów leczenia przeciwwirusowego u badanych grupy 2. w przedziale czasowym przedstawia rycina 9.

Siedmiu pacjentów (38,9%) miało w momencie wykrycia zakażenia HBV podwyższone aktywności aminotransferaz (2-6 razy norma), wyniki AlAT i AspAT pozostałych 61,1% badanych nie przekraczały górnej granicy normy.

Niektórzy pacjenci w chwili rozpoznania zakażenia mieli wykonane badania HBV-DNA i układu „e”. 14 na 16 pacjentów (87,5%) w chwili rozpoznania zakażenia miało stwierdzony dodatni antygen HBe. Wiremię HBV powyżej 10^7 IU/ml

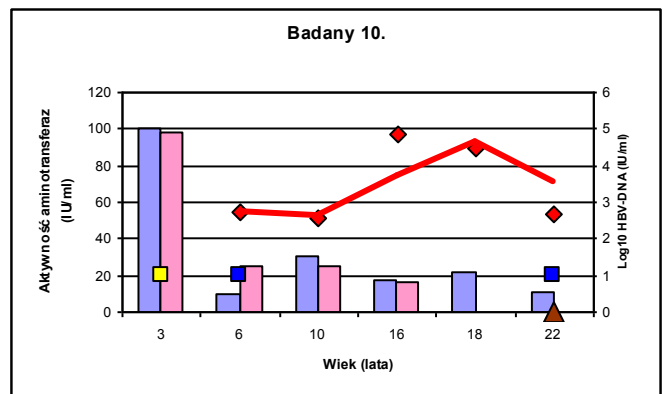
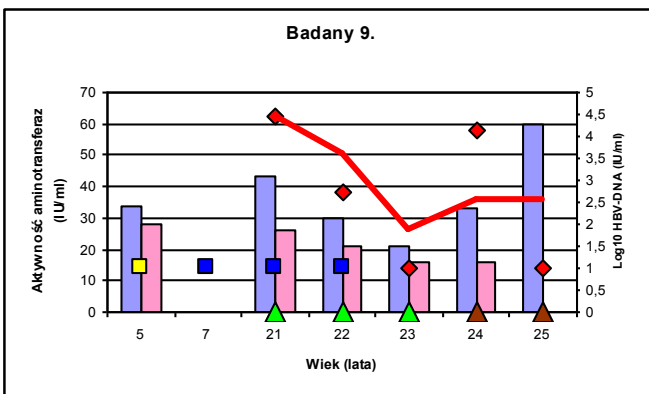
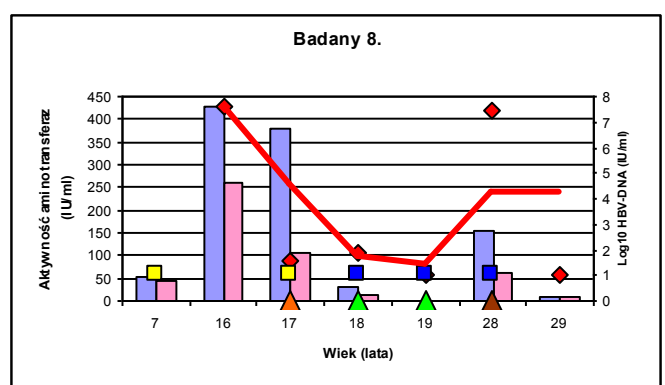
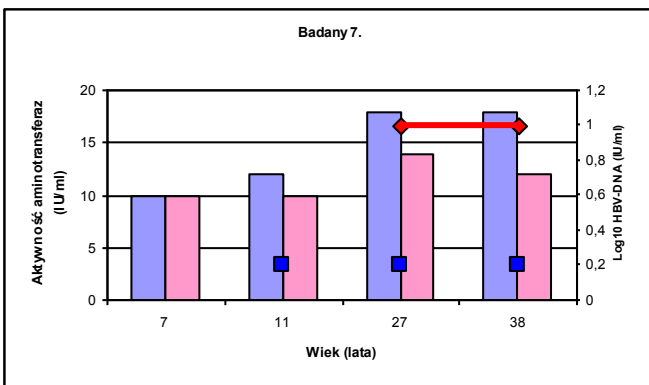
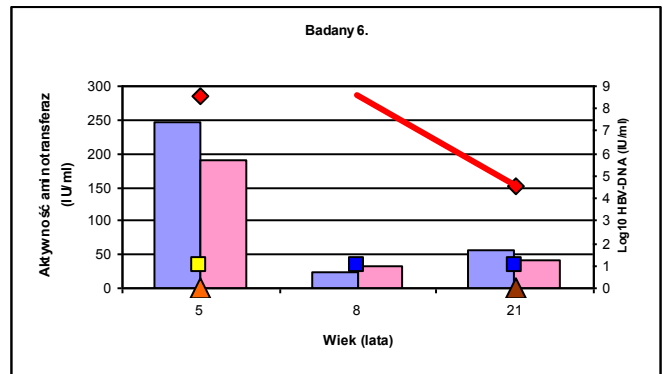
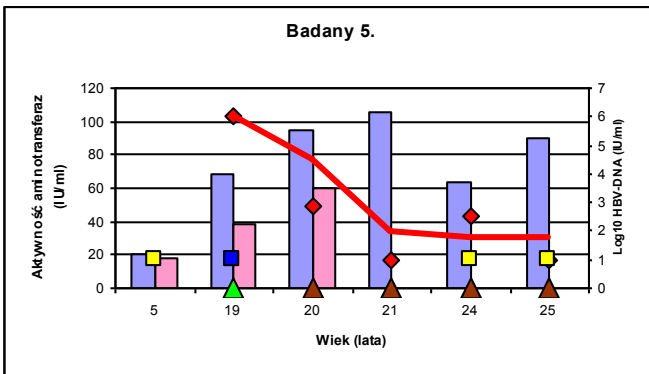
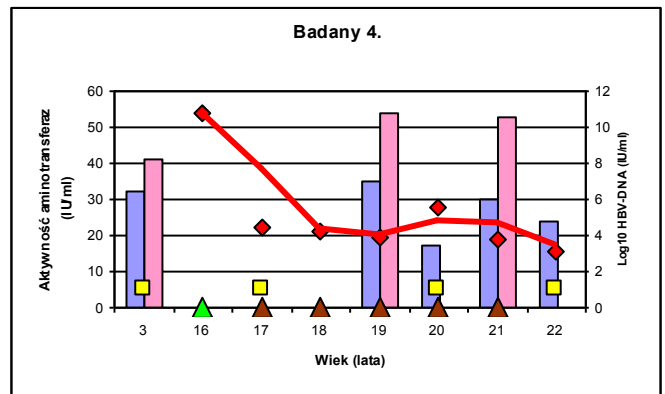
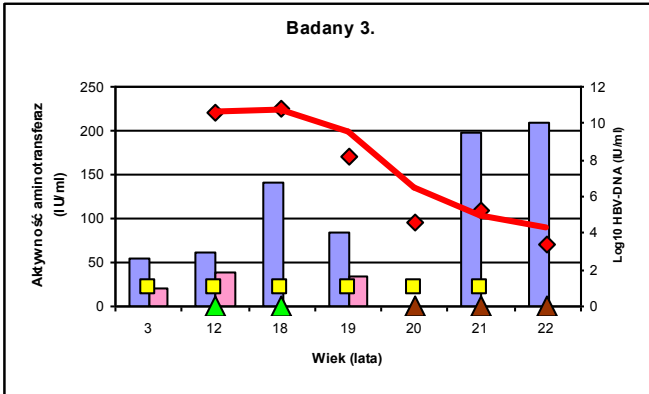
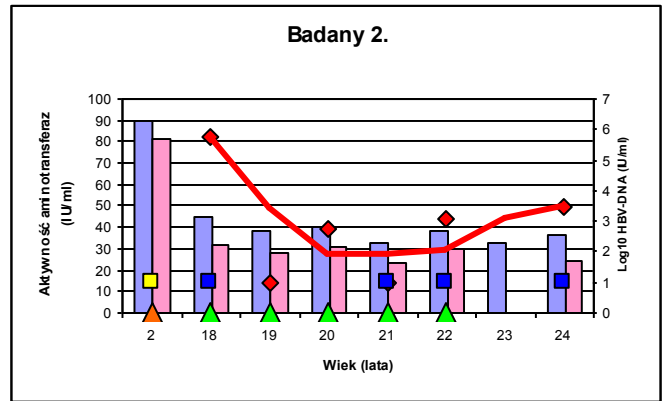
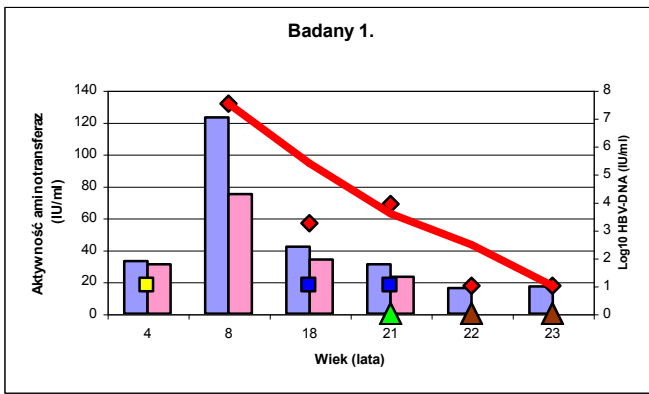
prezentowało 2 chorych, jedna dziewczynka miała oznaczony HBV-DNA już po rozpoczęciu leczenia interferonem. U 2 z 16 badanych (12,5%) stwierdzono dodatnie przeciwciała anti-HBe, wiremia HBV u żadnego z tych pacjentów nie była oznaczana.

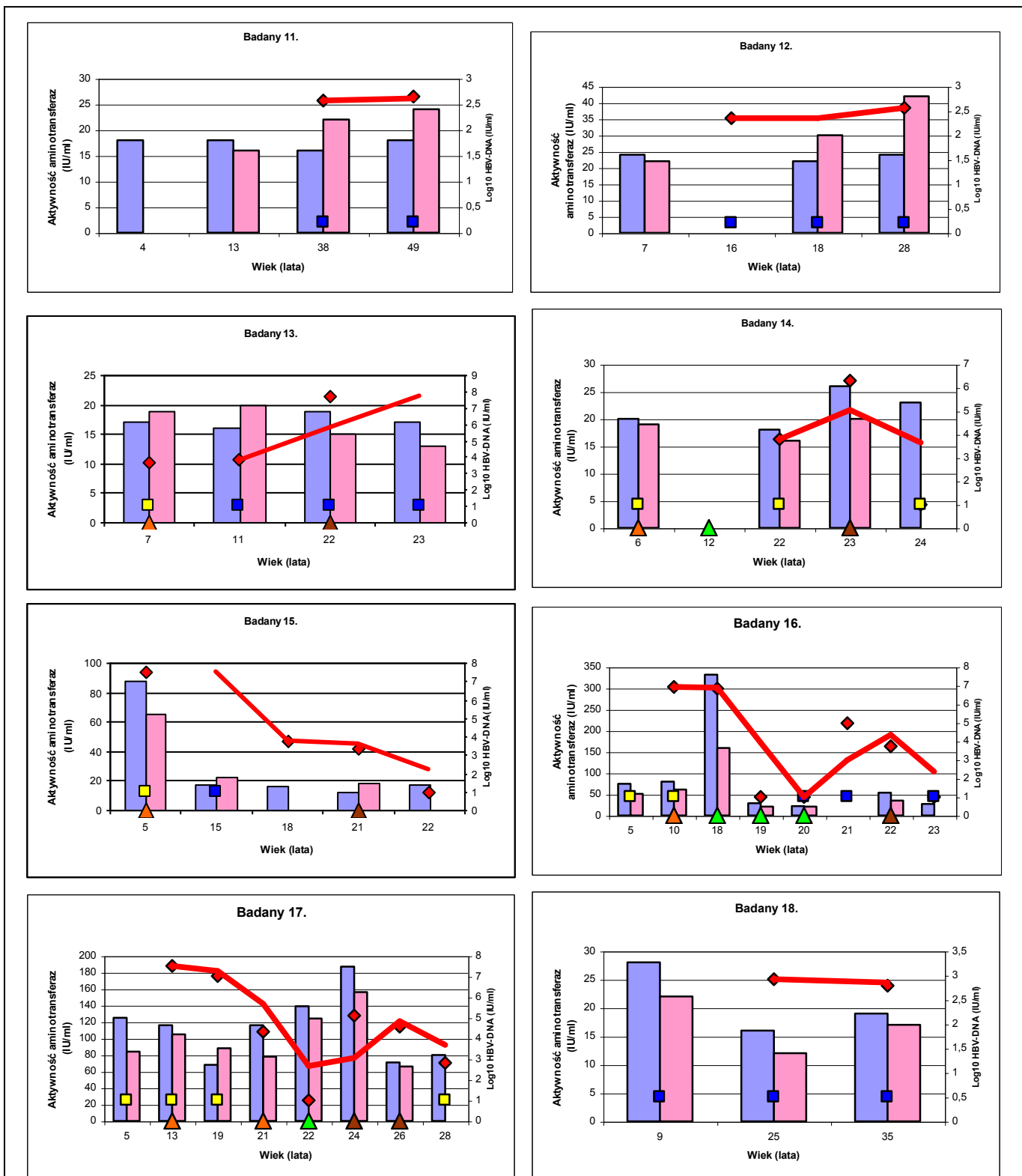
8 spośród 18 badanych (44,4%) nie miało wdrożonego leczenia przeciwwirusowego w okresie do momentu osiągnięcia wieku dorosłego. 3 z tych pacjentów było w fazie tolerancji immunologicznej w momencie rozpoznania zakażenia HBV. Faza tolerancji immunologicznej utrzymywała się odpowiednio do około 7., 18. i 19. roku życia, wówczas zaobserwowano wzrost aktywności aminotransferaz (do 2 razy powyżej górnej granicy normy) i serokonwersję w układzie „e”. Jedna chora, będąca w fazie klirensu immunologicznego w momencie rozpoznania, dokonała samoistnej serokonwersji z HBeAg do anti-HBe po 4 latach od momentu zakażenia, nastąpiła normalizacja aktywności aminotransferaz oraz spadek wirerii HBV o ponad 4 logarytmy. U pozostałych 4 z 8 pacjentów, będących w fazie kontroli immunologicznej w momencie wykrycia infekcji HBV, nie zauważono, do momentu zakończenia obserwacji, wzrostu aktywności AlAT, AspAT, istotnych zmian poziomu HBV-DNA oraz zmiany statusu układu „e”.

10 spośród 18 badanych (55,6%) miało wdrożone leczenie w czasie dzieciństwa. Sześciu z tych chorych, którzy byli w fazie klirensu immunologicznego w chwili rozpoznania zakażenia HBV, leczono preparatami interferonu w tym samym roku życia (3 badanych) oraz odpowiednio po 5, 8 i 10 latach (po jednym badanym) od momentu wykrycia choroby. Do tego czasu u tych pacjentów, u których leczenie wdrożono później niż w okresie wykrycia, zauważono istotny wzrost aktywności aminotransferaz. Pozostałych czterech badanych będących w fazie tolerancji immunologicznej w chwili wykrycia zakażenia HBV, poddano leczeniu przeciwwirusowemu w tym samym roku życia (2 badanych) oraz odpowiednio po 9 i 13 latach. Pacjentów, których poddano leczeniu później niż w okresie wykrycia zakażenia nie można było poddać analizie z powodu braku kontrolnych badań w dokumentacji medycznej.

Pacjenci poddawani kuracji przeciwwirusowej w okresie dzieciństwa otrzymywali preparat interferonu (7 osób), w 1 przypadku lamiwudynę, w 1

przypadku najpierw interferon, a następnie lamiwudyne i w 1 przypadku najpierw lamiwudyne, a następnie entekawir. Interferon otrzymało sześciu chorych, którzy w momencie wykrycia zakażenia byli w fazie klirensu immunologicznego i 1 chory, który był w fazie tolerancji immunologicznej. U 6 z tych pacjentów, po wyżej wymienionym leczeniu, zaobserwowano obniżenie się aktywności aminotransferaz do wartości referencyjnych oraz serokonwersję HBeAg do anty-HBe, a u 1 (będącego początkowo w fazie klirensu immunologicznego) zauważono spadek wiremii, ale bez zmiany statusu układu „e”. U pozostałych 3 chorych, będących w momencie wykrycia zakażenia w fazie tolerancji immunologicznej, zastosowano odpowiednio lamiwudyne, interferon a następnie lamiwudyne oraz lamiwudyne, a następnie entekawir. Bazując na wynikach obserwowanych w okresie dorosłości można przypuszczać, że badany, który otrzymał lamiwudyne, nie odpowiedział na leczenie. U chorego, który był leczony interferonem, a następnie lamiwudyne, doszło do spadku wiremii bez serokonwersji w układzie „e”. Ostatni z tych chorych po leczeniu lamiwudyne, a następnie entekawirem też nie dokonał serokonwersji HBeAg do anty-HBe, ale miał istotny spadek wiremii.





Legenda

- AIAT (IU/ml)
- AspAT (IU/ml)
- ◆— Log10 HBV-DNA (IU/ml)
- HBeAg
- anti-HBe
- ▲ IFN
- ▲ LAM
- ▲ PegIFN
- ▲ ETV

Rycina 9. Zmiany wartości aktywności aminotransferaz, logarytmu wirerii HBV oraz parametrów układu „e” z uwzględnieniem okresów leczenia przeciwwirusowego u badanych z grupy 2.

4.4.2.5. Wyniki badań obrazowych oraz badań histopatologicznych wątroby

Wszyscy pacjenci grupy 2. mieli wykonane badania obrazowe jamy brzusznej (w przeważającej większości badanie ultrasonograficzne).

Tylko u 1 pacjenta (5,6%) w wieku dziecięcym, stwierdzono patologię w badaniu USG jamy brzusznej pod postacią powiększonej wątroby. Dotyczy to badanego, który w momencie rozpoznania znajdował się w fazie klirensu immunologicznego. Natomiast w okresie dorosłości odchylenia w badaniu USG jamy brzusznej stwierdzono u 6 chorych (33,3%). Dotyczy to badanych, którzy w momencie rozpoznania zakażenia HBV byli w różnych fazach zakażenia, a 5 z nich nie było leczonych żadnymi preparatami przeciwwirusowymi do 16. roku życia. U jednego z nich, w 19. roku życia stwierdzono cechy marskości wątroby. Nie wykazano statystycznie istotnej różnicy w częstości występowania patologii w badaniu USG jamy brzusznej przed i po 18. roku życia ($p=0,0726$).

Dziwiewięciu badanych grupy 2 miało wykonaną biopsję wątroby, dwóch z nich dwukrotnie. U 4 pacjentów, którzy w chwili rozpoznania byli w fazie klirensu immunologicznego, w wykonanych biopsjach wątroby przeprowadzonych w okresie dzieciństwa stwierdzono w dwóch przypadkach aktywność zapalną 2. stopnia (G2), w 1 przypadku *hepatitis chronica activa* (HCA) i w 1 przypadku *hepatitis chronica persistens* (HCP). U 3 pacjentów, którzy w chwili rozpoznania byli w fazie immunotolerancji, w wykonanej biopsji wątroby przeprowadzonej w okresie dzieciństwa stwierdzono HCP, a w dwóch przypadkach w badaniu histopatologicznym wątroby przeprowadzonym w okresie dorosłości aktywność zapalną oceniono w stopniu 1. i 2., zaś zaawansowanie włóknienia w stopniu 1. Jeden badany miał przeprowadzoną biopsję dwukrotnie, w odstępie 3 lat, już po terapii przeciwwirusowej interferonem – badania wykazały progresję włóknienia z S1 do S2 pomimo spadku wiremii HBV o więcej niż 6 logarytmów.

4.4.3. Grupa badanych, u których do zakażenia doszło od 7. do 12. roku życia (grupa 3.)

W grupie trzeciej znalazło się siedemnaście osób, odpowiednio 10 mężczyzn (58,8%) i 7 kobiet (41,2%). Czas od momentu zakażenia HBV do momentu jego wykrycia wynosił minimalnie pół roku, a maksymalnie 4 lata, średnio $1\pm 1,0$ rok.

Okres obserwacji, czyli długość czasu od momentu wykrycia zakażenia HBV do momentu ostatniej oceny wynosił minimalnie 5 lat, a maksymalnie 38 lat (średnio $23\pm 10,8$ lata).

4.4.3.1. Faza zakażenia HBV w momencie wykrycia

Na podstawie wyników badań biochemicznych (aktywności aminotransferaz), układu „e” i molekularnych (wiremia HBV) ustalono, w jakiej fazie zakażenia byli pacjenci w momencie wykrycia HBV. Powyższą obserwację prezentuje tabela 8.

Tabela 8. Liczba pacjentów grupy 3. będących w określonej fazie zakażenia HBV.

Faza zakażenia HBV	Liczba pacjentów		
	mężczyźni	kobiety	razem
Tolerancji immunologicznej	2	0	2
Klirensu immunologicznego	1	2	3
Kontroli immunologicznej	6	4	10
Reaktywacji zakażenia	1	1	2

Z powyższej obserwacji wynika, że w fazie tolerancji immunologicznej i w fazie reaktywacji zakażenia było po 11,75% pacjentów, a w fazie klirensu immunologicznego 17,6% badanych. Ponad połowa badanych (58,8%) znajdowała się w fazie kontroli immunologicznej. Wykazano statystycznie istotną różnicę w częstości występowania poszczególnych faz zakażenia HBV w momencie wykrycia infekcji ($p=0,0146$). Zwraca uwagę fakt, że w momencie wykrycia zakażenia HBV fazę tolerancji immunologicznej mieli tylko chorzy płci męskiej.

4.4.3.2. Leczenie przeciwwirusowe

Nieco ponad połowa badanych tej grupy (9 chorych) miało zastosowane leczenie przeciwwirusowe w okresie dorosłości. 3 z nich (33,3%) było leczonych w

okresie do 18. roku życia. Rodzaj zastosowanego leku przeciwwirusowego u poszczególnych badanych przedstawia tabela 9.

Tabela 9. Rodzaj zastosowanych leków przeciwwirusowych u pacjentów grupy 3.

Lp. (kolejny pacjent)	Rodzaj zastosowanego preparatu	
	do 18 roku życia	po 18 roku życia
1.	nie leczono	nie leczono
2.	nie leczono	pegylowany interferon lamiwudyna entekawir
3.	nie leczono	nie leczono
4.	nie leczono	nie leczono
5.	nie leczono	nie leczono
6.	nie leczono	nie leczono
7.	nie leczono	entekawir
8.	nie leczono	nie leczono
9.	interferon	entekawir
10.	nie leczono	entekawir
11.	nie leczono	nie leczono
12.	interferon lamiwudyna	entekawir
13.	interferon lamiwudyna	entekawir
14.	nie leczono	lamiwudyna entekawir
15.	nie leczono	entekawir
16.	nie leczono	entekawir
17.	nie leczono	nie leczono

Wykazano statystycznie istotną różnicę w częstości zastosowania leczenia przeciwwirusowego przed i po 18. roku życia ($p=0,0412$).

4.4.3.3. Objawy kliniczne

Pięciu spośród siedemnastu badanych (29,4%) miało objawy kliniczne mogące mieć związek z chorobą wątroby w trakcie całego okresu obserwacji. U 4 pacjentów dominował objaw pod postacią bólu brzucha, a wystąpił jeszcze przed wdrożeniem jakiegokolwiek leczenia przeciwwirusowego. Ból brzucha nie był zgłaszany po leczeniu (2 pacjentów), zaś utrzymywał się u dwóch chorych nieleczonych. Z kolei

jedna nieleczona kobieta zgłaszała zgagę od 32. roku życia. Nie wykazano statystycznie istotnej różnicy w częstości występowania objawów klinicznych przed i po 18. roku życia ($p=0,3711$).

4.4.3.4. Wyniki badań laboratoryjnych

4.4.3.4.1. Bilirubina

U większości badanych grupy 3. (82,4%) nie było wzrostu stężenia bilirubiny powyżej górnej granicy normy w trakcie całego okresu obserwacji. U 3 chorych (17,6%) obserwowano stężenie bilirubiny ok. 2 razy powyżej górnej granicy normy. Dotyczy to 1 chłopca w 12. roku życia, który wówczas był w fazie reaktywacji zakażenia HBV i 2 pacjentów w wieku dorosłym, u których stwierdzono już wykładniki rozpoczynającej się marskości wątroby.

4.4.3.4.2. Aminotransferazy alaninowa i asparaginianowa, wiremia HBV oraz układ „e”

Zmiany wartości aktywności aminotransferaz, logarytmu wiremii HBV oraz parametrów układu „e” z uwzględnieniem okresów leczenia przeciwwirusowego u badanych grupy 3 w przedziale czasowym przedstawia rycina 10.

Pięciu pacjentów (29,4%) miało w momencie wykrycia zakażenia HBV podwyższoną aktywność aminotransferaz (1,5-9 razy powyżej górnej granicy normy), wyniki ALAT i AspAT pozostałych 70,6% badanych nie przekraczały górnej granicy normy.

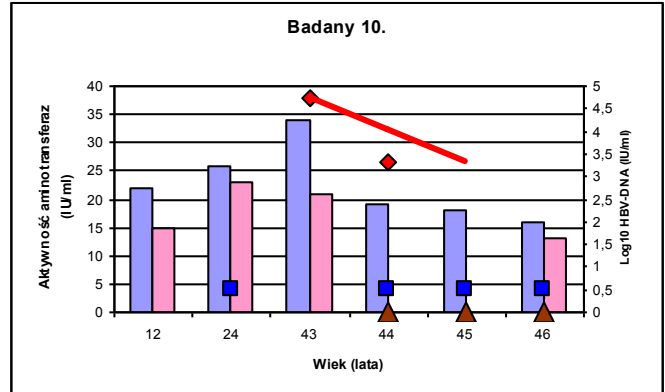
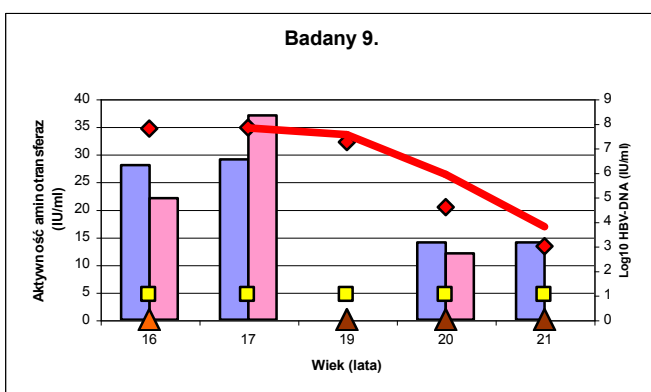
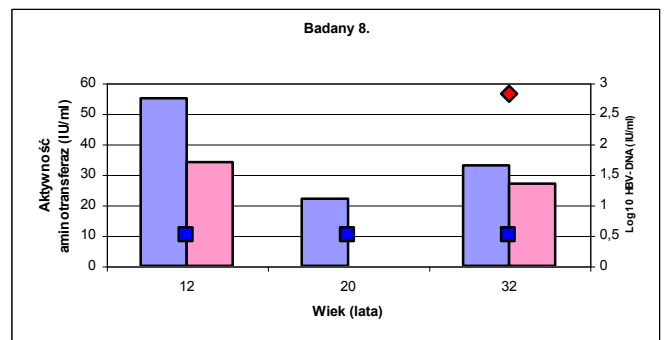
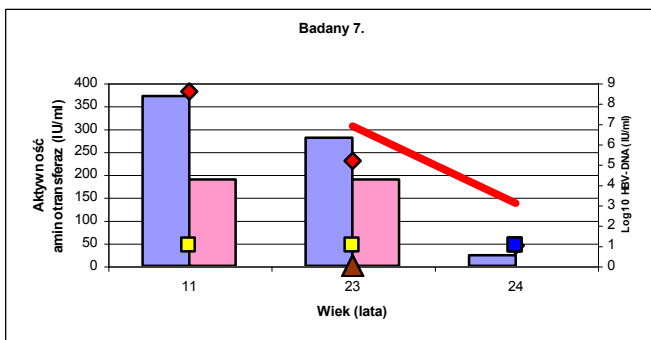
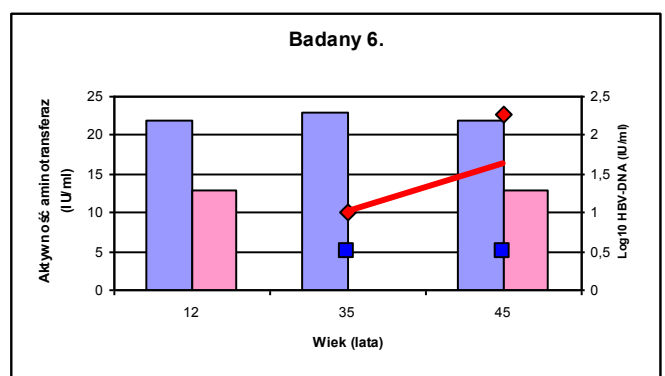
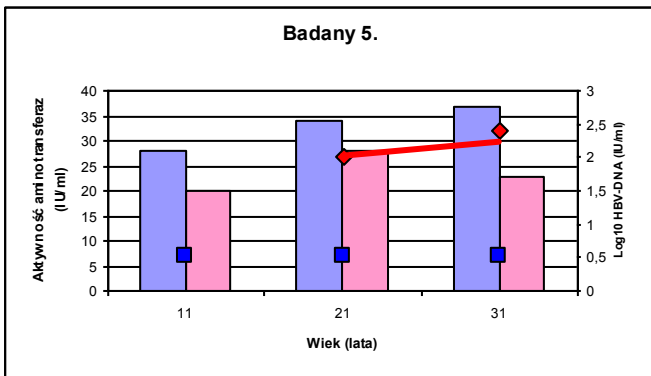
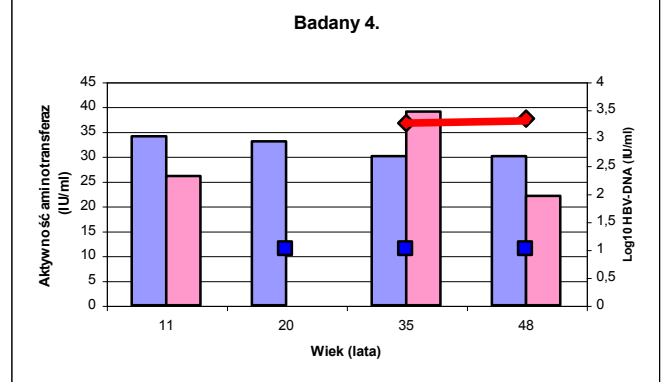
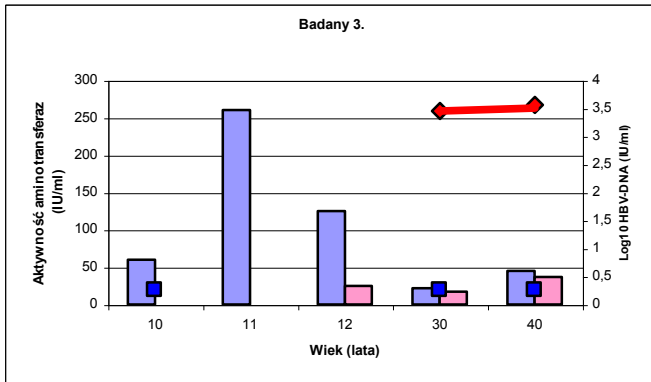
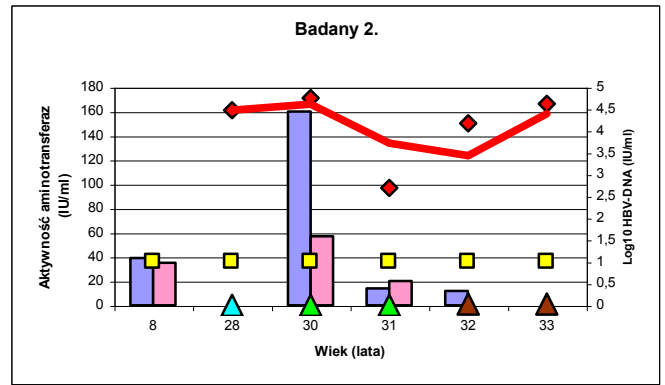
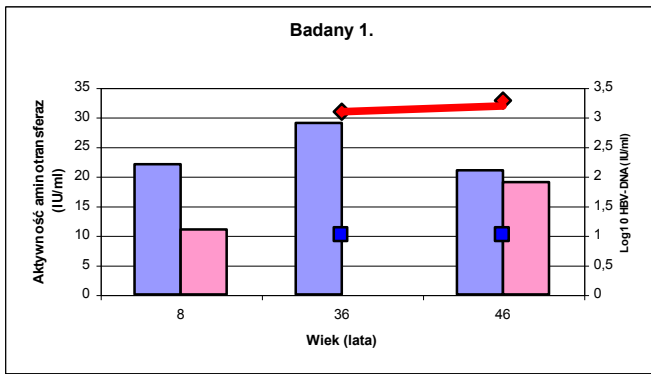
Niektórzy pacjenci w chwili rozpoznania zakażenia mieli wykonane badania HBV-DNA i układu „e”. 5 na 12 pacjentów (41,7%) w chwili rozpoznania zakażenia miało stwierdzony dodatni antygen HBe, a wiremię HBV powyżej 10^7 IU/ml obserwowano u 4 z tych chorych. U 7 z 12 badanych (58,3%) stwierdzono dodatnie przeciwciała anty-HBe, a wiremię HBV poniżej 10^5 IU/ml u 1 pacjenta.

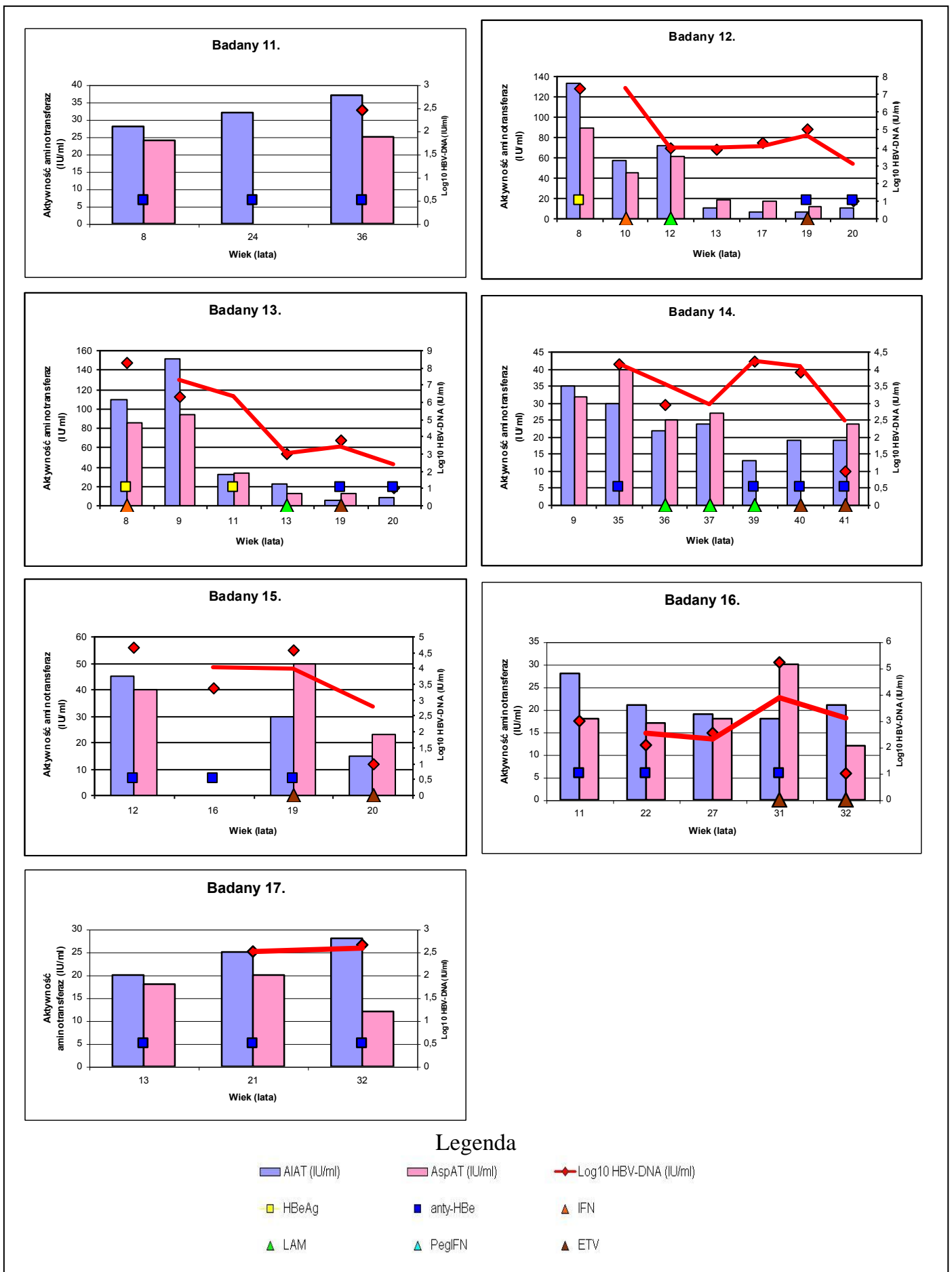
14 spośród 17 badanych (82,4%) nie miało wdrożonego leczenia przeciwwirusowego w okresie do momentu osiągnięcia wieku dorosłego. 1 z tych pacjentów był w fazie tolerancji immunologicznej w momencie rozpoznania zakażenia HBV. Faza tolerancji immunologicznej utrzymywała się u niego przez 22 lata,

wówczas zaobserwowano wzrost aktywności aminotransferaz bez zaniku antygenu HBe. U kolejnego pacjenta, będącego w fazie klirensu immunologicznego w momencie wykrycia zakażenia HBV, po około 12 latach rozpoznano marskość wątroby, utrzymujące się podwyższone aktywności AlAT i AspAT oraz obniżenie wirerii HBV powyżej 3 logarytmów. 10 z 14 pacjentów w momencie rozpoznania znajdowało się w fazie kontroli immunologicznej. U żadnego z tych badanych nie odnotowano wzrostu aktywności aminotransferaz w trakcie całego okresu obserwacji ani reserokonwersji w układzie „e”. U 7 badanych (70%) nie zauważono istotnych zmian w zakresie wirerii HBV, natomiast u 3 badanych (30%) istotnie wzrosła wireria HBV o minimum 1 logarytm. U pozostałych 2 z 14 pacjentów, będących w fazie reaktywacji w momencie wykrycia infekcji HBV, do momentu zakończenia obserwacji nie zauważono wzrostu aktywności AlAT, AspAT, istotnych zmian poziomu HBV-DNA oraz pojawienia się HBeAg.

3 spośród 17 badanych (17,6%) miało wdrożone leczenie w dzieciństwie. Dwoje z tych chorych, będących odpowiednio w fazie tolerancji i klirensu immunologicznego w chwili rozpoznania zakażenia HBV, leczono preparatami interferonu od momentu rozpoznania, a trzeciego pacjenta (w fazie klirensu immunologicznego) po 2 latach od wykrycia choroby. Do tego czasu, u tego pacjenta, u którego leczenie wdrożono później niż w okresie wykrycia, zauważono istotny spadek aktywności aminotransferaz, brak danych odnośnie wirerii HBV.

Pacjenci poddani kuracji przeciwwirusowej w okresie dzieciństwa, w 1 przypadku otrzymywali preparat interferonu, w 2 przypadkach najpierw interferon, a następnie lamiwudynę. Interferon otrzymał chory, który w momencie wykrycia zakażenia był w fazie tolerancji immunologicznej. U tego pacjenta, po wyżej wymienionym leczeniu nie zaobserwowano istotnych zmian aktywności aminotransferaz, poziomu HBV-DNA ani zaniku HBeAg. U pozostałych 2 chorych, będących w momencie wykrycia zakażenia w fazie klirensu immunologicznego, zastosowano odpowiednio interferon, a następnie lamiwudynę. Leki te przyczyniły się do spadku wirerii, obniżenia aktywności aminotransferaz i serokonwersji HBeAg do anty-HBe.





Rycina 10. Zmiany wartości aktywności aminotransferaz, logarytmu wirerii HBV oraz parametrów układu „e” z uwzględnieniem okresów leczenia przeciwwirusowego u badanych z grupy 3.

4.4.3.5 Wyniki badań obrazowych oraz badań histopatologicznych wątroby

Wszyscy pacjenci grupy 3. mieli wykonane badania obrazowe jamy brzusznej (w przeważającej większości badanie ultrasonograficzne).

Tylko u 1 pacjenta (5,9%) w wieku dziecięcym stwierdzono patologię w badaniu USG jamy brzusznej pod postacią podwyższonej echogeniczności miększu wątroby. Dotyczy to badanego, który w momencie rozpoznania znajdował się w fazie klirensu immunologicznego. Natomiast w okresie dorosłości odchylenia w badaniu USG jamy brzusznej stwierdzono u 5 chorych (29,4%). Dotyczy to badanych, którzy w momencie rozpoznania zakażenia HBV byli w różnych fazach zakażenia, a 4 z nich nie było leczonych żadnymi preparatami przeciwwirusowymi. U dwóch z nich, odpowiednio w 23. i 30. roku życia, stwierdzono cechy marskości wątroby. Nie wykazano statystycznie istotnej różnicy w częstości występowania patologii w badaniu USG jamy brzusznej przed i po 18. roku życia ($p=0,1336$).

Siedmiu badanych grupy 3. miało wykonaną biopsję wątroby. U 2 pacjentów, którzy w chwili rozpoznania byli w fazie klirensu immunologicznego w bioptatach wątroby pochodzących z okresu dzieciństwa stwierdzono w pierwszym przypadku HCA i w drugim HCP. U jednego pacjenta, który w chwili rozpoznania był w fazie immunotolerancji, w biopsji wątroby wykonanej w 30. roku życia stwierdzono aktywność zmian zapalnych 2. stopnia (G2) oraz 2. Stopień zaawansowania włóknienia (S2). Dwoje badanych, będących w okresie rozpoznania w fazie kontroli immunologicznej, miało wykonane badanie histopatologiczne w okresie dorosłości (odpowiednio w 35. i 44. roku życia), które wykazało niewielkiego stopnia aktywność zmian zapalnych i minimalny stopień zaawansowania włóknienia (G1-2, S1). Z kolei u dwóch chorych, którzy w chwili wykrycia zakażenia HBV byli w fazie reaktywacji, badanie histopatologiczne wątroby wykazało odpowiednio zmiany typu HCP oraz G3S3/4.

Jeden badany, zamiast biopsji wątroby w 31. roku życia, miał przeprowadzone badanie fibroelastograficzne, które wykazało 0-1 stopień włóknienia (F0/1). Był to chory, który w momencie wykrycia infekcji HBV znajdował się w fazie kontroli immunologicznej.

4.4.4. Grupa badanych, u których do zakażenia doszło od 13. do 18. roku życia (grupa 4.)

W grupie 4. znalazło się trzydzieści sześć osób, odpowiednio 24 mężczyzn (66,7%) i 12 kobiet (33,3%). Czas od momentu zakażenia HBV do momentu jego wykrycia wynosił minimalnie pół roku, a maksymalnie 2 lata, średnio $1\pm 0,7$ rok.

Okres obserwacji, czyli długość czasu od momentu wykrycia zakażenia HBV do momentu ostatniej oceny wynosił minimalnie 1 rok, a maksymalnie 33 lata (średnio $20\pm 7,8$ lat).

4.4.4.1. Faza zakażenia HBV w momencie wykrycia

Na podstawie wyników badań biochemicznych (aktywności aminotransferaz), układu „e” i molekularnych (wiremia HBV) ustalono w jakiej fazie zakażenia byli pacjenci w momencie wykrycia HBV. Powyższą obserwację prezentuje tabela 10.

Tabela 10. Liczba pacjentów grupy 4. będących w określonej fazie zakażenia HBV.

Faza zakażenia HBV	Liczba pacjentów		
	mężczyźni	kobiety	razem
Tolerancji immunologicznej	1	1	2
Klirensu immunologicznego	4	0	4
Kontroli immunologicznej	14	10	24
Reaktywacji zakażenia	5	1	6

Z powyższej obserwacji wynika, że w fazie tolerancji immunologicznej było 5,6% badanych. W fazie klirensu immunologicznego 11,1% badanych. Dwie trzecie badanych (66,7%) znajdowało się w fazie kontroli immunologicznej, a 16,7% pacjentów było w fazie reaktywacji zakażenia. Wykazano statystycznie istotną różnicę w częstości występowania poszczególnych faz zakażenia HBV w momencie wykrycia infekcji ($p<0,0001$).

4.4.4.2. Leczenie przeciwwirusowe

Dwudziestu badanych tej grupy miało zastosowane leczenie przeciwwirusowe w okresie dorosłości. 3 z nich (15%) było leczonych w okresie do 18. roku życia. Rodzaj zastosowanego leku przeciwwirusowego u poszczególnych badanych przedstawia tabela 11.

Tabela 11. Rodzaj zastosowanych leków przeciwwirusowych u pacjentów grupy 4.

Lp. (kolejny pacjent)	Rodzaj zastosowanego preparatu	
	do 18. roku życia	po 18. roku życia
1.	nie leczono	nie leczono
2.	nie leczono	lamiwudyna entekawir
3.	nie leczono	pegylowany interferon entekawir
4.	nie leczono	lamiwudyna entekawir
5.	nie leczono	nie leczono
6.	nie leczono	nie leczono
7.	nie leczono	entekawir
8.	nie leczono	lamiwudyna entekawir
9.	nie leczono	entekawir
10.	nie leczono	nie leczono
11.	nie leczono	nie leczono
12.	nie leczono	nie leczono
13.	interferon	entekawir
14.	nie leczono	lamiwudyna entekawir
15.	nie leczono	entekawir
16.	nie leczono	pegylowany interferon lamiwudyna entekawir
17.	nie leczono	entekawir
18.	nie leczono	pegylowany interferon lamiwudyna entekawir
19.	nie leczono	nie leczono
20.	nie leczono	nie leczono
21.	nie leczono	lamiwudyna entekawir

22	pegylowany interferon entekawir	entekawir
23	nie leczono	entekawir
24	nie leczono	entekawir
25	interferon	lamiwudyna entekawir
26	nie leczono	lamiwudyna entekawir
27	nie leczono	nie leczono
28	nie leczono	nie leczono
29	nie leczono	nie leczono
30	nie leczono	nie leczono
31	nie leczono	nie leczono
32	nie leczono	nie leczono
33	nie leczono	nie leczono
34	nie leczono	nie leczono
35	nie leczono	entekawir
36	nie leczono	entekawir

Wykazano statystycznie istotną różnicę w częstości zastosowania leczenia przeciwwirusowego przed i po 18. roku życia ($p < 0,0001$).

4.4.4.3. Objawy kliniczne

Czternastu spośród trzydziestu sześciu badanych (38,9%) miało objawy kliniczne mogące mieć związek z chorobą wątroby w trakcie całego okresu obserwacji. W znacznej większości (13 na 14 badanych) pojawiły się one w wieku dorosłym. Tylko u jednego chłopca wystąpiły dolegliwości w 14. roku życia i utrzymywały się również po 18. roku życia. Wykazano statystycznie istotną różnicę w częstości występowania objawów klinicznych przed i po 18. roku życia ($p = 0,0009$).

U 6 na 14 pacjentów dominował objaw pod postacią bólu brzucha i nie miał związku z leczeniem przeciwwirusowym. Ból brzucha nie był już zgłaszany po leczeniu (1 pacjent), a utrzymywał się u pięciu chorych nie leczonych. Drugim co do częstości występującym objawem w badaniu fizykalnym było powiększenie wątroby (3 pacjentów). Objaw ten utrzymywał się u 2 pacjentów nieleczonych, a ustąpił u 1 chorego poddanego terapii przeciwwirusowej. Trzecim co do częstości występującym symptomem była zgaga (2 chorych), która utrzymywała się u 1 pacjenta nieleczonego, a ustąpiła u 1 chorego poddanego terapii przeciwwirusowej. Pozostałe objawy pod

postacią nudności, odbijań, braku apetytu, świądu skóry, stanu podgorączkowego i obrzęków wystąpiły u pojedynczych już dorosłych pacjentów. U jednego mężczyzny, będącego cały czas w fazie kontroli immunologicznej, zaobserwowano w 47. roku życia kliniczne objawy marskości wątroby.

4.4.4.4. Wyniki badań laboratoryjnych

4.4.4.4.1. Bilirubina

U większości badanych grupy 4. (86,1%) nie było wzrostu stężenia bilirubiny w trakcie całego okresu obserwacji. U tych pacjentów poziomy bilirubiny nie przekraczały górnej granicy normy. U pozostałych 9 chorych (13,9%) obserwowano stężenie bilirubiny ok. 2-3 razy powyżej górnej granicy normy. Dotyczy to 4 pacjentów, u których w okresie dorosłości w tym momencie obserwowano zmianę fazy zakażenia HBV – w 3 przypadkach z fazy kontroli immunologicznej na fazę reaktywacji i w 1 przypadku z fazy tolerancji na fazę klirensu immunologicznego. U kolejnych czterech badanych podwyższone stężenie bilirubiny korelowało z rozwiniętą już marskością wątroby (2 pacjentów) lub wystąpiło w trakcie leczenia entekawirem (2 pacjentów). U 1 badanego hiperbilirubinemia miała najprawdopodobniej związek z cholestazą (świąd skóry).

4.4.4.4.2. Aminotransferazy alaninowa i asparaginianowa, wiremia HBV oraz układ „e”

Zmiany wartości aktywności aminotransferaz, logarytmu wiremii HBV oraz parametrów układu „e” z uwzględnieniem okresów leczenia przeciwwirusowego u badanych grupy 4. w przedziale czasowym przedstawia rycina 11.

Dwunastu pacjentów (33,3%) miało w momencie wykrycia zakażenia HBV podwyższoną aktywność aminotransferaz (1,5-7 razy powyżej górnej granicy normy), zaś AlAT i AspAT u pozostałych 66,7% mieściły się w zakresie normy.

Niektórzy pacjenci w chwili rozpoznania zakażenia mieli wykonane badania HBV-DNA i układu „e”. 6 na 31 pacjentów (19,4%) w chwili rozpoznania zakażenia miało stwierdzony dodatni antygen HBe, a wiremię HBV powyżej 10^5 IU/ml zauważono u 4 z tych chorych. U 25 z 31 badanych (80,6%) stwierdzono dodatnie

przeciwciała anty-HBe, a wiramię HBV, w zakresie od wartości nieoznaczalnych do 10^8 IU/ml, stwierdzono u 8 z tych chorych.

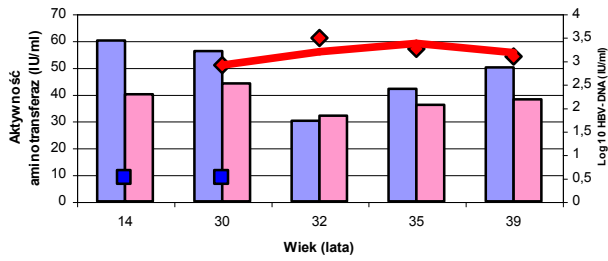
33 spośród 36 badanych (91,7%) nie miało wdrożonego leczenia przeciwwirusowego w okresie do momentu osiągnięcia wieku dorosłego. 1 z tych pacjentów był w fazie tolerancji immunologicznej w momencie rozpoznania zakażenia HBV. Faza tolerancji immunologicznej utrzymywała się u niego przez około 17 lat, wówczas zaobserwowano wzrost aktywności aminotransferaz bez zaniku antygenu HBe. Dwoje pacjentów, będących w fazie klirensu immunologicznego w momencie wyrycia zakażenia HBV, miało po około 9 latach stwierdzone w badaniu histopatologicznym wątroby zmiany G2S1 i utrzymującą się podwyższoną aktywność AlAT i AspAT, zauważono średni spadek wiramii HBV o około 1 logarytm u jednego z nich. 24 pacjentów z 36 w momencie rozpoznania znajdowało się w fazie kontroli immunologicznej. U żadnego z tych badanych nie odnotowano w trakcie całego okresu obserwacji reserokonwersji w układzie „e”. U 12 z 24 badanych (50%) nie zauważono istotnych zmian w zakresie wiramii HBV i aktywności aminotransferaz, natomiast u pozostałych 50% zauważono wzrost wiramii HBV o minimum 1 logarytm i/lub podwyższenie aktywności aminotransferaz. U pozostałych 5 z 36 pacjentów, będących w fazie reaktywacji w momencie wykrycia infekcji HBV, nie zauważono, do momentu zakończenia obserwacji, pojawienia się HBeAg, natomiast u 4 z nich (80%) stwierdzono wzrost wiramii HBV o minimum 1 logarytm i/lub zmiany w poziomach aminotransferaz.

3 spośród 36 badanych (8,3%) miało wdrożone leczenie w dzieciństwie. Dwoje z tych chorych, będących odpowiednio w fazie reaktywacji immunologicznej i klirensu immunologicznego w chwili rozpoznania zakażenia HBV, leczono preparatami interferonu w tym samym roku życia, a trzeciego pacjenta (początkowo faza tolerancji immunologicznej) po 3 latach od momentu wykrycia choroby. Do tego czasu u tego pacjenta, u którego leczenie wdrożono później, stwierdzono w badaniu histopatologicznym wątroby zmiany odpowiadające HCA, brak danych odnośnie wiramii HBV i aktywności aminotransferaz.

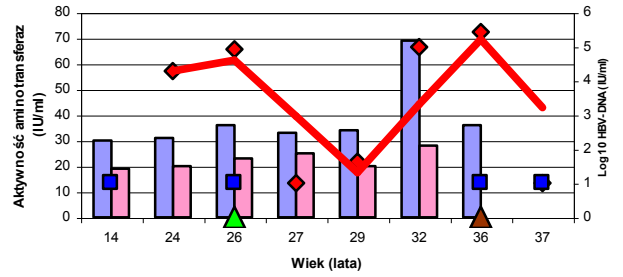
Pacjenci poddawani kuracji anty-HBV w okresie dzieciństwa w dwóch przypadkach otrzymywali preparat rekombinowanego interferonu, w trzecim

przypadku pegylowany interferon, a następnie entekawir. Wszyscy chorzy po terapii mieli istotny spadek wiremii HBV oraz stwierdzano u nich prawidłowe aktywności AlAT. U żadnego z tych badanych nie zaobserwowano zmian w statusie układu „e”.

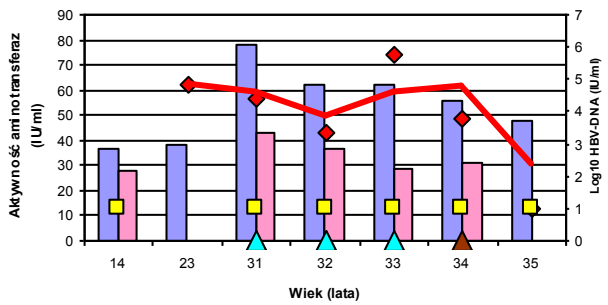
Badany 1.



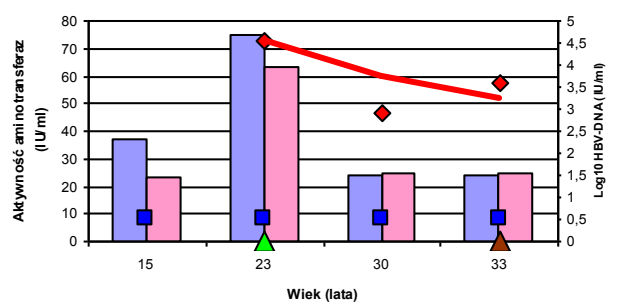
Badany 2.



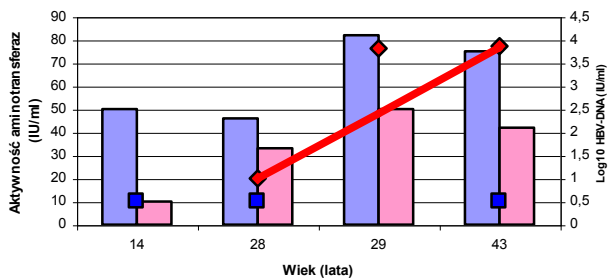
Badany 3.



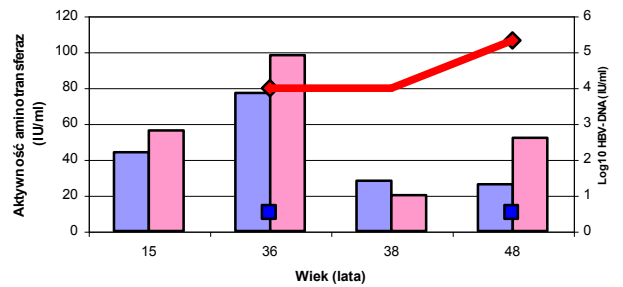
Badany 4.



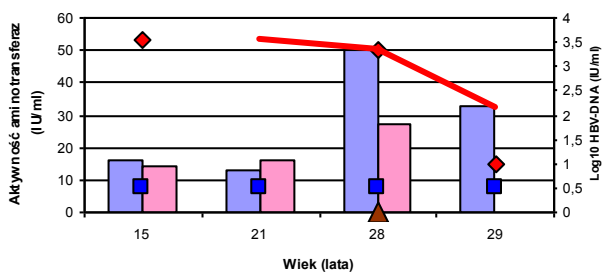
Badany 5.



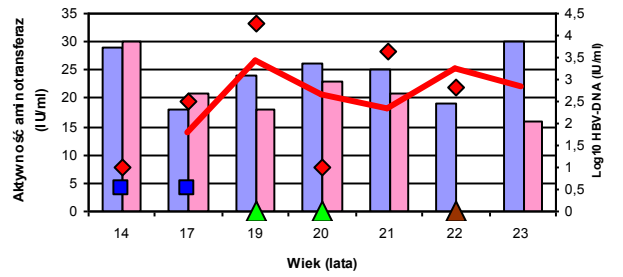
Badany 6.



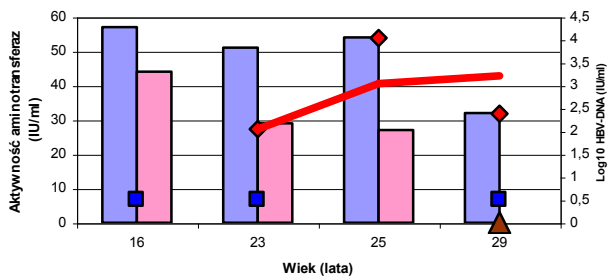
Badany 7.



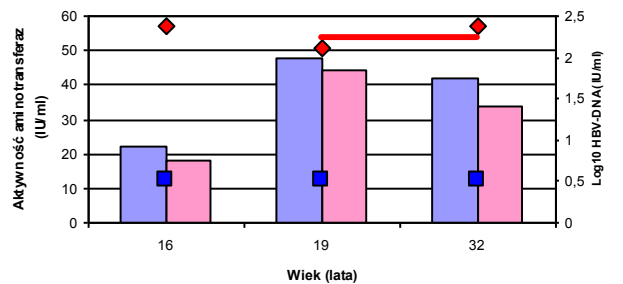
Badany 8.

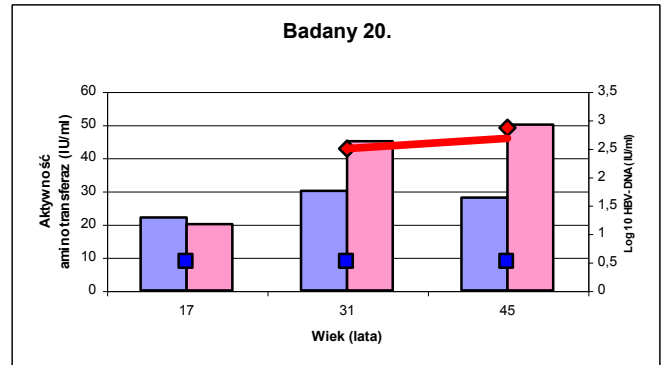
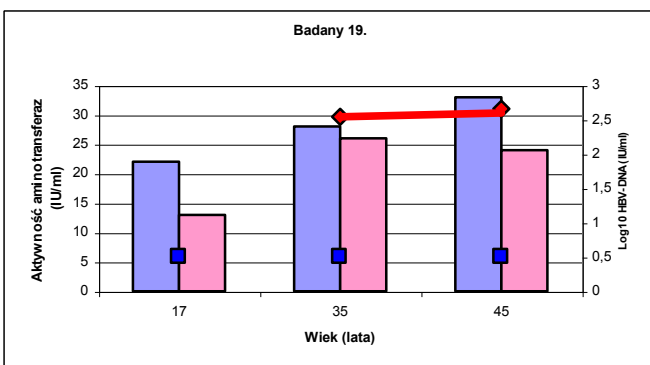
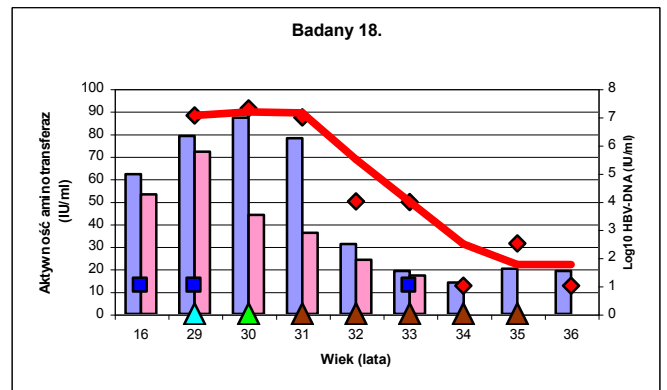
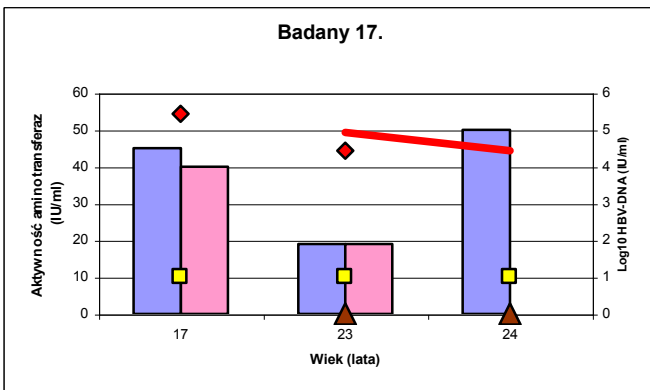
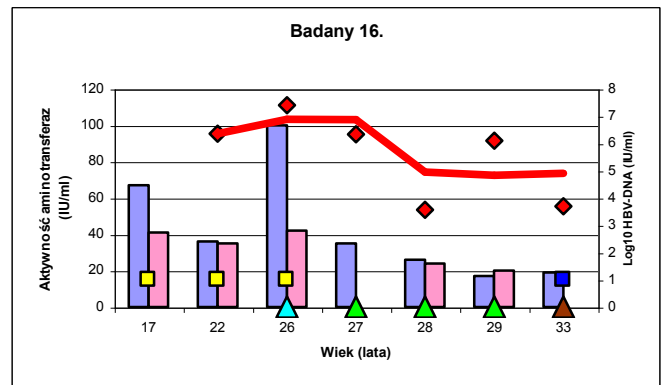
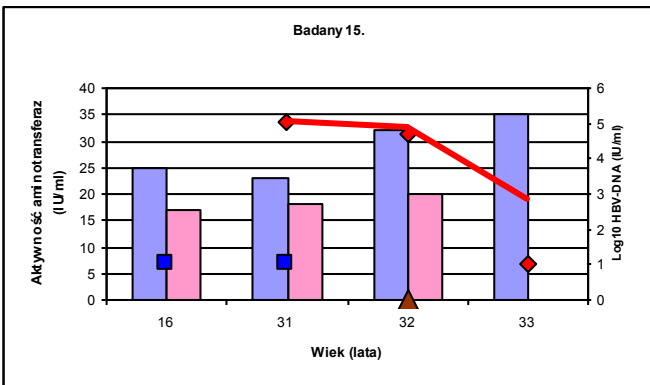
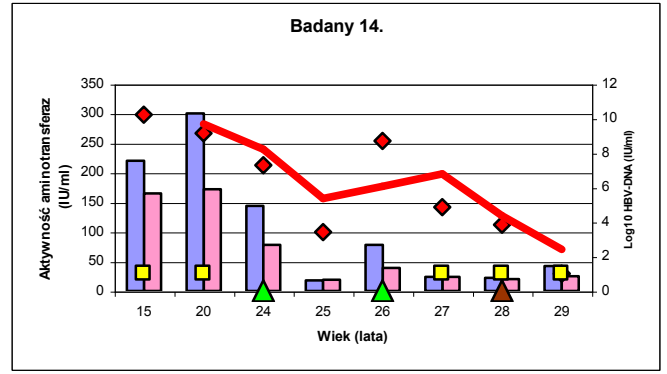
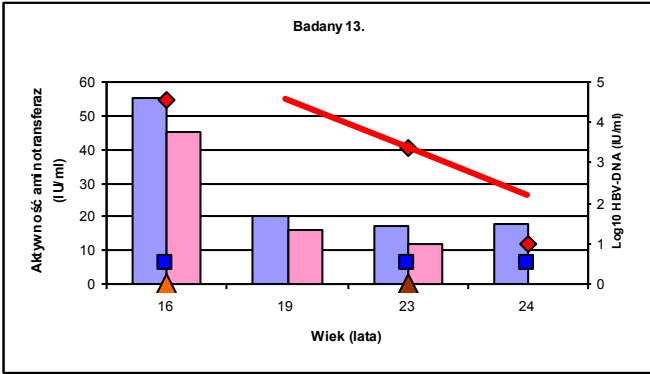
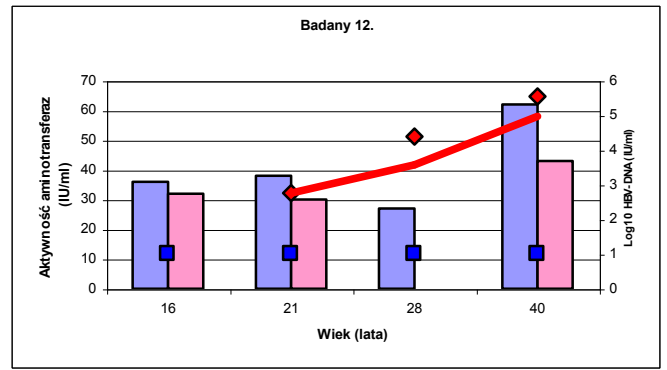
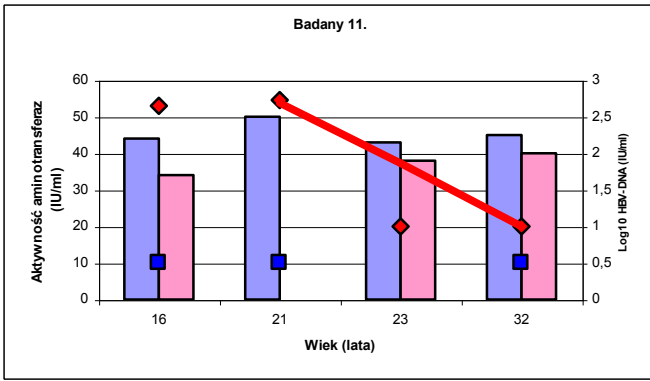


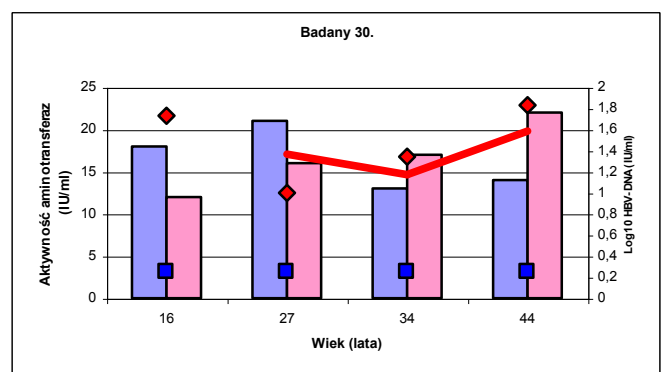
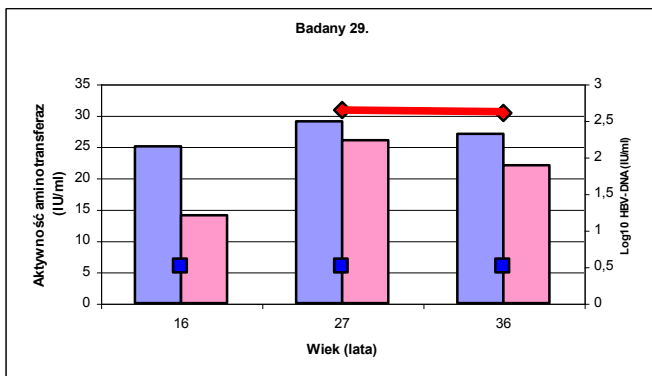
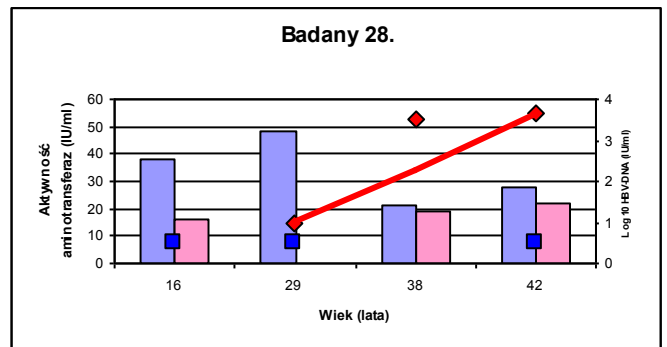
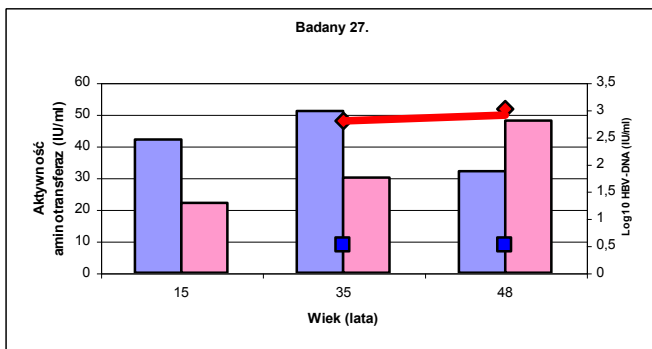
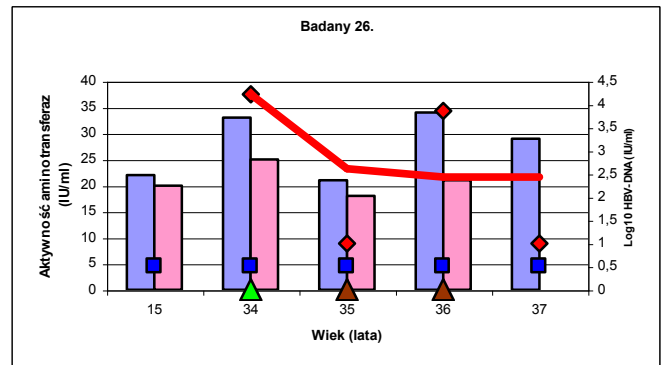
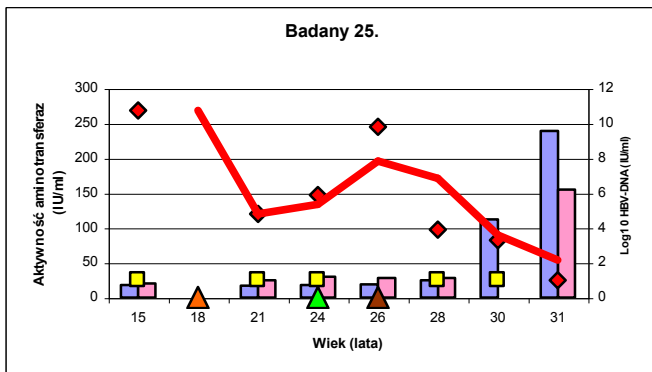
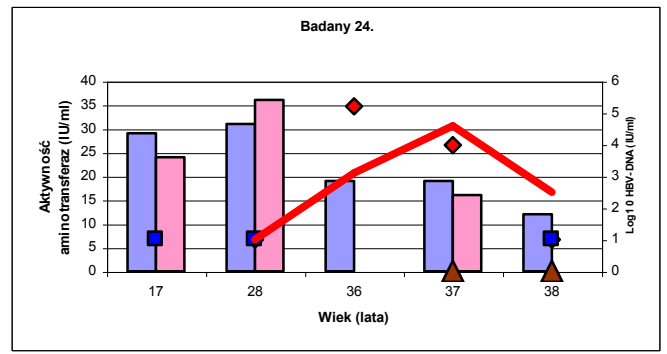
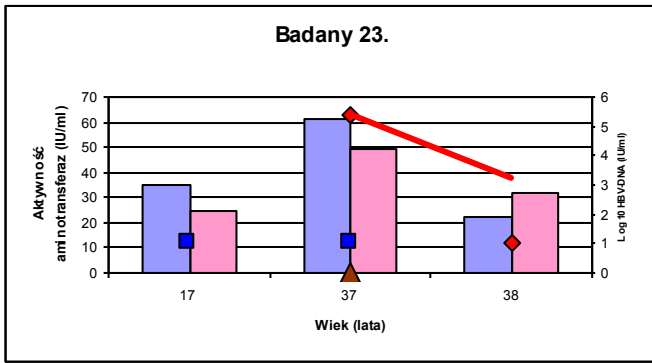
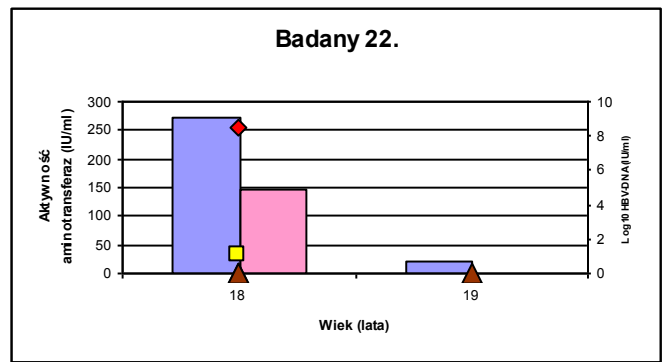
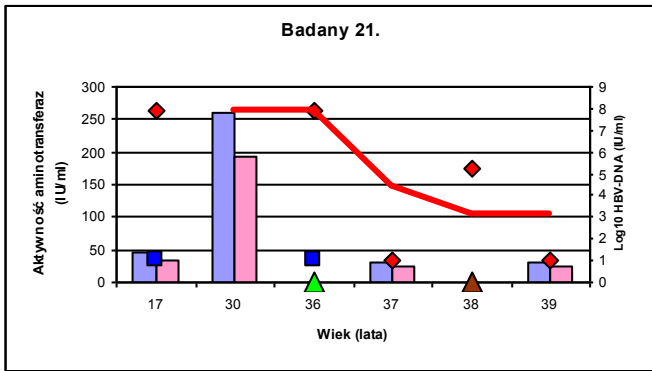
Badany 9.

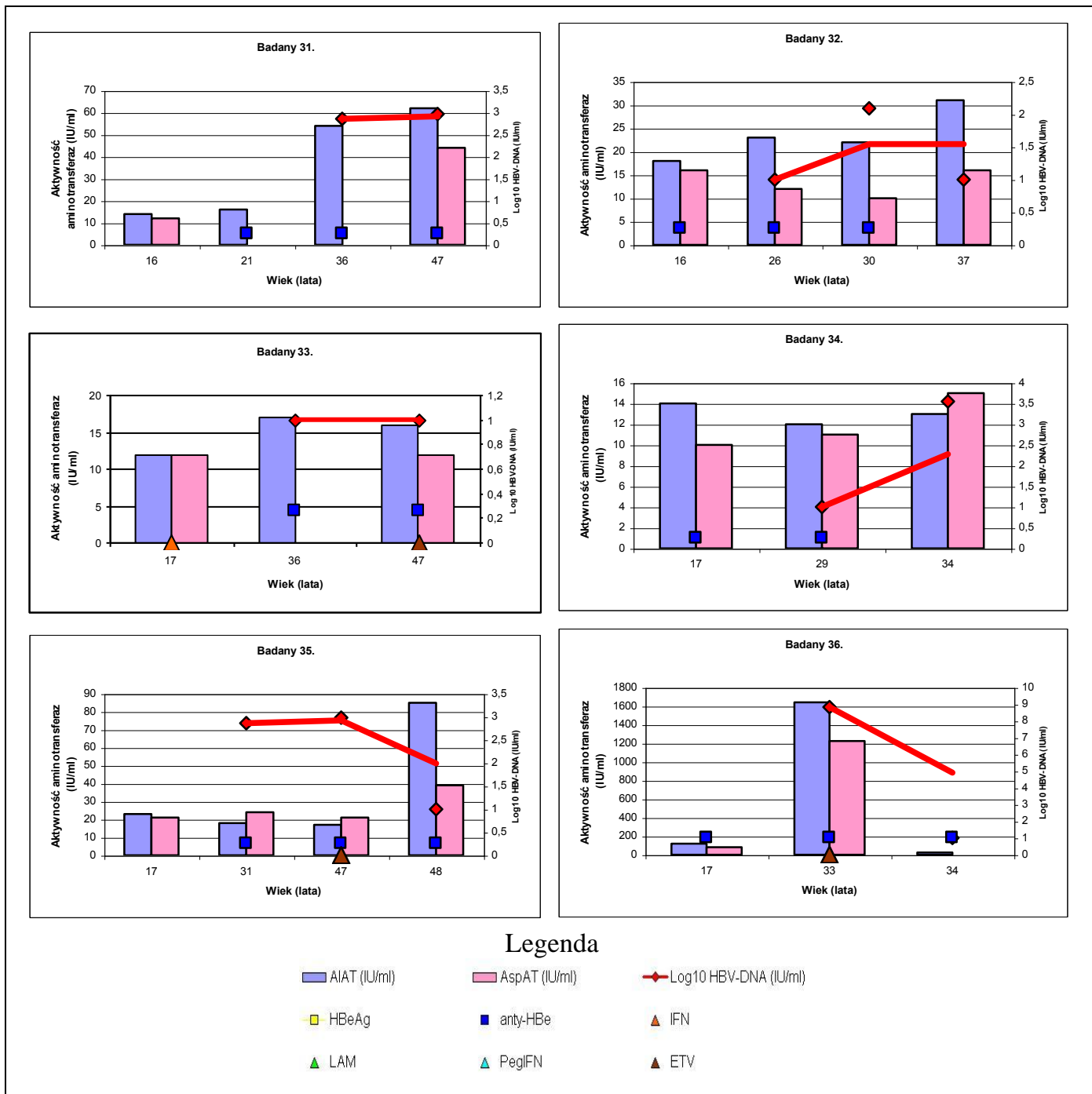


Badany 10.









Rycina 11. Zmiany wartości aktywności aminotransferaz, logarytmu wirerii HBV oraz parametrów układu „e” z uwzględnieniem okresów leczenia przeciwwirusowego u badanych z grupy 4.

4.4.4.5. Wyniki badań obrazowych oraz badań histopatologicznych wątroby

Wszyscy pacjenci grupy 4. mieli wykonane badania obrazowe jamy brzusznej (w przeważającej większości badanie ultrasonograficzne).

U żadnego pacjenta w wieku dziecięcym nie stwierdzono patologii w badaniu USG jamy brzusznej. Natomiast w okresie dorosłości odchylenia w badaniu USG

jamy brzusznej stwierdzono u 15 chorych (41,7%). Najczęściej opisywano podwyższoną echogeniczność (7 z 15 badanych), powiększenie (3 z 15 badanych) oraz guzkową przebudowę wątroby (3 z 15 badanych). Cechy marskości wątroby wykryto badaniem obrazowym u każdego z tych 3 pacjentów w około 47. roku życia. U jednej kobiety zdiagnozowano HCC w 37. roku życia. Zarówno pacjenci z rozpoznaną marskością wątroby, jak i chora ze zdiagnozowanym rakiem wątrobowo komórkowym, nie byli dotychczas leczeni przeciwwirusowo z powodu nie spełnienia kryteriów do wdrożenia wyżej wymienionej terapii. Wykazano statystycznie istotną różnicę w częstości występowania patologii w badaniu USG jamy brzusznej przed i po 18. roku życia ($p=0,001$).

Dziesięciu badanych grupy 4. miało wykonaną biopsję wątroby. U 2 pacjentów, którzy w chwili rozpoznania byli w fazie tolerancji immunologicznej, w ocenie histopatologicznej bioptatu wątroby przeprowadzonej w okresie dorosłości, stwierdzono 1.-2. stopień aktywności zapalnej oraz 1. stopień zaawansowania włóknienia. Jeden z tych chorych miał już wykonaną biopsję wątroby w 15. roku życia (wówczas zdiagnozowano HCA), a następnie był leczony interferonem.

U kolejnych 2 pacjentów, którzy w chwili rozpoznania byli w fazie klirensu immunologicznego, w wykonanym bioptacie wątroby przeprowadzonym w 21. roku życia zdiagnozowano 2. stopień aktywności zapalnej (G2) oraz 1. stopień zaawansowania włóknienia (S1).

Czworo badanych, będących w okresie rozpoznania w fazie kontroli immunologicznej, miało wykonane badania histopatologiczne w okresie dorosłości (odpowiednio w 25., 32. i 33. roku życia) i jeden w okresie dzieciństwa (w 14. roku życia), które wykazały niewielkiego stopnia aktywność zapalną i włóknienia (G1-2, S0-2 oraz HCP). Z kolei u jednego chorego, który w chwili wykrycia zakażenia HBV miał fazę reaktywacji, badanie histopatologiczne wątroby wykazało G2S1.

Dwoje badanych, zamiast biopsji wątroby, odpowiednio w 28. i 36. roku życia miało przeprowadzone badanie fibroelastograficzne, które wykazało u pierwszego z nich 0-1 stopień włóknienia (F0/1), a u drugiego z nich 2.-3. stopień włóknienia

(F2/3). Byli to chorzy, którzy w momencie wykrycia infekcji HBV znajdowali się w fazie kontroli immunologicznej.

4.5. Zbiorcza analiza przebiegu zakażenia HBV

4.5.1. Faza zakażenia HBV w momencie wykrycia

Liczbę chorych, u których stwierdzono poszczególne fazy zakażenia HBV w momencie wykrycia infekcji przedstawia tabela 12.

Tabela 12. Podział z uwagi na fazę zakażenia HBV w momencie wykrycia.

Grupa	Liczba pacjentów w poszczególnej fazie zakażenia w momencie wykrycia				Razem
	Tolerancji immunologicznej	Klirensu immunologicznego	Kontroli immunologicznej	Reaktywacji zakażenia	
1.	6	2	0	0	8
2.	7	7	4	0	18
3.	2	3	10	2	17
4.	2	4	24	6	36
Razem	17	16	38	8	79

Wykazano, że istnieje statystycznie znamienne różnica w odsetkowym występowaniu fazy tolerancji immunologicznej pomiędzy pacjentami grupy 1. i 4. w momencie wykrycia zakażenia HBV ($p < 0,0001$). Analogicznej różnicy nie udowodniono pomiędzy badanymi z grupy 2. i 3. ($p = 0,1212$).

Wykazano statystycznie znamienne różnicę w odsetkowym występowaniu fazy kontroli immunologicznej pomiędzy pacjentami grupy 2. i 4. w momencie wykrycia zakażenia HBV ($p = 0,0034$).

4.5.2. Leczenie przeciwwirusowe

Liczbę chorych, u których zastosowano terapię przeciwwirusową w zależności od momentu leczenia w poszczególnych grupach przedstawia tabela 13.

Tabela 13. Podział z uwagi na liczbę pacjentów, u których zastosowano leczenie przeciwwirusowe w okresie dzieciństwa i/lub dorosłości.

Grupa	Liczba chorych, u których zastosowano leczenie przeciwwirusowe			Razem
	Tylko w dzieciństwie	Tylko w dorosłości	W dzieciństwie i dorosłości	
1.	0	3	5	8
2.	4	4	10	18
3.	0	6	3	9
4.	0	17	3	20
Razem	4	30	21	55

Wykazano statystycznie znamiennej różnicę w odsetkowym zastosowaniu terapii przeciwwirusowej w dzieciństwie pomiędzy chorymi zakażonymi HBV poniżej i powyżej 6. roku życia HBV ($p < 0,0001$).

Wykazano statystycznie istotną różnicę w częstości zastosowania terapii przeciwwirusowej pomiędzy okresem dzieciństwa i dorosłości u pacjentów zakażonych HBV powyżej 6. roku życia ($p = 0,0266$).

4.5.3. Objawy kliniczne

Liczbę chorych, u których pojawiły się objawy kliniczne w zależności od momentu ich wystąpienia w poszczególnych grupach przedstawia tabela 14.

Tabela 14. Podział z uwagi na liczbę pacjentów, u których pojawiły się objawy kliniczne w okresie dzieciństwa i/lub dorosłości.

Grupa	Liczba chorych, u których zaobserwowano objawy kliniczne			Razem
	Tylko w dzieciństwie	Tylko w dorosłości	W dzieciństwie i dorosłości	
1.	2	1	0	3
2.	2	2	0	4
3.	1	4	0	5
4.	0	13	1	14
Razem	5	20	1	26

Nie wykazano statystycznie istotnej różnicy w odsetkowym występowaniu objawów klinicznych w okresie dzieciństwa i dorosłości u pacjentów zakażonych HBV poniżej 13. roku życia ($p=0,7728$). Wykazano statystycznie istotną różnicę w odsetkowym występowaniu objawów klinicznych w okresie dzieciństwa i dorosłości u pacjentów zakażonych HBV powyżej 13. roku życia ($p=0,0009$).

Częstość i rodzaj pojawienia się najczęściej występujących objawów klinicznych w poszczególnych grupach przedstawia tabela 15.

Tabela 15. Liczba i rodzaj zaobserwowanych objawów klinicznych w okresie dzieciństwa i dorosłości.

Rodzaj objawu klinicznego	Częstość występowania objawów klinicznych								Razem
	Grupa 1.		Grupa 2.		Grupa 3.		Grupa 4.		
	do 18. roku życia	po 18. roku życia	do 18. roku życia	po 18. roku życia	do 18. roku życia	po 18. roku życia	do 18. roku życia	po 18. roku życia	
Ból brzucha	0	0	2	1	1	3	1	6	14
Brak apetytu	1	0	0	0	0	0	0	1	2
Powiększenie narządów mięsnych	1	0	0	0	0	0	0	3	4
Nudności	0	1	0	0	0	0	0	1	2
Cechy marskości wątroby	0	0	0	1	0	0	0	0	1
Zgaga	0	0	0	0	0	1	0	2	3
Razem	3		4		5		14		26

U 6 chorych objawy pojawiły się w okresie do 18. roku życia, a u 18 chorych po 18. roku życia.

Brak apetytu i/lub powiększenie narządów mięsnych obserwowane są w dzieciństwie znamiennie częściej u pacjentów grupy 1. niż w pozostałych grupach ($p=0,0091$).

Nie wykazano statystycznie znamiennej różnicy pomiędzy częstością występowania bólu brzucha, a innymi objawami w grupie pacjentów zakażonych HBV pomiędzy 6. a 13. rokiem życia ($p=0,1824$).

4.5.4. Wyniki badań laboratoryjnych

4.5.4.1. Bilirubina

Liczbę chorych, u których stwierdzono wartości bilirubiny powyżej górnej granicy normy z uwzględnieniem okresu tej obserwacji w poszczególnych grupach przedstawia tabela 16.

Tabela 16. Podział z uwagi na liczbę pacjentów, u których zaobserwowano wartość bilirubiny powyżej górnej granicy normy okresie dzieciństwa i/lub dorosłości.

Grupa	Liczba chorych, u których stwierdzono wartość bilirubiny powyżej górnej granicy normy			Razem
	Tylko w dzieciństwie	Tylko w dorosłości	W dzieciństwie i dorosłości	
1.	0	0	0	0
2.	1	1	0	2
3.	1	2	0	3
4.	0	8	1	9
Razem	2	11	1	14

Nie wykazano znamiennej różnicy w odsetkowym występowaniu stężenia bilirubiny powyżej górnej granicy normy u pacjentów, u których zakażenie HBV rozpoznano poniżej i powyżej 12. roku życia ($p=0,1266$).

4.5.4.2. Aminotransferazy

Liczbę chorych, u których stwierdzono aktywność aminotransferaz powyżej górnej granicy normy w momencie wykrycia zakażenia HBV, w poszczególnych grupach przedstawia tabela 17.

Tabela 17. Podział z uwagi na liczbę pacjentów, u których zaobserwowano aktywność aminotransferaz powyżej górnej granicy normy w momencie wykrycia zakażenia HBV.

Grupa	Liczba chorych, u których stwierdzono aktywność powyżej górnej granicy normy w momencie wykrycia zakażenia
1.	2
2.	7
3.	5
4.	12
Razem	26

Nie wykazano znamiennej różnicy w odsetkowym występowaniu aktywności aminotransferaz powyżej górnej granicy normy u pacjentów grupy 2., a pozostałymi grupami ($p=0,5758$).

4.5.4.3. Układ „e”

Z grupy 79 pacjentów poddano analizie chorych HBeAg dodatnich, którzy nie byli poddani terapii przeciwwirusowej w okresie do 18. roku życia. Szczególną uwagę zwrócono na fazę zakażenia HBV w momencie wykrycia infekcji oraz czy dokonała się samoistna serokonwersja w układzie „e”. U pacjentów, u których zaobserwowano serokonwersję HBeAg do anty-HBe analizie poddano wiek, w którym zostali zakażeni HBV oraz czas jaki upłynął od momentu zakażenia do chwili pojawienia się przeciwciał anty-HBe. Wyniki powyższych obserwacji prezentuje tabela 18.

Tabela 18. Serokonwersja w układzie „e” u chorych HBsAg dodatnich niepoddanych leczeniu przeciwwirusowemu z uwzględnieniem fazy i wieku zakażenia.

Kolejny pacjent	Faza zakażenia w momencie wykrycia	Serokonwersja w układzie „e”	Wiek zakażenia (rok życia)	Wiek zaobserwowania serokonwersji w układzie „e” (rok życia)	Czas po jakim zaobserwowano serokonwersję (lata)
1.	Tolerancji immunologicznej	nie	1	nie dotyczy	nie dotyczy
2.	Tolerancji immunologicznej	tak	1	22	21
3.	Tolerancji immunologicznej	tak	1	28	27
4.	Tolerancji immunologicznej	tak	2	18	16
5.	Tolerancji immunologicznej	tak	4	19	15
6.	Tolerancji immunologicznej	tak	5	7	2
7.	Klirensu immunologicznego	tak	2	6	4
8.	Klirensu immunologicznego	nie	10	nie dotyczy	nie dotyczy
9.	Tolerancji immunologicznej	nie	13	nie dotyczy	nie dotyczy
10.	Klirensu immunologicznego	nie	15	nie dotyczy	nie dotyczy

W analizowanej grupie samoistnej serokonwersji w układzie „e” dokonało 6 na 10 chorych, w tym 2 w okresie dzieciństwa.

4.5.4.4. Dynamika zakażenia HBV w wyselekcjonowanych grupach

4.5.4.4.1. Grupa chorych będących w fazie tolerancji immunologicznej w momencie wykrycia zakażenia HBV

Chorzy będący w momencie wykrycia zakażenia HBV w fazie kontroli immunologicznej, nie poddani leczeniu przeciwwirusowemu poniżej 18. roku życia stanowią grupę 37 z 79 poddanych analizie. U 15 pacjentów tej podgrupy zaobserwowano podczas całego okresu obserwacji zaostrenie zakażenia HBV,

definiowane jako wzrost wirerii HBV-DNA powyżej 2×10^4 IU/ml lub aktywność aminotransferaz minimum dwa razy powyżej górnej granicy normy. Wyżej wymienione dane w poszczególnych grupach prezentuje tabela 19.

Tabela 19. Zestawienie liczby chorych, będących w fazie tolerancji immunologicznej w momencie wykrycia zakażenia HBV w kontekście zaostrzenia pzwzB.

Grupa	Liczba pacjentów		Razem
	u których doszło do zaostrzenia pzwzB	u których nie doszło do zaostrzenia pzwzB	
2.	0	4	4
3.	3	7	10
4.	12	12	24
Razem	15	22	37

Zaostrzenie pzwzB zaobserwowano u 15 pacjentów. Do zaostrzenia doszło tylko u chorych grupy 3. i 4.. Na podstawie analizy statystycznej nie udowodniono, że istnieją znamienne różnice w odsetkowym występowaniu zaostrzenia pzwzB pomiędzy grupą 2. i 3. ($p=0,5055$), 2. i 4. ($p=0,1131$) oraz 3. i 4. ($p=0,4513$).

U pacjentów, u których doszło do zaostrzenia uwzględniono wiek zakażenia oraz czas jaki upłynął do momentu zaostrzenia pzwzB. Powyższe dane prezentuje tabela 20.

Tabela 20. Wykaz chorych, będących w fazie tolerancji immunologicznej w momencie wykrycia zakażenia HBV, u których doszło do zaostrzenia pzwWB z uwzględnieniem wieku zakażenia i czasu jaki upłynął do momentu zaostrzenia.

Grupa	Kolejny pacjent	Wiek zakażenia (rok życia)	Czas jaki upłynął do momentu zaostrzenia (lata)
3.	1.	12.	31
	2.	9.	26
	3.	11.	20
	Średnia±SD	10,7±1,5	25,7±5,5
4.	1.	15.	13
	2.	13.	11
	3.	13.	10
	4.	14.	14
	5.	14.	5
	6.	14.	11
	7.	15.	16
	8.	17.	20
	9.	17.	19
	10.	14.	20
	11.	17.	30
	12.	17.	16
	Średnia±SD	15.±1,6	15,4±6,4

Z uwagi na zbyt małą liczbę danych nie wykonywano analizy statystycznej.

4.5.4.4.2. Grupa chorych będących w fazie reaktywacji zakażenia w momencie wykrycia zakażenia HBV

Analizie poddano 7 pacjentów, którzy w momencie wykrycia infekcji HBV byli w fazie reaktywacji zakażenia i dotychczas nie byli leczeni lekami przeciwwirusowymi. U trzech z tych chorych podczas całego okresu obserwacji stwierdzono cechy marskości wątroby. Wiek zakażenia HBV oraz czas do momentu wystąpienia marskości wątroby przedstawia tabela 21.

Tabela 21. Wykaz chorych, będących w fazie reaktywacji zakażenia w momencie wykrycia infekcji HBV, u których doszło do marskości wątroby z uwzględnieniem wieku zakażenia i czasu jaki upłynął do momentu wystąpienia marskości.

Grupa	Kolejny pacjent	Wiek zakażenia (rok życia)	Czas jaki upłynął do momentu wystąpienia marskości wątroby (lata)
3.	1.	9	21
	2.	11	9
4.	3.	14	34
	Średnia±SD	11,3±2,5	21,3±12,5

Z uwagi na małą liczebność nie wykonywano analizy statystycznej.

4.5.5. Ultrasonografia jamy brzusznej

Liczbę chorych, u których stwierdzono patologię w badaniu ultrasonograficznym jamy brzusznej w zależności od momentu jej wystąpienia w poszczególnych grupach przedstawia tabela 22.

Tabela 22. Podział z uwagi na liczbę pacjentów, u których pojawiły się odchylenia w badaniu ultrasonograficznym jamy brzusznej w okresie dzieciństwa i/lub dorosłości.

Grupa	Liczba chorych, u których zaobserwowano odchylenia w badaniu USG			Razem
	Tylko w dzieciństwie	Tylko w dorosłości	W dzieciństwie i dorosłości	
1.	1	3	0	4
2.	0	5	1	6
3.	0	4	1	5
4.	0	15	0	15
Razem	1	27	2	30

Wykazano znamiennej różnicę w odsetkowym występowaniu patologii stwierdzanych w badaniu USG jamy brzusznej u pacjentów w okresie dzieciństwa i dorosłości ($p < 0,0001$).

Częstość i rodzaj pojawienia się najczęściej występujących odchyłeń w badaniu ultrasonograficznym w poszczególnych grupach przedstawia tabela 23.

Tabela 23. Liczba i rodzaj zaobserwowanych odchyłeń w badaniu USG jamy brzusznej w okresie dzieciństwa i dorosłości.

Rodzaj patologii	Częstość występowania odchyłeń w badaniu USG								Razem
	Grupa 1.		Grupa 2.		Grupa 3.		Grupa 4.		
	do 18. roku życia	po 18. roku życia	do 18. roku życia	po 18. roku życia	do 18. roku życia	po 18. roku życia	do 18. roku życia	po 18. roku życia	
Powiększenie narządów mięsaszowych	1	1	1	4	0	0	0	3	10
Wzmożona echogeniczność mięszu wątroby	0	1	0	1	1	3	0	7	13
Ziarnista echogeniczność mięszu wątroby	0	1	0	1	0	2	0	3	7
Guz wątroby (np. naczyniak, HCC)	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Razem	4		7		6		15		32

U 3 chorych objawy pojawiły się w okresie do 18. roku życia, a u 29 chorych po 18. roku życia. Wykazano, że znamienne najczęściej występującymi objawami stwierdzanymi w badaniu ultrasonograficznym są powiększenie narządów mięsaszowych, wzmożona echogeniczność mięszu wątroby oraz ziarnista echogeniczność mięszu wątroby ($p < 0,0001$).

4.5.6. Badanie histopatologiczne wątroby

32 z 79 badanych miało wykonaną biopsję wątroby. Wyniki badań histopatologicznych podawane były wg niefunkcjonującej już „starej” nomenklatury oceniającej kryteria morfologiczne lub wg pięciostopniowej skali oceniającej stopień zaawansowania zmian zapalnych (G) lub włóknienie (S).

4.5.6.1. Wyniki badań według „starej” nomenklatury

10 chorych miało wykonane badanie histopatologiczne wycinka wątroby, które zostało ocenione według kryteriów morfologicznych (HCA lub HCP). U wszystkich tych pacjentów biopsję wątroby wykonano w dzieciństwie. Zestawienie wyników badań z uwzględnieniem fazy zakażenia HBV w momencie wykrycia infekcji przedstawia tabela 24.

Tabela 24. Zestawienie wyników badań histopatologicznych wątroby, ocenionych według nomenklatury opisującej kryteria morfologiczne, z uwzględnieniem fazy zakażenia HBV, w poszczególnych grupach pacjentów.

Grupa	Kolejny pacjent	Faza zakażenia w momencie wykrycia	Wynik badania histopatologicznego wątroby
1.	1.	Klirensu immunologicznego	HCP
2.	2.	Klirensu immunologicznego	HCA
	3.	Tolerancji immunologicznej	HCP
	4.	Tolerancji immunologicznej	HCP
	5.	Klirensu immunologicznego	HCP
3.	6.	Reaktywacji zakażenia	HCP
	7.	Klirensu immunologicznego	HCP
	8.	Klirensu immunologicznego	HCA
4.	9.	Kontroli immunologicznej	HCP
	10.	Tolerancji immunologicznej	HCA

U 4 na 5 badanych pacjentów zakażonych poniżej 6. roku życia rozpoznano HCP. U badanych zakażonych powyżej 6. roku życia HCP rozpoznano u 3 na 5 chorych. Nie wykazano znamiennej różnicy w częstości stwierdzenia *hepatitis chronica activa vs hepatitis chronica persistens* u chorych zakażonych HBV przed i po 6. roku życia ($p=0,417$).

4.5.6.2. Wyniki badań według skali METAVIR

25 chorych miało wykonane badanie histopatologiczne wycinka wątroby, które zostało ocenione według skali METAVIR. U wszystkich tych pacjentów biopsję wątroby wykonano w okresie dzieciństwa i/lub dorosłości. Tylko 2 pacjentów miało wykonaną biopsję wątroby po terapii przeciwwirusowej. Pozostałych 23 badanych nie było leczonych preparatami przeciwwirusowymi przed wykonaniem badania histopatologicznego. Zestawienie wyników badań, z uwzględnieniem fazy zakażenia HBV w momencie wykrycia infekcji, oraz momentu wykonania biopsji wątroby, u chorych uprzednio nie leczonych przeciwwirusowo, przedstawia tabela 25.

Tabela 25. Zestawienie wyników badań histopatologicznych wątroby, ocenionych według pięciostopniowej skali, z uwzględnieniem fazy zakażenia HBV, w poszczególnych grupach pacjentów, nie poddanych uprzednio leczeniu przeciwwirusowemu.

Grupa	Kolejny pacjent	Faza zakażenia w momencie wykrycia	Wynik badania histopatologicznego			
			przed 18. rokiem życia		po 18. roku życia	
			G	S	G	S
1.	1.	Klirensu immunologicznego	3	1		
	2.	Tolerancji immunologicznej	1	0	1	1
	3.	Tolerancji immunologicznej			2	2
	4.	Tolerancji immunologicznej	1	0		
	5.	Klirensu immunologicznego	3	1		
	6.	Tolerancji immunologicznej	0	0		
2.	7.	Tolerancji immunologicznej			1	1
	8.	Klirensu immunologicznego	2	2		
	9.	Tolerancji immunologicznej			2	1
	10.	Klirensu immunologicznego	1	1		
	11.	Klirensu immunologicznego	2	1		
3.	12.	Tolerancji immunologicznej			2	2
	13.	Kontroli immunologicznej			1-2	1
	14.	Kontroli immunologicznej			2	1
	15.	Reaktywacji zakażenia	3	3-4		
	16.	Tolerancji immunologicznej			1	1
4.	17.	Kontroli immunologicznej			1	2
	18.	Kontroli immunologicznej			2	2
	19.	Klirensu immunologicznego			2	1
	20.	Kontroli immunologicznej			2	0
	21.	Klirensu immunologicznego			2	1
	22.	Reaktywacji zakażenia			2	1
	23.	Kontroli immunologicznej			1	2

Nie wykazano statystycznie znamiennych różnic (pomiędzy grupami) w wynikach badania histopatologicznego wątroby przeprowadzonego zarówno w okresie dziecięcym jak i dorosłości w zależności od wieku zakażenia HBV ($p=1,0$).

Nie wykazano statystycznie znamiennej różnicy w ocenie stopnia nasilenia zmian zapalnych (G) w badaniu histopatologicznym wątroby przeprowadzonym w dzieciństwie pomiędzy pacjentami będącymi w fazie tolerancji immunologicznej w momencie wykrycia zakażenia, a pacjentami będącymi w fazie klirensu

immunologicznego w momencie wykrycia infekcji ($p=0,0714$ – na granicy istotności statystycznej). Z kolei wykazano statystycznie znamiennej różnicę w ocenie stopnia zaawansowania włóknienia (S) w badaniu histopatologicznym wątroby przeprowadzonym w dzieciństwie pomiędzy pacjentami będącymi w fazie tolerancji immunologicznej w momencie wykrycia zakażenia, a pacjentami będącymi w fazie klirensu immunologicznego w momencie wykrycia infekcji ($p=0,0357$).

Nie udowodniono, że istnieją różnice w stopniu nasilenia zmian zapalnych ($p=0,7245$) i włóknienia ($p=0,2927$) w badaniu histopatologicznym wątroby przed i po 18. roku życia.

5. OMÓWIENIE WYNIKÓW I DYSKUSJA

Istnieje niewiele naukowych doniesień przedstawiających analizę przebiegu przewlekłego zakażenia HBV nabytego poniżej 18. roku życia, które analizują wyniki pacjentów z okresu dzieciństwa i dorosłości. Potrzebę zajęcia się tym problemem zasygnalizowała już Kowala-Piaskowska w 2000 roku (Kowala-Piaskowska i wsp., 2000). W większości doniesień okres obserwacji obejmował wiek dziecięcy lub niewiele wykraczający powyżej 18. roku życia albo analizowany był przebieg zakażenia HBV już w okresie dorosłości. Nieliczne prace, które omawiają wyżej wymienioną problematykę pochodzą z ośrodków azjatyckich oraz Północnych Włoch, co zostanie przytoczone w dalszej części tego rozdziału.

Nietrudno jest zauważyć, że pwzwB przypomina przebieg owzwB z tą różnicą, że pwzwB jest „rozciągnięte w czasie” i w przeciwieństwie do owzwB „z rzadka” dochodzi do zaniku antygeny HBs. W celu ułatwienia przeprowadzenia analizy grupę 79 badanych pacjentów podzielono na cztery grupy w zależności od wieku, w którym doszło do zakażenia HBV. Okres, od momentu zakażenia do momentu jego wykrycia i tym samym przeprowadzenia pierwszych badań u chorych, wynosił od pół roku do sześciu lat (średnio półtora roku). Na podstawie przeprowadzonych pierwszych badań ustalono, że w całej grupie pacjentów w momencie wykrycia zakażenia istotnie odsetkowo najwięcej chorych będących w fazie tolerancji immunologicznej należało do grupy 1. (75%), a najmniej do grupy 4. (5,6%) ($p < 0,0001$); 38,9% i 11,7% badanych było odpowiednio w grupie 2. i 3. ($p = 0,1212$). *Per analogiam* można zauważyć, że pacjenci zdiagnozowani w fazie kontroli immunologicznej „pojawił się” już w grupie 2. (22,2%), a znamienne najwięcej ich było w grupie 4. (66,7%) ($p = 0,0034$). Nie dowodzi to jednak faktu, że u tych chorych nie wystąpiły kolejno fazy tolerancji immunologicznej i klirensu immunologicznego, gdyż jak twierdzi Croagh przejście z fazy do fazy odbywa się „tak szybko, że może zostać niezauważone” (Croagh i wsp., 2014). Na podstawie wyników częstości występowania poszczególnych faz w momencie wykrycia zakażenia można stwierdzić, że istnieje trend „skracania się” długości poszczególnych faz zakażenia proporcjonalny do wieku, w którym doszło do infekcji HBV. Już Beasley w 1977 roku zauważył, że ryzyko

przewlekłej infekcji jest największe (80-90%), gdy do zakażenia dochodzi w okresie niemowlęcym (Beasley i wsp., 1977). Pięć lat później podał, że długość fazy zakażenia jest zależna od wieku i wynosi odpowiednio dla fazy tolerancji immunologicznej 20-30 lat, dla fazy klirensu immunologicznego „może się przedłużyć”, faza kontroli immunologicznej „trwa lata”, a długość fazy reaktywacji zakażenia „jeszcze nie jest znana” (Beasley i wsp., 1982). Można tym samym uznać, że pzwzB jest kontynuacją ostrej fazy, a częstość przechodzenia owzwb w pzwzB jest odwrotnie proporcjonalna do wieku zakażenia (Nałęcz i wsp., 1992). I tak, w przypadku zakażenia HBV w okresie noworodkowym, do pzwzB dochodzi w 98% przypadków, w pierwszym roku życia - w 70-90%, w 2.-5. roku życia w 20-50%, a powyżej 6. roku życia w mniej niż 6% (Wysocki, 1996). Badacze z Australii wykazali, na podstawie analizy wielu prac naukowych z całego świata, że wiek zakażenia jest silnym ale nie jedynym predyktorem kwalifikującym do przejścia w pzwzB (Croagh i wsp., 2014).

Brak jest prac i doniesień statystycznych (przynajmniej w Polsce), które omawiałyby u jakiego odsetka chorych z pzwzB wdrożono leczenie przeciwwirusowe w poszczególnych grupach wiekowych. Na podstawie danych przedstawionych w wynikach stwierdzono, że „procentowo” leczenie przeciwwirusowe otrzymało znamienne najwięcej chorych w grupach zakażonych HBV do 6. roku życia ($p < 0,0001$). Ponad połowa z tych pacjentów otrzymała już leczenie w okresie dzieciństwa. 75% chorych z grupy drugiej było leczonych w okresie dorosłości, a z grupy pierwszej wszyscy pacjenci. Znamienne inaczej przedstawia się sytuacja jeżeli chodzi o pacjentów zakażonych HBV powyżej 6 roku życia ($p = 0,0266$). W grupie trzeciej, w okresie dzieciństwa, było leczonych mniej niż 20% dzieci, a w grupie czwartej mniej niż 10%. Z kolei, w okresie dorosłości, już około 50% z obydwu wyżej wymienionych grup otrzymało leczenie przeciwwirusowe, co jednoznacznie pośrednio przemawia za „pojawianiem się” wskazań do leczenia pzwzB w miarę upływu czasu. Warto też zwrócić uwagę na fakt, że wszyscy pacjenci, bez względu na wiek zakażenia, którzy byli leczeni w okresie dzieciństwa, wymagali również terapii w

okresie dorosłości. Prawdopodobnie powyższa sytuacja, dotycząca leczenia związana była z dopuszczeniem do terapii pzwzB u dzieci tylko IFN i lamiwudyny.

Panuje powszechna opinia, że symptomatologia pzwzB jest mało specyficzna, o ile nie dojdzie już do rozwinięcia marskości wątroby lub jej powikłań. Aktualnie, w nielicznych już pracach opisujących naturalny przebieg zakażenia HBV, w praktyce spotyka się badania zliczające częstość występowania określonych objawów klinicznych, zwłaszcza tych mało specyficznych. Wśród 79 badanych pacjentów 1/3 z nich (33,3%) prezentowała objawy kliniczne w okresie dzieciństwa i/lub dorosłości. W grupach chorych, zakażonych HBV poniżej 13. roku życia, częstość zgłaszanych objawów lub ich obecność w badaniu fizykalnym była taka sama podczas dzieciństwa, jak i w wieku dorosłym ($p=0,7728$). Natomiast u pacjentów grupy 4. objawy kliniczne w znacznej większości „pojawiły się” dopiero w wieku dorosłym ($p=0,0009$). Twierdzenie „im młodszy wiek dziecka, tym częstszy bezobjawowy przebieg zakażenia” (Wysocki, 1996) zgadza się z wynikami mojej pracy, pod warunkiem że Autor wziął pod uwagę częstość występowania tylko w wieku dziecięcym. Zgodna jest natomiast teza wyżej wymienionego, że „obraz kliniczny jest zależny od wieku dziecka w chwili zakażenia”. I tak w grupie pierwszej istotnie dominował brak apetytu i splenomegalia ($p=0,0091$). W grupach pacjentów zakażonych od 2. do 12. roku życia głównie występował ból brzucha, ale statystycznie tego nie udowodniono ($p=0,184$). W ostatniej analizowanej grupie, czwartej, również najczęstszym, ale nie jedynym symptomem był ból brzucha, potem kolejno powiększenie wątroby i zgaga. Rodzaj wyżej wymienionych obserwowanych objawów zgadza się z tymi, które podaje Nałęcz (Nałęcz i wsp., 1992) oraz pokrywa się z tezami Mozer-Lisewskiej, która jako najczęstsze symptomy badania podmiotowego podaje ból brzucha i brak apetytu, a badania przedmiotowego – powiększenie narządów mięsnych (Mozer-Lisewska i wsp., 2001). U 1 z 79 pacjentów w 19. roku życia stwierdzono już na podstawie badania klinicznego objawy marskości wątroby. Te wartości zgadzają się również z obserwacjami ośrodków poznańskiego i warszawskiego, mianowicie marskość wątroby jest spotykana z częstością 1-4%, zwłaszcza u starszych dzieci (Nałęcz i wsp., 1992; Mozer-Lisewska i wsp., 2001). W dokumentacji żadnego z 79 badanych nie zauważono informacji o jakiegokolwiek manifestacji pozawątrobowej zakażenia HBV.

Warto zwrócić uwagę, że znaczna większość zgłaszanych i stwierdzanych w badaniu fizykalnym objawów ustępowała pod wpływem leczenia przeciwwirusowego.

W przypadku analizowania stężeń bilirubiny w grupie 79 chorych stwierdzono, że tylko u 6 badanych (7,6%) w okresie dzieciństwa odnotowano wzrost tego parametru powyżej normy, ale nie przekraczający stężenia 3 mg/dl. Najwięcej tych przypadków, 4, dotyczyło grupy pacjentów, u których do zakażenia HBV doszło powyżej 12. roku życia i miało związek ze zmianą fazy zakażenia; nie jest to jednak istotna różnica ($p=0,1266$). 2 z 43 badanych (4,6%), u których do zakażenia HBV doszło poniżej 12. roku życia, miało podwyższone stężenie bilirubiny – byli to chorzy odpowiednio w fazie klirensu immunologicznego i reaktywacji zakażenia. Podobnie wyniki badań z ośrodka poznańskiego nie wykazały istotnego wzrostu bilirubiny u żadnej osoby w grupie 30 obserwowanych dzieci w wieku od 2. do 14. roku życia (Służewski i wsp., 2000). W okresie dorosłości hiperbilirubinemię obserwowano u 8 pacjentów (10,1%). U 5 z nich miało to związek z marskością wątroby, u 1 z cholestazą, a u pozostałych 2 wzrost stężenia bilirubiny zaobserwowano po zastosowaniu entekawiru.

Wszystkich analizowanych 79 pacjentów można podzielić roboczo na dwie grupy: tych, którzy nie byli leczeni w okresie dzieciństwa i tych, którzy otrzymali terapię przeciwwirusową poniżej 18. roku życia. Można stwierdzić, że obiektywną retrospektywną analizę naturalnego przebiegu zakażenia HBV nabytego w dzieciństwie w pewnym sensie „zakłóciło” wdrożenie terapii przeciwwirusowej w tym okresie. Ma to negatywny wpływ na interpretację wyników badań w okresie po leczeniu przeciwwirusowym w kontekście analizy naturalnego przebiegu pzwzB, ale za to pozytywny wpływ na stan zdrowia leczonych pacjentów. 58 badanych (73,4%) nie otrzymało leczenia przeciwwirusowego w okresie dzieciństwa, tym samym pozostałych 21 (26,6%) było leczonych. Z poczynionych obserwacji wynika, że im młodszy wiek w momencie zakażenia tym większe prawdopodobieństwo otrzymania leczenia przeciwwirusowego w młodszym wieku ($p<0,0001$). Wpływ na to miała dostępność terapii przeciwwirusowej w latach 90-tych.

Biorąc pod uwagę aktywność aminotransferaz zauważono, że najwyższy odsetek pacjentów z nieprawidłowymi próbami wątrobowymi dotyczył grupy badanych zakażonych między 2. a 6. rokiem życia (38,9%), w porównaniu do innych grup nie jest to jednak istotna różnica ($p=0,5758$). Podobną obserwację przedstawił Służewski bazując na wynikach grupy dzieci, w której najwyższą aktywność aminotransferaz mieli pacjenci zakażeni HBV między 2. a 3. rokiem życia (Służewski i wsp., 2000).

Z kolei analizując zmiany antygenemii HBe w badanej grupie zaobserwowano, że chorzy z dodatnim antygenem HBe w momencie wykrycia zakażenia HBV, którzy nie byli leczeni przeciwwirusowo w dzieciństwie, podczas całego okresu obserwacji dokonali samoistnej serokonwersji w układzie „e” w 6 na 10 przypadków. Dotyczy to tylko chorych, którzy zakażili się HBV do 6. roku życia, a aż 5 z nich znajdowało się początkowo w fazie tolerancji immunologicznej. Średni czas od momentu zakażenia HBV do chwili zaniku HBeAg wynosił u badanych około 15 lat. Te obserwacje są niemalże tożsame (test dla jednej proporcji, $p=0,9487$) ze spostrzeżeniami badaczy irańskich (Roushan i wsp., 2012), którzy wykazali, że samoistna serokonwersja w układzie „e” zdarza się u 59% chorych HBeAg dodatnich, zakażonych we wczesnym dzieciństwie, dokonuje się najczęściej w trzeciej dekadzie, a najrzadziej w pierwszej dekadzie życia. Nałęcz wykazała, że samoistna serokonwersja HBeAg do anty-HBe występuje z częstością 64% opierając się na wynikach obserwacji 89 pacjentów zakażonych HBV między 1. a 17. rokiem życia (Nałęcz i wsp., 1992). Andreani dowiódł, że „utrata” fazy tolerancji immunologicznej zdarza się około 30. roku życia (Andreani i wsp., 2007). Warto zwrócić uwagę, że tylko 2 na 10 badanych dokonało samoistnej serokonwersji do anty-HBe w wieku dziecięcym, co zgadza się z wynikami prac polskich (Czajka i wsp., 1993) i amerykańskich (Hong i wsp., 2014). Badacze z Polski wykazali, że do samoistnego zaniku HBeAg doszło u 10 na 70 pacjentów (14,3%) (test dla jednej proporcji, $p=0,6066$), a amerykańscy, że u 15,8% (test dla jednej proporcji, $p=0,7158$). Jedni i drudzy dowiedli, że częstość serokonwersji HBeAg do anty-HBe wzrasta wraz z wiekiem pacjenta. Dla porównania Służewski zaobserwował na przykładzie 20-osobowej grupy dzieci HBeAg dodatnich, że do samoistnej serokonwersji doszło tylko u 4 z nich i to jeszcze tych zakażonych HBV

poniżej 2. roku życia (Służewski i wsp., 2000). Wpływ na „szybkość zaniku” HBeAg ma nie tylko wiek zakażenia HBV, ale też styl życia (Marx i wsp., 2002). Fakt ten potwierdza rozbieżność wyników badań włoskich i greckich (Croagh i wsp., 2014). Analiza przeprowadzona w Veronie we Włoszech wykazała, że średni wiek pacjenta, który miał serokonwersję w układzie „e” wynosił 31 lat, a w Grecji ponad 80% miało już zanik HBeAg w drugiej dekadzie życia. U jednego z chorych, którzy dokonali serokonwersji HBeAg do anti-HBe zaobserwowano zjawisko reserokonwersji, które w populacji chińskiej widuje się u około 5% zakażonych HBV w ciągu całego życia (Croagh i wsp., 2014).

Dwoje pacjentów będących w fazie klirensu immunologicznego, a nie poddanych terapii przeciwwirusowej w okresie dzieciństwa, należało odpowiednio do grupy 2. i 3. U pierwszej z nich (dziewczynka) po 4 latach obserwacji zauważono samoistną serokonwersję HBeAg do anti-HBe, istotny spadek wirerii HBV oraz obniżenie się aktywności aminotransferaz do wartości referencyjnych. Faza kontroli immunologicznej trwała do osiągnięcia przez tę chorą 16. roku życia, wówczas zauważono ponowny wzrost wirerii HBV do wartości kwalifikujących do rozpoczęcia terapii przeciwwirusowej. U drugiego pacjenta (płeć męska) zauważono cechy rozwiniętej marskości wątroby, aktywność AlAT utrzymywała się na poziomie 7x powyżej górnej granicy normy, a wiremia była powyżej 10^5 IU/ml. Wprawdzie dwoje pacjentów nie stanowi żadnej mocy statystycznej, ale odzwierciedla hipotezę, że faza klirensu immunologicznego częściej u mężczyzn prowadzi do marskości wątroby (Croagh i wsp., 2014) i może przetrwać przez 10-20 lat (Villeneuve, 2005).

Najbardziej reprezentatywną grupę badanych, w liczbie 37, stanowią pacjenci będący w momencie wykrycia zakażenia HBV w fazie kontroli immunologicznej, a nie poddani terapii przeciwwirusowej w wieku dziecięcym. Nie odnaleziono w polskim piśmiennictwie publikacji poruszających problem dalszych losów tych pacjentów w wieku dorosłym. U ilu z tych „zdrowych chorych” i po jakim czasie obserwowane będą zmiany pod postacią wzrostu wirerii HBV-DNA, aktywności aminotransferaz, czy nacieków zapalnych i włóknienia widocznych w badaniu histopatologicznym wątroby? W grupie wszystkich 37 badanych, podczas całego okresu obserwacji, wzrost aktywności aminotransferaz czy też wirerii HBV

wymagających wdrożenia leczenia przeciwwirusowego zauważono u 15 pacjentów (40,5%) – odpowiednio u 30% z grupy chorych zakażonych między 6. a 12. rokiem życia oraz u 50% z grupy chorych zakażonych między 13. a 18. rokiem życia. U żadnego pacjenta grupy 2. nie obserwowano ani podwyższonych prób wątrobowych ani istotnego wzrostu poziomu HBV-DNA. Chu i Liaw stwierdzili w 2007 roku, że przejście z fazy kontroli immunologicznej do fazy reaktywacji zakażenia odbywa się u 1/3 pacjentów i wzrasta wraz z wiekiem (Chu i wsp., 2007). Na podstawie własnych obserwacji, niestety z uwagi na zbyt małą liczebność grupy, nie można było potwierdzić tej tezy ($p=0,1131$). W grupie 3., czas jaki upłynął od momentu zakażenia HBV do chwili zaostrzenia, wynosił od 20 do 31 lat (średnio 26 lat), a w grupie 4. od 5 do 20 lat (średnio 15 lat). Gdyby istniała proporcjonalna zależność między wiekiem zakażenia HBV, a częstością i momentem zaostrzenia, to należałoby się spodziewać, że u około 10% pacjentów grupy 2. do zaostrzenia dojdzie po około 33 latach od chwili infekcji HBV. Dlatego stwierdzenie jednych z pierwszych badaczy problematyki zakażenia HBV: „pacjenci będący w fazie immunokontroli mają reaktywację zakażenia HBV po kilku latach” (Beasley i wsp., 1982), wydaje się zbyt ogólnikowe. U żadnego z chorych będących w fazie kontroli immunologicznej nie zaobserwowano serokonwersji HBsAg do anty-HBs pomimo tego, że źródła podają taką możliwość z częstością 1% na rok (Villeneuve, 2005).

Zaobserwowano, że do fazy reaktywacji zakażenia HBV dochodzi, gdy powstanie mutacja w regionie precore/core genomu HBV (Marcellin i wsp., 2005). Tę fazę stwierdzono w momencie wykrycia zakażenia HBV u 7 dzieci, ci pacjenci nie byli leczeni w okresie przed 18. rokiem życia. U dwójki z nich zdiagnozowanych około 10. roku życia, stwierdzono pierwsze symptomy marskości wątroby odpowiednio po 9 i 21 latach od chwili zakażenia. U pozostałych 5, u których infekcję HBV wykryto między 13. a 17. rokiem życia cechy marskości zaobserwowano tylko u 1 pacjenta po 34 latach od momentu zakażenia. Choć ta grupa nie jest liczna ($n=7$), to częstość pojawiania się zmian marskich odpowiada tezie, że do rozwoju marskości dochodzi u 8-20% zakażonych HBV będących w fazie reaktywacji zakażenia na każde 5 lat trwania choroby (Marcellin i wsp., 2005). Nie można było zweryfikować na podstawie przeprowadzonych obserwacji tezy, że marskość wątroby zdarza się dwa

razy częściej u pacjentów HBeAg ujemnych (będących w fazie reaktywacji immunologicznej) niż u pacjentów HBeAg dodatnich (będących w fazie klirensu immunologicznego) (Fattovich i wsp., 2008) z uwagi na zbyt małą liczebność obydwu grup.

Leczenie przeciwwirusowe zastosowane w dzieciństwie zmienia w oczywisty sposób historię naturalną pzwzB. 21 spośród 79 obserwowanych pacjentów miało wdrożone leczenie przeciwwirusowe w okresie dzieciństwa. Dwudziestu chorych w momencie wdrożenia terapii miało wykrywalny antygen HBe. Tylko jeden pacjent w momencie rozpoczęcia leczenia pzwzB był w fazie reaktywacji zakażenia. Po zastosowaniu u tego chorego preparatu interferonu zauważono istotny spadek wirerii HBV oraz normalizację AlAT jeszcze przynajmniej przez 7 lat (do momentu zakończenia obserwacji). Pacjenci HBeAg dodatni w okresie dzieciństwa mieli zastosowany preparat interferonu (12 badanych), lamiwudyny (2 badanych), interferon, a następnie lamiwudynę (4 badanych), interferon, a następnie entekawir (2 badanych). U dzieci leczonych interferonem zauważono, że serokonwersję HBeAg do anti-HBe miało 7 z 10, z czego większość z nich miała wyjściowo podwyższoną aktywność aminotransferaz (6 na 7) i nabyła zakażenie HBV poniżej 6. roku życia. Wyniki te są zbliżone (test dla jednej proporcji, $p=0,4871$) do rezultatów dużego kohortowego badania przeprowadzonego w latach 1990-1997 w grupie 1688 pacjentów z wielu ośrodków w Polsce gdzie serokonwersję w układzie „e” w grupie dzieci zakażonych HBV poniżej 6. roku życia i leczonych interferonem miało 49,5-65,7% (Wojnarowski i wsp., 1998). W analizowanej grupie dwoje pacjentów HBeAg dodatnich z wyjściowo prawidłową aktywnością aminotransferaz, zakażonych HBV poniżej 6. roku życia było leczonych lamiwudyną w okresie dzieciństwa. U żadnego z badanych nie doszło do zaniku HBeAg, a tylko u jednego zaobserwowano istotny spadek wirerii HBV. Pozytywną odpowiedź po leczeniu lamiwudyną (w zakresie uzyskania serokonwersji do anti-HBe) obserwuje się jedynie u 25-40% dzieci i to tych zakażonych na drodze horyzontalnej (Kowala-Piaskowska i wsp., 2005). Najciekawszą grupę stanowią HBeAg dodatni pacjenci leczeni w okresie dzieciństwa preparatami interferonu, a następnie analogami nukleozydowymi. U poddanych analizie 6 chorych, leczonych sekwencyjnie zaobserwowano w 3 przypadkach

serokonwersję w układzie „e”, a w całej grupie istotny spadek wirerii HBV. Jeden z tych pacjentów, w momencie rozpoznania zakażenia, znajdował się w fazie tolerancji immunologicznej. Generalnie nie rekomenduje się leczenia w fazie tolerancji immunologicznej aczkolwiek badania przeprowadzone przez Poddera z wykorzystaniem lamiwudyny, a następnie interferonu dało obiecujące wyniki osiągnięcia serokonwersji HBeAg do anti-HBe u 36% (Podder i wsp., 2013), co znajduje potwierdzenie w powyższych spostrzeżeniach.

W analizowanej grupie 79 pacjentów tylko u 3 (3,8%) stwierdzono patologię w badaniu obrazowym obserwowaną już w okresie dzieciństwa i dotyczyła ona powiększenia narządów mięsaszowych (wątroby i/lub śledziony). W przeciwieństwie do okresu dziecięcego, w okresie dorosłości badanie ultrasonograficzne wykazało odchylenia u 29 chorych (36,7%), z czego istotnie najwięcej ($p=0,001$) u badanych, którzy zakażili się powyżej 12. roku życia (15 z 36 poddanych analizie). Znamiennie najczęściej opisywanymi symptomami były: podwyższona echogeniczność mięszu wątroby czy jej guzkowa przebudowa oraz powiększenie narządów mięsaszowych ($p<0,0001$). Cechy marskości stwierdzono u 7 na 79 badanych pacjentów podczas całego okresu obserwacji, a u jednej chorej wykryto raka wątrobowokomórkowego w 37. roku życia. Większość badaczy uważa, że badanie USG jamy brzusznej nie jest użytecznym narzędziem w diagnostyce pzwz. Zheng i inni twierdzą, że pewne cechy badania USG jak np. szybkość przepływu przez żyłę wrotną, grubość ściany pęcherzyka żółciowego czy echogeniczność wątroby mogą prognozować wyrównaną marskość wątroby, ale z uwzględnieniem wyników badań laboratoryjnych (Zheng i wsp., 2003). Jeszcze bardziej sceptycznie do badania ultrasonograficznego, w zakresie rozpoznania marskości wątroby, odnoszą się naukowcy z Singapuru, którzy oceniają czułość tej metody na 37,5%, a swoistość na 84,5% w porównaniu do biopsji wątroby (Ong i wsp., 2003). Według nich takie cechy, jak nierówna powierzchnia czy podwyższona echogeniczność mięszu wątroby nie wystarcza do rozpoznania marskości, co z kolei kontrastuje z opinią autorów z Izraela, którzy twierdzą, że USG może służyć do potwierdzenia marskości wątroby (Fallatah i wsp., 2010). Na uwagę zasługuje fakt, że prawie wszyscy analizowani chorzy, u których stwierdzono

jakiegokolwiek odchylenia w badaniu obrazowym jamy brzusznej w okresie dorosłości nie otrzymali terapii przeciwwirusowej w okresie dzieciństwa, a u 27,6% z nich stwierdzono marskość lub raka wątrobowokomórkowego. Czy wobec powyższego należy uznać badanie USG jamy brzusznej w zakażeniu HBV za mało użyteczne w kontekście prognozowania marskości wątroby i jej powikłań?!

Z naukowego punktu widzenia, oczywiście celem poznania naturalnego przebiegu zakażenia HBV, najbardziej wartościowa wydaje się być analiza wyników badań histopatologicznych wątroby pacjentów nigdy niepoddanych leczeniu przeciwwirusowemu.

Badając zależność pomiędzy wiekiem zakażenia HBV, a nasileniem zmian w badaniu histopatologicznym wątroby nie udowodniono, że istnieją różnice pomiędzy poszczególnymi analizowanymi grupami zarówno w okresie dorosłości jak i dzieciństwa ($p=1,0$). Służewski wykazał, że zmiany typu HCA przeważały u dzieci młodszych (poniżej 3. roku życia), a HCP u dzieci starszych (Służewski i wsp., 2000). Na podstawie przeprowadzonej analizy nie można było potwierdzić wyżej wymienionej tezy z uwagi na zbyt małą liczebność grupy ($n=10$, $p=0,417$).

Rozpatrując inną zależność, a mianowicie związek pomiędzy fazą zakażenia HBV w momencie jego wykrycia, a nasileniem zmian w badaniu histopatologicznym wątroby wykazano, że pacjenci będący początkowo w fazie tolerancji immunologicznej mają nieco mniej ($p=0,0714$) nasilone zmiany zapalne (średnia $G = 1,0$) i istotnie mniej nasilone włóknienie (średnia $S = 0,33$, $p=0,0357$), niż ci będący początkowo w fazie klirensu immunologicznego (średnia $G = 2,0$, średnia $S = 1,0$). Spostrzeżenie to dotyczy okresu dzieciństwa. Poza tym nie udowodniono innych różnic pomiędzy fazami zakażenia HBV w momencie jego wykrycia, a nasileniem zmian histopatologicznych w okresie dorosłym z uwagi na małą liczebność grupy. Do niemal identycznych wniosków doszła Kasprzak analizując zmiany morfologiczne wątroby w grupie 47 dzieci zakażonych HBV (Kasprzak i wsp., 1999).

Porównując z kolei stopień zmian histopatologicznych wątroby w analizowanej grupie badanych przed i po 18. roku życia wykazano, że nie ma różnic w zakresie nasilenia zmian zapalnych ($p=0,7245$), natomiast należy podejrzewać, że istnieje

tendencja wzrostu stopnia włóknienia z wiekiem pacjenta bez względu na poziom wirerii HBV, status układu „e” i aktywności aminotransferaz pomimo, że nie udowodniono tego przy pomocy metod statystycznych ($p=0,2927$). Wpływ na otrzymanie wyżej wymienionego wyniku miała prawdopodobnie zbyt mała liczba badanych ze względnie krótkim okresem obserwacji, u których wykonano biopsję wątroby. Lai wykazał, że u 18% zakażonych HBV będących w fazie immunokontroli stwierdzono przynajmniej drugi stopień zaawansowania włóknienia (Lai i wsp., 2007), a Lok zaleca wykonanie biopsji wątroby u chorych z przewlekłą postacią choroby, którzy są „nadal” w fazie tolerancji immunologicznej (Lok i wsp., 2009).

6. WNIOSKI

1. U większości pacjentów zakażonych HBV w dzieciństwie następuje samoistna serokonwersja w układzie „e”.
2. Pacjenci będący w fazie immunokontroli (HBsAg dodatni) muszą być poddani obserwacji przez całe życie z uwagi na możliwość zaostrzenia infekcji nawet po 30-40 latach od chwili zakażenia.
3. Prawdopodobnie wszyscy pacjenci zakażeni HBV, którzy byli leczeni w okresie dzieciństwa preparatami interferonu i/lub lamiwudyny będą również wymagać terapii przeciwwirusowej w życiu dorosłym.
4. Jedna trzecia pacjentów z pzwB ma niespecyficzne objawy kliniczne, które ustępują pod wpływem skutecznej terapii przeciwwirusowej.
5. Z uwagi na możliwość progresji włóknienia, bez względu na fazę zakażenia HBV, każdy pacjent powinien mieć wykonaną biopsję wątroby.

7. STRESZCZENIE

Wstęp. Wirusem zapalenia wątroby typu B (HBV) jest zakażonych więcej niż 500 milionów ludzi na kuli ziemskiej. Do infekcji może dojść w każdym wieku. Do zakażenia HBV może dojść drogą parenteralną, seksualną i wertykalną. Przewlekłe wirusowe zapalenie wątroby typu B (pwzwb) definiuje się jako zakażenie HBV utrzymujące się dłużej niż 6 miesięcy. W pwzwb wyróżnia się 4 fazy (tolerancji immunologicznej, klirensu immunologicznego, kontroli immunologicznej, reaktywacji zakażenia), które zależą od interakcji pomiędzy wirusem, a gospodarzem. HBV może doprowadzić do marskości wątroby i raka wątrobowokomorkowego (HCC).

Cel pracy. Celem rozprawy doktorskiej jest retrospektywna analiza przebiegu objawów klinicznych, wyników badań obrazowych i laboratoryjnych oraz leczenia u pacjentów z rozpoznaniem przewlekłym zakażeniem HBV nabytym w dzieciństwie.

Material i metody. Źródłem informacji do rozprawy były dane pozyskane z dokumentacji medycznej (kartotek) 79 pacjentów, zakażonych HBV w okresie dzieciństwa. Retrospektywnej analizie poddano w szczególności okres i długość zakażenia HBV, objawy kliniczne, wyniki badań laboratoryjnych (w tym molekularnych), wyniki badań obrazowych i histopatologicznych wątroby oraz wpływ leczenia przeciwwirusowego zastosowanego w okresie dzieciństwa.

Wyniki. Do badania zakwalifikowano 79 pacjentów, którzy zakażili się HBV w okresie do momentu ukończenia 17. roku życia i nadal mają dodatni wynik HBsAg. Grupę włączonych do analizy stanowiło 47 (59,5%) mężczyzn i 32 (40,5%) kobiety. 79 badanych pacjentów podzielono na cztery grupy w zależności od wieku, w którym doszło do zakażenia HBV. Okres od momentu zakażenia do momentu jego wykrycia wynosił od pół roku do sześciu lat (średnio półtora roku). Najwięcej chorych będących w fazie tolerancji immunologicznej było zakażonych w okresie niemowlęcym (75%), a najmniej między 13. a 18. rokiem życia (5,6%). Pacjenci zdiagnozowani w fazie kontroli immunologicznej najliczniejsi byli w grupie zakażonych HBV między 13. a

18. rokiem życia. Leczenie przeciwwirusowe otrzymało najwięcej chorych w grupach zakażonych HBV do 6. roku życia. Jedna trzecia pacjentów (33,3%) prezentowała objawy kliniczne w okresie dzieciństwa i/lub dorosłości. U 7,6% badanych w okresie dzieciństwa odnotowano wzrost stężenia bilirubiny do poziomu 3mg/dl najczęściej u pacjentów, u których do zakażenia HBV doszło powyżej 12. roku życia i miało związek ze zmianą fazy zakażenia. Najwięcej pacjentów z nieprawidłowymi próbami wątrobowymi było zakażonych między 2. a 6. rokiem życia (38,9%). Chorzy HBeAg dodatni podczas całego okresu obserwacji dokonali samoistnej serokonwersji w „układzie e” w 6 na 10 przypadków. Pacjenci będący w fazie kontroli immunologicznej mieli wzrost aktywności aminotransferaz lub wiremii HBV w 40,5% przypadków podczas całego okresu obserwacji. 70% dzieci leczonych interferonem miało serokonwersję HBeAg do anty-HBe. U 6 chorych leczonych sekwencyjnie (IFN a następnie AN) zaobserwowano w 3 przypadkach serokonwersję w układzie „e”, a u całej szóstki istotny spadek wiremii HBV. 3,8% obserwowanych miało patologie w badaniu obrazowym w okresie dzieciństwa, a w okresie dorosłości badanie ultrasonograficzne wykazało odchylenia u 36,7% chorych.

Wnioski. 1. U większości pacjentów zakażonych HBV w dzieciństwie następuje samoistna serokonwersja w układzie „e”.

2. Pacjenci będący w fazie immunokontroli (HBsAg dodatni) muszą być poddawani obserwacji przez całe życie z uwagi na możliwość zaostrzenia infekcji HBV nawet po 30-40 latach od chwili zakażenia.

3. Prawdopodobnie wszyscy pacjenci zakażeni HBV, którzy byli leczeni w okresie dzieciństwa preparatami interferonu i/lub lamiwudyny będą również wymagać terapii przeciwwirusowej w życiu dorosłym.

4. Jedna trzecia pacjentów z pzwWB ma niespecyficzne objawy kliniczne, które ustępują pod wpływem skutecznej terapii przeciwwirusowej.

5. Z uwagi na możliwość progresji włóknienia, bez względu na fazę zakażenia HBV, każdy pacjent zakażony HBV powinien mieć wykonaną biopsję wątroby.

SLOWA KLUCZOWE: przewlekłe wirusowe zapalenie wątroby typu B, HBV, HBeAg, biopsja wątroby.

SUMMARY

Introduction. Hepatitis B virus (HBV) infects more than 500 million people around the globe and can affect all ages. HBV may be contracted parenterally, sexually and vertically. Chronic hepatitis B (hepB) is defined as a persistent HBV infection - more than 6 months. HepB consists of four phases (immune tolerance, immune clearance, immune control and reactivation of infection), which all depend on the interaction between the virus and the host. HBV can lead to cirrhosis and hepatocellular carcinoma (HCC).

Aim. The aim of the dissertation is to conduct a retrospective analysis of the clinical symptoms, and the results of laboratory, and imaging tests and treatment of patients diagnosed with a chronic HBV infection acquired in childhood.

Material and methods. The source of information for the dissertation was the data obtained from medical records of 79 patients infected with HBV during childhood. A retrospective analysis covered both the period and the length of the HBV infection, its clinical symptoms, the laboratory tests (including molecular ones), the results of imaging and histopathology tests of the liver, and the effect of any antiviral treatment used in childhood.

Results. The study included 79 patients HBV infected in the period until they were 17 years of age and currently are still HBsAg-positive. The group included in the analysis consisted of 47 (59.5%) men and 32 (40.5%) women. 79 patients were divided into four groups, depending on their age at which the initial HBV infection occurred. The period from the time of the infection until its detection ranged from six months to six years (an average of one and a half year). Most patients in the immune tolerance phase were infected in infancy (75%), and the least of them between 13 and 18 years of age (5.6%). Patients diagnosed with immune control phase were most numerous in the group of infected with HBV between 13 and 18 years of age. The majority of the antiviral treatment was received by patients infected with HBV up to 6 years of age.

1/3 of patients (33.3%) presented clinical symptoms during childhood and/or adulthood. In 7.6% of the respondents there was an increase in bilirubin level ranging up to 3 mg/dL in their childhood, most common in patients whose HBV infection occurred later than 12 years of age, and was associated with a change of the phase of the infection. Most patients with abnormal aminotransferases were infected between 2 and 6 years of age (38.9%). HBeAg-positive patients, during the entire period of their observation, underwent a spontaneous anti-HBe seroconversion in 6 out of 10 cases. Patients in the immune control phase presented increased activity of transaminases or HBV viremia in 40.5% of cases during the entire observation period. 70% of children treated with interferon underwent HBeAg to anti-HBe seroconversion. In 6 HBe-positive patients treated sequentially (IFN followed by AN) 3 cases of anti-HBe seroconversion were observed, and all 6 presented a significant decrease of the HBV viral load. 3.8% patients presented a childhood USG pathology, while, in adulthood, ultrasound found deviations in 36.7% of patients.

Conclusions. 1. In the majority of HBV patients infected during childhood spontaneous HBeAg to anti-HBe seroconversion occurs.

2. Immune control patients (HBsAg positive) must be monitored all their life because of a potential for the exacerbation of their HBV infection even after 30-40 years after the initial infection.

3. Probably all of HBV-infected patients who were treated in childhood with interferon and/or lamivudine will also require antiviral therapy in adulthood.

4. One-third of the hepatitis B virus infected patients present non-specific clinical symptoms that disappear under the influence of an effective antiviral therapy.

5. Because of the potential progression of fibrosis, regardless of the phase of HBV infection, each HBV-infected patient should undergo a liver biopsy.

KEYWORDS: chronic hepatitis B, hepatitis B virus, HBeAg, liver biopsy.

8. LITERATURA

1. Andreani T, Serfety L, Mohand D, Dernaika S, i wsp. Chronic hepatitis B virus carriers in the immunotolerant phase of infection: histologic findings and outcome. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2007;5:636-641.
2. Balmasova IP, Yushchuk ND, Mynbaev OA, Alla NR, i wsp. Immunopathogenesis of chronic hepatitis B. *World J Gastroenterol*. 2014;20:14156-14171.
3. Beasley RP. Hepatitis B virus: the major etiology of hepatocellular carcinoma. *Cancer*. 1988;61:1942-1956.
4. Beasley RP, Hwang Ly, Lin CC, Leu ML, i wsp. Incidence of hepatitis B virus infections in preschool children in Taiwan. *J Infect Dis*. 1982;146:198-204.
5. Beasley RP, Trepo C, Stevens CE, Szmuness W. The e antigen and vertical transmission of hepatitis B surface antigen. *Am J Epidemiol*. 1977;105:94-98.
6. Bedossa P, Poynard T. An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C. The METAVIR Cooperative Study Group. *Hepatology*. 1996;24:289-293.
7. Bertolotti A, Kennedy P, Gehring AJ. Role of the immune response in hepatitis B. *Liver immunology: principles and practice*. Humana Press Inc, Totowa, NJ. 2007: 179-191.
8. Bialecki ES, Di Bisceglie AM. Diagnosis of hepatocellular carcinoma. *HPB (Oxford)*. 2005;7:26-34.
9. Bigger J, Dubi S. Jaundice in siphilitics under treatment. *Lancet*. 1943;241:457.
10. Blumberg B, Alter H, Visnich S. A "new" antigen in leukemia sera. *JAMA*. 1965;191:541-546.
11. Brooks DG, Teyton L, Oldstone MB, McGavern DB. Intrinsic functional dysregulation of CD4 T cells occurs rapidly following persistent viral infection. *J Virol*. 2005;79:10514-10527.
12. Chan HL, Sung JJ. Hepatocellular carcinoma and hepatitis B virus. *Liver Dis*. 2006;26:153-161.
13. Chang JJ, Lewin SR. Immunopathogenesis of hepatitis B virus infection. *Immunol Cell Biol*. 2007;85:16-23.

14. Chang MH, Hsu HY, Hsu HC, Ni YH i wsp. The significance of spontaneous hepatitis B e antigen seroconversion in childhood: with special emphasis on the clearance of hepatitis B e antigen before 3 years of age. *Hepatology*. 1995;22:1387-1392.
15. Chang TT, Lai CL, KewYoon S, Lee SS, i wsp. Entecavir treatment for up to 5 years in patients with hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B. *Hepatology*. 2010;51:422-430.
16. Chen CJ, Yang H, Su J, Jen CL i wsp. Risk of hepatocellular carcinoma across a biological gradient of serum hepatitis B virus DNA level. *JAMA*. 2006;295:65-73.
17. Chisari FV, Ferrari C. Hepatitis B virus immunopathogenesis. *Annu Rev Immunol*. 1995;13:29-60.
18. Chu CM, Liaw YF. Genotype 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. *J Hepatol*. 2005;43:411-417.
19. Chu CM, Liaw YF. Hepatitis B virus-related cirrhosis: natural history and treatment. *Semin Liver Dis*. 2006;26:142-152.
20. Chu CM, Liaw YF. Intrahepatic distribution of hepatitis B surface and core antigens in chronic hepatitis B virus infection. Hepatocyte with cytoplasmic/membranous hepatitis B core antigen as a possible target for immune hepatocytolysis. *Gastroenterology*. 1987;92:220-225.
21. Chu CM, Liaw YF. Spontaneous relapse of hepatitis in inactive HBsAg carriers. *Hepatol Int*. 2007;1:311-315.
22. Craxi A, Yurdaydm C. From viral pathobiology to the treatment of hepatitis B virus infection. EASL monothematic conference – Istanbul, Turkey, October 6-8, 2005. *J Hepatol*. 2006;44:1186-1195.
23. Croagh CM, Lubel JS. Natural history of chronic hepatitis B: Phases in a complex relationship. *World J Gastroenterol*. 2014;20:10395-10404.
24. Czajka H, Mizerski J, Gorczyca A, Bobrzyńska J. Wirusowe zapalenie wątroby typu B u dzieci. *Prz Epid*. 1993;47:249-255.

25. Dane DS., Cameron C, Briggs M. Viruse-like particles In serum of patients with Australia antygen associated hepatitis. *Lancet*. 1970;2:695-698.
26. Doo E, Liang TJ. Molecular anatomy and patophysologic implications of drug resistance in hepatitis B virus infection. *Gastroenterology*. 2001;120:1000-1008.
27. Fallatah HI, Akbar HO. Chronic hepatitis B infection in a hepatology clinic at a university hospital in Jeddah. *J Infect Dev Ctries*. 2010;4:621-628.
28. Fattovich G, Brollo L, Giustina G, Noventa F i wsp. Natural history and prognostic factors for chronic hepatitis type B. *Gut*. 1991;32:294-298.
29. Fattovich G, Bortolotti F, Donato F. Natural history of chronic hepatitis B: special emphasison disease progression and prognostic factors. *J Hepatol*. 2008;48:335-352.
30. Fattovich G, Pantalena M, Zagni I, Realdi G i wsp. European concerted action on viral hepatitis (EUROHEP). Effect of hepatitis B and C virus infections on the natural history of compensated cirrhosis: a cohort study of 297 patients. *Am J Gastroenterol*. 2002;97:2886-2895.
31. Ferrari C, Missale G, Boni C, Urbani S. Immunopathogenesis of hepatitis B. *J Hepatol*. 2003;39(Suppl 1):36-42.
32. Ferrari C, Penna A, Bertoletti A, Valli A i wsp. Cellular immune response to hepatitis B virus encoded antigens in acute and chronic hepatitis B virus infection. *J Immunol*. 1990;145:3442-3449.
33. Flaum A, Malmros H, Persson E. Eine nosocomiale icterus epidemic. *Acta Med Scand Suppl*. 1926;16:544.
34. Fung SK, Lok S. Management of patients with hepatitis B virus-induced cirrhosis. *J Hepatol*. 2005;42:54-64.
35. Ganem D, Schenider RJ. The molecular biology of the hepatitis B viruses. *Fields Virology, 4th ed. New York*. 2001.
36. GarciaM, Jemal A, Ward EM, Center MM i wsp. Global cancer facts and figures. American Cancer Society, GA, USA. 2007.
37. Gerberding JL. Incidence and prevalence of human immunodeficiency virus, hepatitis B virus, hepatitis C virus, and cytomegalovirus among health care

- personel at risk for blood exposure: final report from a longitudinal study. *J Infect Dis.* 1994;170:1410-1417.
38. Grabarczyk P, Garmiri P, Liszewski G, Doucet D i wsp. Molecular and serological characterization of hepatitis B virus genotype A i D infected blood donors in Poland. *J Viral Hepatitis.* 2009.
 39. Gripon P, Cannie I, Urban S. Efficient inhibition of hepatitis B virus infection by acylated peptides derived from the large viral surface protein. *J Virol.* 2005;79:1613-1622.
 40. Han J, Yoo HY, Choi BH, Rho HM. Selective transcriptional regulations in the human liver cell by hepatitis B viral X protein. *Bioc Biop Res Comm.* 2000;272:525-530.
 41. Hayashi PH, Di Bisceglie AM. The progression of hepatitis B- and C-infections to chronic liver disease and hepatocellular carcinoma: presentation, diagnosis, screening, prevention, and treatment of hepatocellular carcinoma. *Infect Dis Clin N Am.* 2006;20:1-25.
 42. Hong SJ, Park HJ, Chu MA, Choi BS, Choe BH. The rate of conversion from immune-tolerant phase to early immune-clearance phase in children with chronic hepatitis B virus infection. *Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr.* 2014;17:41-46.
 43. Hösel M, Quasdorff M, Wiegmann K, Webb D i wsp. Not interferon but interleukin-6 controls early gene expression in hepatitis B virus infection. *Hepatology.* 2009;50:1773-1782.
 44. Hsu YS, Chien RN, Yeh CT, Sheen IS i wsp. Long-term outcome after spontaneous HBeAg seroconversion in patients with chronic hepatitis B. *Hepatology.* 2002;35:1522-1527.
 45. Hwang SJ, Lee SD, Lu RH, Chan CY i wsp. Comparison of three different hybridization assays in the quantitative measurement of serum hepatitis B virus DNA. *J Virol Methods.* 1996;62:123-129.
 46. Iloeje UH, Yang HI, Jen CL, You SL i wsp. Predicting cirrhosis risk based on the level of circulating hepatitis B viral load. *Gastroenterology.* 2006;130:678-686.

47. Juszczak J. *Hepatitis B: patogeneza i terapia. Termedia Wydawnictwa Medyczne, Poznań, 2010.*
48. Kao JH. Role of viral factors in the natural course and therapy of chronic hepatitis B. *Hepatol Int.* 2007;1:415-430.
49. Kasprzak A, Biczysko W, Wysocki J, Zabel M, Surdyk-Zasada J. Obraz histopatologiczny, ekspresja HBV w tkance oraz wybrane dane kliniczne u dzieci z przewlekłym zapaleniem wątroby typu B. *Hepatol Pol.* 1999;6:115-122.
50. Kondo T, Suda T, Fukuyama H, Adachi M, Nagata S. Essential roles of the Fas ligand in the development of hepatitis. *Nat Med.* 1997;3:387-388.
51. Kowala-Piaskowska A, Figlerowicz M, Bujnowska A, Mozer-Lisewska I, Służewski W. Leczenie interferonem-alfa lub lamiwudyną dzieci z przewlekłym zapaleniem wątroby typu B. *Ped Pol.* 2005;80:853-860.
52. Kowala-Piaskowska A, Mozer-Lisewska I, Służewski W. Wieloletnia obserwacja po leczeniu interferonem dzieci z przewlekłym zapaleniem wątroby typu B. *Prz Epid.* 2000;54(Supl 2):96.
53. Lai M, Hyatt BJ, Nasser I, Curry M, Afdhal NH. The clinical significance of persistently normal ALT in chronic hepatitis B infection. *J Hepatol.* 2007;47:760-767.
54. Landers TA, Greenberg HB, Robinson WS. Structure of hepatitis B virus Dane particle DNA and nature of the endogenous DNA polymerase reaction. *J Virol.* 1977;23:368-376.
55. Lavanchy D. Hepatitis B virus epidemiology, disease burden, treatment and current and emerging prevention and control. *J Viral Hepatol.* 2004;11:97-107.
56. Lee AT, Ren J, Wong ET, Ban KH i wsp. The hepatitis B virus X protein sensitizes HepG2 cells to UV light-induced DANN damage. *J Biol Chem.* 2005;280:33525-33535.
57. Lee WM. Medical progress: hepatitis B virus infection. *N Eng J Med.* 1997;337:1733-1745.
58. Leevy CM, Sherlock S, Tygstrup N, Zetterman R. *Diseases of the liver and biliary tract. Raven Press, NY, 1994.*

59. Liaw YF. Hepatitis flares and hepatitis B e antigen seroconversion: implication in anti-hepatitis B virus therapy. *J Gastroenterol Hepatol*. 2003;18:246-252.
60. Liaw YF, Chu CM. Hepatitis B virus infection. *Lancet*. 2009;373:582-592.
61. Liaw YF, Chu CM, Lin DY, Sheen IS, i wsp. Age specific prevalence and significance of hepatitis B e antigen and antibody in chronic hepatitis B virus infection in Taiwan: a comparison among asymptomatic carriers, chronic hepatitis, liver cirrhosis, and hepatocellular carcinoma. *J Med Virol*. 1984;13:385-391.
62. Liaw YF, Chu CM, Su IJ, Huang MJ i wsp. Clinical and histological events preceding hepatitis B e antigen seroconversion in chronic type B hepatitis. *Gastroenterology*. 1983;84:216-219.
63. Liaw YF, Lin SM, Sheen IS, Chu CM. Acute hepatitis C virus superinfection followed by spontaneous HBeAg seroconversion and HBsAg elimination. *Infection*. 1991;19:250-251.
64. Lok AS, Lai CL, Wu PC, Leung EK, Lam TS. Spontaneous hepatitis B e antigen antibody seroconversion and reversion in Chinese patients with chronic hepatitis B virus infection. *Gastroenterology*. 1987;92:1839-1843.
65. Lok AS, McMahon BJ. AASLD practice guidelines chronic hepatitis B. *Hepatology*. 2007;45:507-539.
66. Lok AS, McMahon BJ. Chronic hepatitis B: update 2009. *Hepatology*. 2009;50:661-662.
67. Lurmann A. Eine icterus Epidemic. *Berlin Klinische Wochenschrift*. 1885;22:20-23.
68. Maini MK, Boni C, Lee CK, Larrubia JR i wsp. The role of virus-specific CD8(+) cells in liver damage and viral control during persistent hepatitis B virus infection. *J Exp Med*. 2000;191:1269-1280.
69. Manno M, Camma C, Schepis F, Bassi F i wsp. Natural history of chronic HBV carriers in northern Italy: morbidity and mortality after 30 years. *Gastroenterology*. 2004;127:756-763.
70. Marcellin P, Castelnau C, Martinot-Peignoux M, Boyer N. Natural history of hepatitis B. *Minerva Gastroenterol Dietol*. 2005;51:63-75.

71. Marcellin P, Heathcote EJ, Buti M, Gane E i wsp. Tenofovir disoproxil fumarate versus adefovir dipivoxil for chronic hepatitis B. *N Engl J Med.* 2008;359:2442-2455.
72. Marx G, Martin SR, Chicoine JF, Alvarez F. Long-term follow-up of chronic hepatitis B virus infection in children of different ethnic origins. *J Infect Dis.* 2002;186:295-301.
73. McMahon BJ, Alward WL, Hall DB, Heyward WL i wsp. 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.
74. McMahon BJ, Holck P, Bulkow L, Snowball M. Serologic and clinical outcomes of 1536 Alaska Natives chronically infected with hepatitis B virus. *Ann Intern Med.* 2001;135:759-768.
75. Milich D, Jones J, Hughes J, Price J i wsp. Is a function of the secreted hepatitis B e antigen to induce immunologic tolerance in utero? *Proc Natl Acad Sci USA.* 1990;87:6599-6603.
76. Mozer-Lisewska I, Kowala-Piaskowska A, Figlerowicz M, Służewski W. Epidemiologia i aspekty kliniczne zakażenia wirusem zapalenia wątroby typu B u dzieci. *Pediatr Prakt.* 2001;9:7-11.
77. Nałęcz A, Woynarowski M, Pawłowska J, i wsp. Historia naturalna przewlekłego zapalenia wątroby typu B. *Ped Pol.* 1992;67(Supl):55-61.
78. Neurath AR, Kent SB, Strick N, Parker K. Identification and chemical synthesis of a host cell receptor binding site on hepatitis B virus. *Cell.* 1986;46:429-436.
79. Okamoto H, Tsuda F, Sakugawa H, Sastrosoewignjo RI i wsp. Typing hepatitis B virus by homology in nucleotide sequence: comparison of surface antigen subtypes. *J Gen Virol.* 1988;69:2575-2583.
80. Ong TZ, Tan HJ. Ultrasonography is not reliable in diagnosing liver cirrhosis in clinical practice. *Singapore Med J.* 2003;44:293-295.
81. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin.* 2005;55:74-108.

82. Podder U, Yachha SK, Agarwal J, Krishnani N. Cure for immune-tolerant hepatitis B in children: is it achievable target with sequential combo therapy with lamivudine and interferon? *J Virol Hepatol.* 2013;20:311-316.
83. Pollicino T, Squadrito G, Cerenzia G, Cacciola I i wsp. Hepatitis B virus maintenance its pro-oncogenic properties in the case of occult HBV infection. *Gastroenterology.* 2004;126:102-110.
84. Rehermann B, Ferrari C, Pasquinelli C, Chisari FV. The hepatitis B virus persists for decades after patients' recovery from acute maintenance of a cytotoxic T-lymphocyte response. *Nat Med.* 1996;2:1104-1108.
85. Robinson W, Marion P, Feitelson M, Siddiqui A. *The Hepadnavirus Group: Hepatitis B and Related Viruses.* Philadelphia: Franklin Institute Press; 1982.
86. Roosinck MJ, Siddiqui A. In vivo phosphorylation and protein analysis of hepatitis B virus antigen. *J Virol.* 1987;61:955-961.
87. Rossol S, Marinos G, Carucci P, Williams R i wsp. Interleukin-12 induction of Th1 cytokines is important for viral clearance in chronic hepatitis B. *J Clin Invest.* 1997;99:3025-3033.
88. Roushan MR, Bijani A, Ramzanejad S, Roushan MH i wsp. HBeAg seroconversion in children infected during early childhood with hepatitis B virus. *J Clin Virol.* 2012;55:30-33.
89. Służewski W, Kowala-Piaskowska A, Mozer-Lisewska I. Korelacja kliniczno-morfologiczna obrazu przewlekłego wirusowego zapalenia wątroby typu B u dzieci w zależności od wieku i drogi zakażenia. *Prz Epid.* 2000;54(Supl 3):277-285.
90. Sninsky JJ, Siddiqui A, Robinson WS, Cohen SN. Cloning and endonuclease mapping of the hepatitis B viral genome. *Nature.* 1979;279:346-348.
91. Sprengers D, van der Molen RG, Kusters JG, De Man RA i wsp. Analysis of intrahepatic HBV-specific cytotoxic T-cells during and after acute HBV infection in humans. *J Hepatol.* 2006;45:182-189.
92. Tenney DJ, Pokorowski, Rose RE, Baldick CJ i wsp. Entecavir maintains a high genetic barrier to HBV resistance through 6 years in naive patients. *J Hepatol.* 2009;50 (Suppl 1):S10, Abstract 20.

93. Tsai SL, Chen PJ, Lai MY, Yang PM i wsp. Acute exacerbations of chronic type B hepatitis are accompanied by increased T-cell response to hepatitis B core and e antigens. Implications for hepatitis B e antigen seroconversion. *J Clin Invest.* 1992; 89:87-96.
94. Van der Molen RG, Sprengers D, Binda RS, de Jong EC i wsp. Functional impairment of myeloid and plasmacytoid dendritic cells of chronic hepatitis B patients. *Hepatology.* 2004;40:738-746.
95. Villeneuve JP. The natural history of chronic hepatitis B virus infection. *J Clin Virol.* 2005;34(Suppl 1):139-142.
96. Visvanathan K, Skinner N, Thompson AJ, Riordan SM i wsp. Regulation of Toll-like receptor-2 expression in chronic hepatitis B by the precore protein. *Hepatology.* 2007;45:102-110.
97. Waltman A, Biesta P, Op den Brouw ML, Janssen HL. Hepatitis B virus lacks immune activating capacity, but actively inhibits plasmacytoid dendritic cell function via interference with mTOR-induced IFN-alpha production. *Hepatology.* 2009;50 (Suppl):355A.
98. Webster G, Reignat S, Brown D, Ogg GS i wsp. Longitudinal analysis of CD8+ T cells specific for structural and nonstructural hepatitis B virus proteins in patients with chronic hepatitis B: implications for immunotherapy. *J Virol.* 2004;78:5707-5719.
99. Webster G, Reignat S, Maini M, Whalley SA i wsp. Incubation phase of acute hepatitis B in man: dynamic of cellular immune mechanism. *Hepatology.* 2000;32:1117-1124.
100. Wherry EJ, Blattman JN, Murali-Krishna K, van der Most R, Ahmed R. Viral persistence alters CD8 T-cell immunodominance and tissue distribution and results in distinct stages of functional impairment. *J Virol.* 2003;77:4911-4927.
101. Woynarowski M (red.), Socha J (red.). Wyniki leczenia interferonem alfa dzieci z przewlekłym zapaleniem wątroby typu B. Doświadczenia ośrodków polskich z lat 1990-1997. *Ped Pol.* 1998;73:1031-1041.

102. Wong JB, Koff RS, Tine F, Pauker SG. Cost-effectiveness of interferon-alpha 2b treatment for hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B. *Ann Intern Med.* 1995;122:664-675.
103. Wysocki J. Wybrane problemy patogenezy i kliniki zakażenia wirusem B zapalenia wątroby u dzieci. *Pediatr Prakt.* 1996;4:11-22.
104. Xing T, Li L, Cao H. Role of CD4+CD25+regulatory T cells in the pathogenesis of spontaneous hepatitis flare of chronic hepatitis B virus infection. *Hepatology.* 2006;44(Suppl 1):544A.
105. 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;43:173-181.
106. Zerbin A, Pilli M, Boni C, Fiscaro P i wsp. The characteristics of the cell mediated immune response identify different profiles of occult hepatitis B virus infection. *Gastroenterology.* 2008;134:1470-1481.
107. Zhang Y, Lian JQ, Huang CX, Wang JP i wsp. Circulating Toll-like receptor TLR2, TLR4, CD4+CD25+CD127 low-regulatory cells correlates with hepatitis B virus infection. *Hepatology internat.* 2009;3:111.
108. Zheng RQ, Wang QH, Lu MD, Xie SB i wsp. Liver fibrosis in chronic viral hepatitis: an ultrasonographic study. *World J Gastroenterol.* 2003;9:2484-2489.
109. Zou ZS, Zhang Z, Li BS. Dendritic cell abnormality actively involved in the pathogenesis of acute-on-chronic hepatitis B liver failure. *Hepatology internat.* 2009;3:92, Abstr PE022.
110. Żebrowska M (red.). Psychologia rozwojowa dzieci i młodzieży, Warszawa 1976, PWN.