

ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ ΑΘΗΝΩΝ
Β' ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ ΚΑΙ ΟΜΩΝΥΜΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ
ΓΕΝΙΚΟ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ ΑΘΗΝΩΝ «ΙΠΠΟΚΡΑΤΕΙΟ»
Διευθυντής: Καθηγητής Σπυρίδων Π. Ντουράκης

**Η ΙΝΤΕΡΛΕΥΚΙΝΗ 17Α ΚΑΙ Ο ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΤΙΚΟΣ
ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ ΤΩΝ Β ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΝ
ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΧΡΟΝΙΑ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ C ΚΑΙ ΜΙΚΤΗ
ΚΡΥΟΣΦΑΙΡΙΝΑΙΜΙΑ. ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΤΗΣ ΑΝΤΙΙΚΗΣ
ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ ΚΑΙ ΣΥΣΧΕΤΙΣΕΙΣ ΜΕ ΤΗ ΒΙΤΑΜΙΝΗ D.**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ
ΠΟΛΥΔΩΡΟΣ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΙΔΗΣ
ΕΙΔΙΚΟΣ ΠΑΘΟΛΟΓΟΣ

ΑΘΗΝΑ 2019

<i>Ημερομηνία αιτήσεως διδακτορικής διατριβής</i>	03-03-2010
<i>Ημερομηνία ορισμού Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής</i>	30-06-2010
<i>Ημερομηνία Ορισμού Θέματος</i>	20-10-2010

Η ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

ΣΠΥΡΙΔΩΝ Π. ΝΤΟΥΡΑΚΗΣ, Καθηγητής

ΙΩΑΝΝΗΣ ΚΟΣΚΙΝΑΣ, Καθηγητής

ΣΠΗΛΙΟΣ ΜΑΝΩΛΑΚΟΠΟΥΛΟΣ, Αναπληρωτής Καθηγητής

Η ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

ΣΠΥΡΙΔΩΝ Π. ΝΤΟΥΡΑΚΗΣ (Επιβλέπων)

Καθηγητής Παθολογίας Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ,

Β' Παν. Παθολογική Κλινική Γ.Ν.Α. «Ιπποκράτειο»

ΙΩΑΝΝΗΣ ΚΟΣΚΙΝΑΣ

Καθηγητής Παθολογίας - Ηπατολογίας Ιατρικής Σχολής Ε.Κ.Π.Α.

Β' Παν. Παθολογική Κλινική Γ.Ν.Α. «Ιπποκράτειο»

ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ ΒΑΣΙΛΟΠΟΥΛΟΣ

Καθηγητής Παθολογίας - Ρευματολογίας Ιατρικής Σχολής Ε.Κ.Π.Α.

Β' Παν. Παθολογική Κλινική Γ.Ν.Α. «Ιπποκράτειο»

ΣΠΗΛΙΟΣ ΜΑΝΩΛΑΚΟΠΟΥΛΟΣ

Αναπληρωτής Καθηγητής Παθολογίας - Γαστρεντερολογίας Ιατρικής Σχολής Ε.Κ.Π.Α.

Β' Παν. Παθολογική Κλινική Γ.Ν.Α. «Ιπποκράτειο»

ΑΙΜΙΛΙΑ ΧΑΤΖΗΓΙΑΝΝΗ

Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Βιοπαθολογίας - Κλινικής Μικροβιολογίας Ιατρικής Σχολής

Ε.Κ.Π.Α. Β' Παν. Παθολογική Κλινική Γ.Ν.Α. «Ιπποκράτειο»

ΑΛΕΞΑΝΔΡΑ ΑΛΕΞΟΠΟΥΛΟΥ

Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Παθολογίας Ιατρικής Σχολής Ε.Κ.Π.Α.

Β' Παν. Παθολογική Κλινική Γ.Ν.Α. «Ιπποκράτειο»

ΜΕΛΑΝΙ ΝΤΟΙΤΣ

Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Παθολογίας - Ηπατολογίας Ιατρικής Σχολής Ε.Κ.Π.Α.

Β' Παν. Παθολογική Κλινική Γ.Ν.Α. «Ιπποκράτειο»

Πρόεδρος Ιατρικής Σχολής: **Καθηγητής Πέτρος Π. Σφηκάκης**

Ο ΟΡΚΟΣ ΤΟΥ ΙΠΠΟΚΡΑΤΟΥΣ

Ὅμνυμι Ἀπόλλωνα ἰητρὸν, καὶ Ἀσκληπιὸν, καὶ Ὑγίαν, καὶ Πανάκειαν, καὶ θεοὺς πάντας τε καὶ πάσας, ἱστορας ποιεύμενος, ἐπιτελέα ποιήσιν κατὰ δύναμιν καὶ κρίσιν ἐμὴν ὅρκον τόνδε καὶ συγγραφὴν τήνδε.

Ἠγήσασθαι μὲν τὸν διδάξαντά με τὴν τέχνην ταύτην ἴσα γενέτησιν ἐμοῖσι, καὶ βίου κοινώσασθαι, καὶ χρεῶν χρηρίζοντι μετάδοσιν ποιήσασθαι, καὶ γένος τὸ ἐξ ωυτέου ἀδελφοῖς ἴσον ἐπικρινέειν ἄρρεσι, καὶ διδάξειν τὴν τέχνην ταύτην, ἣν χρηρίζωσι μανθάνειν, ἄνευ μισθοῦ καὶ συγγραφῆς, παραγγελίης τε καὶ ἀκροήσιος καὶ τῆς λοιπῆς ἀπάσης μαθήσιος μετάδοσιν ποιήσασθαι υἱοῖσί τε ἐμοῖσι, καὶ τοῖσι τοῦ ἐμὲ διδάξαντος, καὶ μαθηταῖσι συγγεγραμμένοις τε καὶ ὠρκισμένοις νόμῳ ἱητρικῷ, ἄλλῳ δὲ οὐδενί.

Διαιτήμασί τε χρήσομαι ἐπ' ὠφελείῃ καμνόντων κατὰ δύναμιν καὶ κρίσιν ἐμὴν, ἐπὶ δηλήσει δὲ καὶ ἀδικίῃ εἴρξιν.

Οὐ δώσω δὲ οὐδὲ φάρμακον οὐδενὶ αἰτηθεὶς θανάσιμον, οὐδὲ ὑφηγήσομαι ξυμβουλίην τοιήνδε.

Ὅμοίως δὲ οὐδὲ γυναικὶ πεσσὸν φθόριον δώσω.

Ἀγνῶς δὲ καὶ ὁσίως διατηρήσω βίον τὸν ἐμὸν καὶ τέχνην τὴν ἐμήν.

Οὐ τεμέω δὲ οὐδὲ μὴν λιθιῶντας, ἐκχωρήσω δὲ ἐργάτησιν ἀνδράσι πρήξιος τῆσδε.

Ἐς οἰκίας δὲ ὁκόσας ἂν ἐσίω, ἐσελεύσομαι ἐπ' ὠφελείῃ καμνόντων, ἐκτὸς ἐὼν πάσης ἀδικίης ἐκουσίης καὶ φθορίης, τῆς τε ἄλλης καὶ ἀφροδισίων ἔργων ἐπὶ τε γυναικείων σωμάτων καὶ ἀνδρώων, ἐλευθέρων τε καὶ δούλων.

Ἄ ὃ' ἂν ἐν θεραπείῃ ἦ ἴδω, ἦ ἀκούσω, ἦ καὶ ἄνευ θεραπήϊς κατὰ βίον ἀνθρώπων, ἃ μὴ χρή ποτε ἐκλαλέεσθαι ἔξω, σιγήσομαι, ἄρρήτα ἡγεύμενος εἶναι τὰ τοιαῦτα.

Ὅρκον μὲν οὖν μοι τόνδε ἐπιτελέα ποιέοντι, καὶ μὴ συγχέοντι, εἴη ἐπαύρασθαι καὶ βίου καὶ τέχνης δοξαζομένῳ παρὰ πᾶσιν ἀνθρώποις ἐς τὸν αἰεὶ χρόνον. παραβαίνοντι δὲ καὶ ἐπιорκοῦντι, τάναντία τουτέων.

Στην οικογένεια μου

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ	7 - 8
ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ	9 - 17
ΣΥΝΤΟΜΕΥΣΕΙΣ – ABBREVIATIONS	18 - 20
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	21 - 76
1. ΙΟΓΕΝΗΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ C	22 - 41
1.1. ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ	22 - 23
1.2. ΤΟ ΜΕΓΕΘΟΣ ΤΟΥ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΟΣ	23 - 25
1.3. ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ ΙΟΥ ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ C	26
1.4. Η ΛΟΙΜΩΞΗ ΑΠΟ ΤΟΝ ΙΟ ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ C	27 - 29
1.5. ΤΡΟΠΟΣ ΜΕΤΑΔΟΣΗΣ, ΟΜΑΔΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΚΑΙ ΔΙΑΓΝΩΣΗ	29 - 31
1.6. ΜΙΚΤΗ ΚΡΥΟΣΦΑΙΡΙΝΑΙΜΙΑ	31 - 33
1.7. Η ΕΞΕΛΙΞΗ ΤΗΣ ΑΝΤΙΙΚΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ ΣΤΗ CHC	34 - 41
2. Η ΑΝΟΣΙΑΚΗ ΑΠΟΚΡΙΣΗ	42 - 61
2.1. ΣΤΗ ΧΡΟΝΙΑ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ C	42 - 59
2.2. ΣΤΗ ΜΙΚΤΗ ΚΡΥΟΣΦΑΙΡΙΝΑΙΜΙΑ	60 - 61
3. ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΕΣ	62 - 68
3.1. Η ΙΝΤΕΡΛΕΥΚΙΝΗ 17	62 - 65
3.2. Ο ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΤΙΚΟΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ ΤΩΝ Β ΛΕΜΦΟΚΥΤΑΡΩΝ	66 - 67
3.3. ΗΠΑΤΙΚΗ ΒΛΑΒΗ	67 - 68
4. Η ΒΙΤΑΜΙΝΗ D	69 - 74
4.1. ΣΤΗ ΧΡΟΝΙΑ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ C	69 - 71
4.2. Η ΣΧΕΣΗ ΜΕ ΤΑ Τ ΚΥΤΤΑΡΑ ΚΑΙ ΤΗΝ ΙΝΤΕΡΛΕΥΚΙΝΗ 17	71 - 72
4.3. Η ΣΧΕΣΗ ΜΕ ΤΑ Β ΚΥΤΤΑΡΑ ΚΑΙ ΤΟΝ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΤΙΚΟ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ ΤΩΝ Β ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΝ	73 - 74

5. ΕΛΑΣΤΟΓΡΑΦΙΑ ΤΟΥ ΗΠΑΤΟΣ.....	75 - 76
---------------------------------	---------

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	77 - 101
--------------------------	-----------------

1. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ.....	78
2. ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	79 - 90
2.1. ΧΩΡΟΣ ΚΑΙ ΧΡΟΝΟΣ ΔΙΕΞΑΓΩΓΗΣ.....	79
2.2. ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΕΝΤΑΞΗΣ ΚΑΙ ΑΠΟΚΛΕΙΣΜΟΥ.....	79 - 80
2.3. ΟΜΑΔΕΣ ΕΛΕΓΧΟΥ.....	80
2.4. ΚΑΤΑΓΡΑΦΗ ΚΑΙ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ ΑΣΘΕΝΩΝ.....	80 - 82
2.5. ΚΑΘΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΚΡΥΟΣΦΑΙΡΙΝΑΙΜΙΑΣ.....	82 - 83
2.6. ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΚΗΣ ΙΝΩΣΗΣ.....	83
2.7. ΜΕΤΡΗΣΗ ΤΗΣ ΒΙΤΑΜΙΝΗΣ D.....	84 - 85
2.8. ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΩΝ ΜΕ ΑΝΟΣΟΕΝΖΥΜΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟ (ENZYME-LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY)	85 - 88
2.9. ΘΕΡΑΠΕΙΑ.....	88 - 89
2.10. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ.....	89
2.11. ΕΜΠΙΣΤΕΥΤΙΚΟΤΗΤΑ.....	90
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	91 - 95
3.1. ΔΗΜΟΓΡΑΦΙΚΑ ΚΑΙ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ.....	91
3.2. ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ IL-17A, BAFF ΚΑΙ ΒΙΤΑΜΙΝΗΣ D.....	91
3.3. ΟΜΑΔΕΣ ΕΛΕΓΧΟΥ.....	92 - 94
3.3.1. ΥΓΙΕΙΣ ΜΑΡΤΥΡΕΣ (ΥΜ).....	92
3.3.2. ΜΙΚΤΗ ΚΡΥΟΣΦΑΙΡΙΝΑΙΜΙΑ.....	92
3.3.3. ΠΑΡΑΤΕΤΑΜΕΝΗ ΙΟΛΟΓΙΚΗ ΑΝΤΑΠΟΚΡΙΣΗ.....	93
3.3.4. ΚΙΡΡΩΣΗ.....	94

3.3.5. ΙΪΚΟ ΦΟΡΤΙΟ.....	94
3.4. ΜΙΚΤΑ ΓΡΑΜΜΙΚΑ ΜΟΝΤΕΛΑ & ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΕΣ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗΣ.....	95
3.5. ΣΥΣΧΕΤΙΣΕΙΣ ΜΕ ΤΙΣ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΕΣ ΤΙΜΕΣ.....	95
4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	96 - 99
5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	100 - 101
ΠΕΡΙΛΗΨΗ – ABSTRACT.....	102 - 105
ΠΙΝΑΚΕΣ ΚΑΙ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΑ.....	106 - 129
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	130 - 152

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η ανοσιακή απόκριση έναντι του ιού της ηπατίτιδας C (HCV) αποτελεί αντικείμενο έρευνας για την κατανόηση των μηχανισμών που διέπουν τη νόσο και για νέες θεραπευτικές προσεγγίσεις. Οι κυτταροκίνες αποτελούν διαλυτά μόρια ενός δικτύου επικοινωνίας μεταξύ των κυττάρων, υπεύθυνου για τη ρύθμιση της ανοσιακής απόκρισης. Το πολύπλοκο δίκτυο των κυτταροκινών ξεκινά να λειτουργεί κατά την αρχική φάση της λοίμωξης, επιτρέποντας την ανάπτυξη της φυσικής και της επίκτητης ανοσίας, και συμμετέχει όχι μόνο στον έλεγχο του ιού, αλλά και στους μηχανισμούς βλάβης του ήπατος, που τελικά οδηγούν στην κίρρωση. Η μικτή κρυοσφαιριναιμία (mixed cryoglobulinemia, MC), μια από τις σημαντικότερες εξωηπατικές εκδηλώσεις της χρόνιας ηπατίτιδας C (CHC), χαρακτηρίζεται από την απορρύθμιση του δικτύου των κυτταροκινών και τη διαταραχή της ανάπτυξης των Β λεμφοκυττάρων.

Το προφίλ των κυτταροκινών στη CHC έχει μελετηθεί εκτεταμένα και συνεχώς εμπλουτίζεται με νέα στοιχεία, όπως είναι ο νέος υπότυπος των Τ βοηθητικών λεμφοκυττάρων (T helper, Th), ο Th17, που έθεσε υπό αμφισβήτηση την επικράτηση της θεωρίας του Th1/Th2 ως βασικού μοντέλου, και ο ενεργοποιητικός παράγοντας των Β-λεμφοκυττάρων (B-cell activating factor, BAFF). Οι δύο αυτές κυτταροκίνες αποτελούν σύγχρονο αντικείμενο μελέτης σε αρκετές παθήσεις, αλλά η διεθνής βιβλιογραφία σχετικά με ασθενείς που πάσχουν από CHC και MC δεν είναι πλούσια και παρουσιάζει αντιφάσεις σε πολλά ερωτήματα. Η ανά χείρας μελέτη σχεδιάστηκε αναζητώντας ανοσιακούς μηχανισμούς υπεύθυνους για την εκδήλωση MC στη CHC.

Η διδακτορική διατριβή εκπονήθηκε στη Β΄ Πανεπιστημιακή Παθολογική Κλινική της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών στο Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών Ιπποκράτειο και οι αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν στο ομώνυμο εργαστήριο. Αποτελεί προϊόν συνεργασίας πολλών ανθρώπων. Για την ανάπτυξη και την παραγωγή της αισθάνομαι βαθιά υποχρεωμένος και θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά:

Τον Καθηγητή Παθολογίας κ. *Σπυρίδωνα Ντουράκη*, για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε να με προτείνει ως υποψήφιο διδάκτορα και για την επιστημονική εποπτεία και καθοδήγηση σε όλη τη διάρκεια εκπόνησης της διδακτορικής μου διατριβής (σχεδιασμό πρωτοκόλλου, εκτέλεση, ανάλυση δεδομένων, διόρθωση εργασιών).

Τα έτερα 2 μέλη της τριμελούς επιτροπής, τον *Καθηγητή κ. Ιωάννη Κοσκίνα* και τον *Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Σπήλιο Μανωλακόπουλο*, για τις εποικοδομητικές παρατηρήσεις τους και την πολύτιμη βοήθειά τους συνολικά στη διεκπεραίωση της παρούσας διατριβής.

Την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Παθολογίας κα *Αλεξάνδρα Αλεξοπούλου*, για την ουσιαστική και έμπρακτη συμπαράστασή της σε όλα τα στάδια διεξαγωγής της μελέτης, χωρίς την οποία δεν θα ήταν εφικτή η ολοκλήρωση της παρούσας διδακτορικής διατριβής (συλλογή δεδομένων, ανάλυση αποτελεσμάτων, διόρθωση εργασιών).

Την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια κα *Αιμιλία Χατζηγιάννη*, που υπό την εποπτεία της πραγματοποιήθηκαν οι απαραίτητες μετρήσεις στο εργαστήριο της Β' Πανεπιστημιακής Παθολογικής Κλινικής, καθώς και για την ουσιαστική συνεχή βοήθεια στην αξιολόγηση των αποτελεσμάτων και στη διόρθωση των εργασιών.

Το προσωπικό του εργαστηρίου της Β' Πανεπιστημιακής Παθολογικής Κλινικής για τη φύλαξη των δειγμάτων και για την εκτέλεση των απαραίτητων εξετάσεων.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω ξεχωριστά για την αμέριστη συμπαράσταση, τον πατέρα μου *Δρ. Ιωάννη Π. Κωνσταντινίδη*, που με καθοδήγησε επιστημονικά με τη βαθιά γνώση των ανοσιακών μηχανισμών, καθώς και τη μητέρα μου, *Δρ. Μαίρη Βαρβουσή*, που μου παρείχε την καθοριστική ηθική υποστήριξη καθ' όλη τη χρονική διάρκεια εκπόνησης της διατριβής.

Πολύδωρος Κωνσταντινίδης,

Αθήνα 2019

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

Δευτεροβάθμια Εκπαίδευση:	Αρσάκειο-Τοσίτσειο Αθήνα/Δασούπολη Λευκωσία (1985 -1997)
Ιατρικές σπουδές:	Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών (1998 -2004)
Υπηρεσία Υπαίθρου:	Νομαρχιακό Νοσοκομείο Σπάρτης & Π.Ι. Σκουταρίου (2005 -2006)
Ιατρική Ειδικότητα:	Clinical Pharmacology/AAU - UCLH, London, UK (2006) Cardiology, Dewsbury & District Hospital, Leeds, UK (2007) Παθολογική Κλινική, Γ.Ν. Αθ. “Παμμακάριστος” (2008-2012)
Εξειδίκευση:	Πανεπιστημιακή ΜΕΘ (2013-2015) - Γενικό Ογκολογικό Νοσοκομείο Κηφισιάς «Οι Άγιοι Ανάργυροι»
Κλινική Εμπειρία:	Επιμελητής Β' (επικουρικός) – Α' Παθολογική Κλινική Γενικό Νοσοκομείο Αττικής «Σισμανόγλειο» (2015 - 2016)
Επιστημονικές εργασίες που προέκυψαν από τη μελέτη του υλικού της διδακτορικής διατριβής:	Δημοσιεύσεις: 1 σε Ελληνικό περιοδικό 1 σε Διεθνές περιοδικό Παρουσιάσεις: 3 σε Πανελλήνια Συνέδρια
Λοιπές επιστημονικές εργασίες:	Δημοσιεύσεις: Ελληνικά Περιοδικά: 2, Διεθνή: 1, e-magazines: 3 Συγγραφή ενοτήτων: Ελληνικά βιβλία: 10 Ανακοινώσεις: Ελληνικά Συνέδρια: 12, Διεθνή: 1 Ομιλίες: Ελληνικά Συνέδρια/Σεμινάρια: 12 Παρακολουθήσεις <i>Μετεκπαιδευτικών Σεμιναρίων</i> : 18 Παρακολουθήσεις <i>Συνεδρίων</i> : 70

- Εκπαιδευτικό έργο:** Κλινική Εκπαίδευση και Μαθήματα σε Αμφιθέατρο σε Φοιτητές Ιατρικής και Ειδικευόμενους
- Μέλος Εταιρειών:** Ελληνική Εταιρεία Μελέτης Ήπατος (ΕΕΜΗ)
- Εθελοντική Εργασία:** Δωρεάν Νοσηλεία στο Σπίτι (ΜΚΟ)

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΕΣ ΕΡΓΑΣΙΕΣ ΠΟΥ ΠΡΟΕΚΥΨΑΝ ΑΠΟ ΤΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΥΛΙΚΟΥ ΤΗΣ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ (χρονολογική σειρά)

1. **Konstantinides Polydoros**, Alexoroulou Alexandra, Hadziyannis Emilia, Kanelloroulou Theoni, Dourakis Spyridon. Interleukin-17A and B-cell activating factor in chronic hepatitis C patients with or without asymptomatic mixed cryoglobulinemia: effects of antiviral treatment and correlations with vitamin D. Ann Gastroenterol 2018; 31 (6): 705-711
2. **Κωνσταντινίδης Πολύδωρος**, Αλεξοπούλου Αλεξάνδρα, Χατζηγιάννη Αιμιλία, Μινοπέτρου Μάρθα, Κανελλοπούλου Θεώνη, Ντουράκης Σπυρίδων. Σχέσεις μεταξύ βιταμίνης D, ιντερλευκίνης 17 (IL17A) και ίνωσης σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C. ePP31. 16ο Πανελλήνιο Ηπατολογικό Συνέδριο - 2018
3. **Κωνσταντινίδης Πολύδωρος**, Αλεξοπούλου Αλεξάνδρα, Χατζηγιάννη Αιμιλία, Λαζαρίδης Δημήτρης, Κανελλοπούλου Θεώνη, Ντουράκης Σπυρίδων. Οι επιδράσεις της αντιιικής θεραπείας στην ιντερλευκίνη 17A (IL-17A) και τον ενεργοποιητικό παράγοντα των Β λεμφοκυττάρων (BAFF) σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C. ePP30. 16ο Πανελλήνιο Ηπατολογικό Συνέδριο - 2018
4. **Κωνσταντινίδης Πολύδωρος**, Γιαννακουλοπούλου Ελευθερία, Ντουράκης Σπυρίδων. Σύνδρομο Löfgren κατά τη διάρκεια θεραπείας με πεγκυλιωμένη ιντερφερόνη Α (pegIFN-a) και ριμπαβιρίνη (RBV) σε ασθενή με συλλοίμωξη χρόνιας ηπατίτιδας C και B. Συνέχιση ή διακοπή της θεραπείας; - 40ο Ετήσιο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο - 2014
5. **Κωνσταντινίδης Πολύδωρος**, Ντουράκης Σπυρίδων. Ο ρόλος των κυτταροκινών στη χρόνια ηπατίτιδα C. Β΄ Πανεπιστημιακή Παθολογική Κλινική, «Ιπποκράτειο» ΠΓΝΑ, Αθήνα. Αρχεία Ελληνικής Εταιρείας 2013, 30(6);659-674

ΛΟΙΠΕΣ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΕΣ ΕΡΓΑΣΙΕΣ

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΣΕ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ

1. Kanellopoulou Theoni, Alexopoulou Alexandra, Kontopidou Flora, **Konstantinides Polydoros**, Papatheodoridis Giorgos. The significance of platelet microparticles in patients with chronic hepatitis C and their association with antiviral treatment and smoking *Ann Gastroenterol* 2016; 29 (2): 1-7
2. **Κωνσταντινίδης Πολύδωρος**, Κωστούρου Ακριβή, Δρόσος Θεοφάνης et al Πολυεστιακή νόσος του Castleman και σάρκωμα Kaposi σε HIV-αρνητικό και HHV-θετικό ασθενή. Ανταπόκριση στη θεραπεία με R-CHOP. Σύνομη βιβλιογραφική ανασκόπηση, "ΙΑΤΡΙΚΗ" Ιανουάριος 2010, τόμος 97, τεύχος 1
3. Regkli Areti, **Konstantinides Polydoros**, Mallis Panayiotis. Μυελοϋπερπλαστικά Σύνδρομα και κυτταροκίνες, e-περιοδικό επιστήμης και τεχνολογίας (e-JST) 2008 τεύχος 2, τόμος 3, σελίδα 33-41
4. Ρέγκλη Αρετή, **Κωνσταντινίδης Πολύδωρος**, Γκούμας Γιώργος, Βαρθαλίτου Χρίστina, Μαρμαράς Νεκτάριος, Μάτσης Κωνσταντίνος. IL-1b και αιματολογικά νοσήματα, e-περιοδικό επιστήμης και τεχνολογίας, τεύχ. 3, τόμος 2, σελ.61-68
5. Ρέγκλη Αρετή, **Κωνσταντινίδης Πολύδωρος**, Μαρμαράς Νεκτάριος, Μάτσης Κωνσταντίνος. Κυτταροκίνες και non Hodgkin Λέμφωμα, e-journal Science & Technology 2008 τεύχος 1, τόμος 3, σελ. 81-88
6. **Κωνσταντινίδης Πολύδωρος**, Τσιρώνη Μαρία. Μεταβολισμός του Σιδήρου και Σιδηροπενική αναιμία. Ιατρικό περιοδικό "Ρυσμός", Ιαν-Μαρτ 2006 , τόμ.3, τεύχ.12, σ.21-23

ΣΥΓΓΡΑΦΗ ΕΝΟΤΗΤΩΝ ΣΕ ΒΙΒΛΙΑ

1. ΧΑΠ στις μεγάλες ηλικίες. **Κωνσταντινίδης Πολύδωρος**,. Μπασκούτα Ευελίνα, Χατζηβασίλογλου Φαίη, Ευσταθόπουλος Πέτρος. Βιβλίο «Εντατική Θεραπεία και επείγουσα ιατρική: Ηλικία & Βαριά Νόσος» εκδόσεις Π.Χ.Πασχαλίδη 2018
2. Παθοφυσιολογία & κλινική εκτίμηση του καρδιαγγειακού συστήματος. **Κωνσταντινίδης Πολύδωρος**, Τσίγκου Ευδοξία, Κουτραφούρη Διονυσία Καρδιακή Ανεπάρκεια & Στεφανιαία Νόσος. Εντατική Θεραπεία & Επείγουσα Ιατρική.18^ο Συνέδριο 2015, 9(88); 769-782
3. Monitoring & Διερεύνηση του καρδιαγγειακού ασθενή στη ΜΕΘ. Κουτραφούρη Διονυσία. Τσίγκου Ευδοξία, Γεωργιόπουλος Κωνσταντίνος, **Κωνσταντινίδης Πολύδωρος**. Καρδιακή Ανεπάρκεια & Στεφανιαία Νόσος. Εντατική Θεραπεία & Επείγουσα Ιατρική.18^ο Συνέδριο 2015, 9(88); 759-76
4. Μετρήσεις Σταθμών Ορμονών. **Κωνσταντινίδης Πολύδωρος**, Μπούτζουκα Ελένη, Τσίγκου Ευδοξία. Εργαστηριακός Έλεγχος. Εντατική Θεραπεία και Επείγουσα Ιατρική. 17^ο Θεματικό Συνέδριο 2014, 3(17); 300-313
5. Εξετάσεις που σχετίζονται με τις διαταραχές Σακχάρου. Μπούτζουκα Ελένη, **Κωνσταντινίδης Πολύδωρος**, Τσίγκου Ευδοξία. Εργαστηριακός Έλεγχος. Εντατική Θεραπεία και Επείγουσα Ιατρική (επιμέλεια Γ.Μπαλτόπουλος). 17^ο Θεματικό Συνέδριο 2014, 3(17); 259-274
6. Η αντιμετώπιση του Πνευμονικού Οιδήματος από το μη Ειδικό στο νοσοκομειακό Περιβάλλον. **Κωνσταντινίδης Πολύδωρος**, Παπαχρήστος Σπύρος, Κουτάγιαρ Ιωσήφ 14^ο Συνέδριο Εντατικής θεραπείας και Επείγουσας Ιατρικής: Πνευμονικό Οίδημα, 2011, 3;400-407
7. Monitoring Καλίου, **Κωνσταντινίδης Πολύδωρος**, Παπαχρήστος Σπυρίδων, Μαγκαφά Κωνσταντίνα ET AL, 12^ο Θεματικό Συνέδριο Εντατικής Θεραπείας & Επείγουσας Ιατρικής, Monitoring Ηλεκτρολυτών 2011

8. Αλληλεπιδράσεις Φαρμάκων, **Κωνσταντινίδης Πολύδωρος**, Πετσιμέρη Βασιλική, Βασιλειάδη Δήμητρα ET AL, 9^ο θεματικό συνέδριο, Εντατική θεραπεία και Επείγουσα Ιατρική: Φάρμακα σελ. 186-191
9. Αιμορραγικοί Πυρετοί, Πετσιμέρη Βασιλική, **Κωνσταντινίδης Πολύδωρος**, Αδρακτάς Ανδρέας, ET AL, 7^ο Θεματικό Συνέδριο Εντατική Θεραπείας – “Λοιμώξεις” – τόμος II, κεφάλαιο 6, σελ. 1457-1482
10. Μεταφορά Ιόντων στην Υπέρταση, Κωνσταντινίδης Ιωάννης, Πισταμαλτζιάν Νίκος, Δρόσος Θεοφάνης, **Κωνσταντινίδης Πολύδωρος** 6^ο Συνέδριο Εντατικής Θεραπείας. “Υγρά και Ηλεκτρολύτες” 2003 κεφάλαιο 3 σελ. 757-782

ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΚΑΙ ΔΙΕΘΝΗ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

1. Ο ρόλος των αιμοπεταλιακών μικροσωματιδίων σε ασθενείς με Χρόνια Ηπατίτιδα C και η συσχέτιση τους με την αντιική θεραπεία και το κάπνισμα. Κανελλοπούλου Θεώνη. Αλεξοπούλου Αλεξάνδρα, **Κωνσταντινίδης Πολύδωρος**. 41^ο Ετήσιο Πανελλήνιο. Συνέδριο 2015 *Προφορική ανακοίνωση 58*
2. Σύγκριση δύο μεθόδων παθητικής διάτασης του άκρου πόδα βαριά πασχόντων ασθενών, στην πρόληψη της πάρεσης ή παράλυσης του περνιαίου νεύρου (προκαταρκτικά αποτελέσματα) - 7^ο συνέδριο Υγείας Μεσσηνίας 2015
3. Υπάρχει Μεταβολή των κερκαδιανών ρυθμών σε ασθενείς ΜΕΘ (μελέτη παρατήρησης) – Α.Κορομπέλη , Α.Γαβαλά, **Π.Κωνσταντινίδης**, Λ.Κυριάκου, Π.Μυριανθεύς, Γ.Μπαλτόπουλος. 7^ο Συνέδριο Υγείας Μεσσηνίας 2015
4. Κανελλοπούλου Θ, Αλεξοπούλου Α, Κοντοπίδου Φ, **Κωνσταντινίδης Π**, Παπαθεοδωρίδης Γ. Ο ρόλος των αιμοπεταλιακών μικροσωματιδίων σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα-C και η συσχέτιση τους με την αντιική θεραπεία και το κάπνισμα. 14^ο Πανελλήνιο Ηπατολογικό Συνέδριο. 2015 Προφορική ανακοίνωση 17. Τόμος περιλήψεων σελίδα 47

5. Η τακτική χορήγησης φουροσεμίδης σε ασθενείς στη ΜΕΘ. (παρουσίαση αναδρομικής μελέτης). **Π.Κωνσταντινίδης**, Ε. Μπούτζουκα, Ε. Τσίγκου, Θ. Κατσούλας. 16^ο Συνέδριο Εντατικής Θεραπείας & Επείγουσας Ιατρικής 2013
6. Διηθητικές Εξεργασίες Μυελού των Οστών (ανακοίνωση) Δ. Κουτραφούρη, Α. Κωστούρου, Μ. Κοκκορού, **Π. Κωνσταντινίδης**, 21^ο έτος Ημέρες Παθολογίας, 2012
7. Μικροβιολογική Διερεύνηση Λοιμώξεων Νοσηλευόμενων σε Μονάδες Αυξημένης Φροντίδας (ανακοίνωση), 23^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Γενικής Ιατρικής, Κως 2011
8. The value of bone Marrow Aspirate smears compared with bone marrow Trephine biopsies in routine diagnostics – A comparative study of 77 cases, 14th Congress Berlin, European Hematology Association, Germany (ανακοίνωση) 2009
9. Μικροσκοπική Πολυαγγειίτιδα και Σπειραματονεφρίτιδα με μηνοειδείς σχηματισμούς, 15^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Εσωτερικής Παθολογίας, 2009
10. Κλινικές και Υποκλινικές περιπτώσεις θυρεοειδοπαθειών σε νοσηλευόμενους (ανακοίνωση), 15^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Εσωτερικής Παθολογίας, 2009
11. Συμπεριφορά Διαβητικών Ασθενών ως προς τον κάπνισμα (ανακοίνωση), 15^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Εσωτερικής Παθολογίας 2009
12. Οξεία Λοίμωξη από EBV και CMV σε μη ανοσοκατεσταλμένο άτομο (ανακοίνωση) 15^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Εσωτερικής Παθολογίας, 2009
13. Διαγνωστική Αξία της Μυελικής Αναρρόφησης έναντι της Οστεομυελικής Βιοψίας. Συγκριτική Μελέτη 56 κλινικών περιπτώσεων (ανακοίνωση), 14^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Εσωτερικής Παθολογίας, Αθήνα 2008

ΟΜΙΛΙΕΣ ΣΕ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

1. Αναπνευστικά νοσήματα ηλικιωμένων ασθενών – **Π. Κωνσταντινίδης** - 21^ο Πανελλήνιο Θεματικό Συνέδριο Εντατική Θεραπεία και Επείγουσα Ιατρική “Μεγάλη Ηλικία και Βαριά Νόσος” – Νοέμβριος 2018
2. Ασθενής 65 ετών με χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια, υπέρταση και δυσλιπιδαιμία. Πώς θα χειριστώ τα φάρμακα του αναπνευστικού; **Π.Κωνσταντινίδης** - 11ο Θερινό Σχολείο Αντιμετώπιση καρδιομεταβολικών παραγόντων κινδύνου σε ασθενείς με συννοσηρότητες. Ελληνική Εταιρεία Αθηροσκληρώσεως - ΑΘΗΝΑ Ιούνιος 2018
3. Επείγοντα Προβλήματα Υγείας που Χρήζουν Νοσοκομειακής Υποστήριξης.
Π. Κωνσταντινίδης - 3^ο Διεπιστημονικό Συμπόσιο ‘Νοσηλεία στο Σπίτι’ – Λευκωσία 2016
4. Φάρμακα για το Καρδιαγγειακό: τοξικότητες και κλινικές Περιπτώσεις.
Π.Κωνσταντινίδης, Δ. Κουτραφούρη - 4^ο ετήσιο Μετεκπαιδ. Σεμινάριο Εντατικολογίας 2015
5. Παρουσίαση Περιστατικών που αφορούν τις Λοιμώξεις. **Π. Κωνσταντινίδης**, Δ. Κουτραφουρη, Β. Ψαλλίδα, Γ. Μπαλτόπουλος - Ελληνική Εταιρεία Εντατικής Θεραπείας 2015
6. Η τακτική χορήγησης φουροσεμίδης σε ασθενείς στη ΜΕΘ. (παρουσίαση αναδρομικής μελέτης). **Π. Κωνσταντινίδης**, Ε. Μπούτζουκα, Ε. Τσίγκου, Θ. Κατσούλας. 16ο Θεματικό Συνέδριο: Εντατικής Θεραπείας & Επείγουσας Ιατρικής, Αθήνα 2013
7. Κριτική Ανάλυση Επιστημονικού Άρθρου. Ζ’ Σεμινάριο, Εκπαιδευτικά Σεμινάρια Χειρουργικής. **Π. Κωνσταντινίδης**, Δ. Κουτραφούρη, Π. Μυριανθεύς
<http://exe1928.gr.193-92-1075.reseller12.grserver.gr//category/eisigiseis/>
8. Ηπατίτιδα. **Π. Κωνσταντινίδης** - 2^ο Διεπιστημονικό Συμπόσιο με θέμα ‘Νοσηλεία στο Σπίτι’, Τήνος 2013
9. Πυρετός Αγνώστου Αιτιολογίας, **Π. Κωνσταντινίδης** (παρουσίαση), 4^ο Διεθνές Forum Φοιτητών Ιατρικής & Νέων Ιατρών Ελλάδας, 16^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Φοιτητών Ιατρικής, Αίγλη Ζαππείου, Αθήνα 2010

10. Θεραπεία Κατακλίσεων Κατ'οίκον νοσηλείας. Σ. Παπασάββας, Π. Κωνσταντινίδης, et al, Συνέδριο Προληπτικής Ιατρικής, Αθήνα 2009
11. Πυρετός Αγνώστου Αιτιολογίας (παρουσίαση & στρογγυλό τραπέζι), Π. Κωνσταντινίδης, 10^ο έτος Διανοσοκομειακή Επιστημονική Συνάντηση, ΓΝΘΠ 'Η Παμμακάριστος' 2009
12. Πνευμονία Κοινότητας - Νεότερα Δεδομένα, Π. Κωνσταντινίδης (παρουσίαση/στρογγυλό τραπέζι), 1^ο Πανελλήνιο Συνέδριο ιατρών υπηρεσίας υπαίθρου, Χαλκιδική 2006

ΣΥΝΤΟΜΕΥΣΕΙΣ/ABBREVIATIONS – ΜΕ ΑΛΦΑΒΗΤΙΚΗ ΣΕΙΡΑ

γ-GT	γ-γλουταμυλ-τρανσπεπτιδάση (γ-gloutamyl-transpeptidase)
ΕΕΜΗ	Ελληνική Εταιρεία Μελέτης Ήπατος
ΜΕΘ	Μονάδα Εντατικής Θεραπείας
ΜΚΟ	Μη κερδοσκοπικός οργανισμός
Π.Ι.	Περιφερικό Ιατρείο
ΣΕΛ	Συστηματικός Ερυθηματώδης Λύκος
ΣΔ	Σακχαρώδης Διαβήτης
ΤΚΕ	Ταχύτητα Καθίζησης Ερυθρών
AAU	Acute Admission Unit
ALT	Alanine aminotransferase – Αλανινική αμινοτρανσφεράση
Anti HCV	Antibodies against HCV - Αντισώματα κατά του ιού της ηπατίτιδας C
AST	Aspartate aminotransferase – Ασπαρτική αμινοτρανσφεράση
ALP	Alkaline phosphatase - Αλκαλική φωσφατάση
APTT	Activated Partial Thromboplastin time – Χρόνος Ενεργοποιημένης Μερικής Θρομβοπλαστίνης
BAFF	B-cell activating factor - Ενεργοποιητικός Παράγοντας των Β- Λεμφοκυττάρων
BMI	Body Mass Index – Δείκτης Μάζας Σώματος
CHC	Chronic Hepatis C-Χρόνια Ηπατίτιδα C
C4	Complement component 4 – Συστατικό Συμπληρώματος 4
DC	Dendritic cell – Δενδριτικά Κύτταρα
DD	D-dimers – Δ-διμερή

EOT	End of Treatment - Τέλος της Θεραπείας
ELISA	Enzyme Linked Immune Sorbent Assay - Ανοσοενζυμική Δοκιμασία
Hb	Hemoglobin - Αιμοσφαιρίνη
HAV	Hepatitis A Virus -Ιός της Ηπατίτιδας Α
HBV	Hepatitis B Virus - Ιός Ηπατίτιδας Β
HCV	Hepatitis C Virus- Ιός της Ηπατίτιδας C
HCV-RNA	Hepatitis C Virus Ribonucleic Acid - Ριβονουκλεϊνικό Οξύ του Ιού της Ηπατίτιδας C
HIV	Human Immunodeficiency Virus -Ιός της Επίκτητης Ανοσοανεπάρκειας
IgE	Immunoglobulin E – Ανοσοσφαιρίνη Ε
IFN-a	Interferon a – Ιντερφερόνη α
IL	Interleukin - Ιντερλευκίνη
INR	International Normalised Ratio – Διεθνές Κανονικοποιημένο Πηλικό
Kg	Kilogram – Κιλά
LDL	Low Density Lipoprotein - Λιποπρωτεΐνες Χαμηλής Πυκνότητας
mDC	Myeloid Dendritic Cells – Μυελοειδή Δενδριτικά Κύτταρα
NK	Natural killers – κυτταροκτόνα κύτταρα
pDC	Plasmacytoid Dendritic Cells - Πλασματο-Κυτταροειδή Δενδριτικά Κύτταρα
PCR	Polymerase Chain Reaction - Αλυσιδωτή Αντίδραση της Πολυμεράσης
PegIFN	Pegylated Interferon - Πεγκυλιωμένη Ιντερφερόνη
PLT	Platelets - Αιμοπετάλια

PT	Prothrombin Time - Χρόνος Προθρομβίνης
RNA	Ribonucleic Acid – Ριβονουκλεϊνικό Οξύ
RVB	Rivabirin - Ριμπαβιρίνη
SD	Standard Deviation– Τυπική Απόκλιση
SPSS	Statistical Package for Social Sciences - (Στατιστικό Πακέτο για τις Κοινωνικές Επιστήμες)
SVR	Sustained Virological Response - Παρατεταμένη Ιολογική Ανταπόκριση
T.Bil.	Total Bilirubin - Ολική Χολερυθρίνη
TE	Transient Elastography – Παροδική Ελαστογραφία
TG	Triglycerides - Τριγλυκερίδια
TGF-b	Transforming Growth Factor Beta – Αυξητικός Παράγοντας Μετασχηματισμού βήτα
TH1	T-Helper 1 – T Βοηθητικά Κύτταρα 1
TH2	T Helper 2 - T Βοηθητικά Κύτταρα 2
TNF	Tumor Necrosis Factor – Παράγοντας Νέκρωσης Όγκου
UCLH	University College of London Hospital
UK	United Kingdom– (Ηνωμένο Βασίλειο)
WBC	White Blood Cells-Λευκά Αιμοσφαίρια
VitD	Vitamin D - Βιταμίνη D
6MoEOT	6 Months After the End of the Treatment - 6 Μήνες Μετά το Τέλος της Θεραπείας

Γενικό μέρος

1. ΙΟΓΕΝΗΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ C

1.1. ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ

Η ακριβής προέλευση του HCV δεν έχει προσδιοριστεί καθώς δεν υπάρχουν αποθηκευμένα δείγματα αίματος άνω των 50 ετών για τον έλεγχο τον ιού. Ωστόσο, δεδομένης της φύσης της εξέλιξης όλων των ιών, ο HCV πιθανότατα πρωτοεμφανίστηκε πριν εκατοντάδες χιλιάδες χρόνια ή και περισσότερο εξελισσόμενος σταδιακά στα τρέχοντα στελέχη.¹

Μερικοί εμπειρογνώμονες υποθέτουν ότι, δεδομένου ότι ο ιός της ηπατίτιδας G/ GBV-C (hepatitis G virus/GB virus-C - HGV/GBV-C), συγγενής του HCV, προέρχεται από τον Παλαιό και το Νέο Κόσμο, οι αρχές του HCV ενδέχεται να εντοπιστούν πριν από 35 εκατομμύρια χρόνια. Ωστόσο, αυτό είναι μόνο εικασία και είναι αδύνατο να επιβεβαιωθεί επί του παρόντος. Μια άλλη πιο πιθανή υπόθεση είναι ότι οι διαφορετικοί υπότυποι του HCV προέκυψαν περίπου πριν από 500 χρόνια στη Δυτική Αφρική. Ωστόσο, θεωρείται δύσκολο να προσδιοριστεί η προέλευση του HCV σε τόσο σύντομο χρονικό διάστημα της ανθρώπινης ιστορίας, επειδή ο ιός βρίσκεται σε απομακρυσμένες περιοχές σε ολόκληρο το κόσμο.¹

Η παγκόσμια εμφάνιση του HCV ήταν είτε ενδοηπειρωτική είτε διηπειρωτική (σχήμα 1). Σήμερα, έχουν αναφερθεί νέα στελέχη του HCV σε διάφορες περιοχές και Ηπείρους. Αυτή η εξελισσόμενη διαδικασία ενσωμάτωσης διαδραμάτισε σημαντικό ρόλο στην εξάπλωση του HCV.²

Οι πρώτες βιβλιογραφικές αναφορές για έναν ιικό παράγοντα που προκαλούσε ηπατίτιδα και δεν ανήκε στον τύπο Α ή Β σε πολυμεταγγιζόμενους ασθενείς ήταν το 1975. Η ανακάλυψή του όμως χρεώνεται 12 χρόνια αργότερα, το 1989, στους Choo et al. που απομονώσαν τον ιό με την τότε νέα μέθοδο της μοριακής κλωνοποίησης αντί της κλασικής μεθόδου απομόνωσης του ιού.³ Έκτοτε ο HCV καθιερώθηκε ως η βασική αιτία ηπατίτιδας που δεν ανήκε στον τύπο Α ή Β, επηρεάζοντας την υγεία εκατομμυρίων ατόμων παγκοσμίως.

Σχήμα 1: Πιθανοί τρόποι ενσωμάτωσης του ιού της ηπατίτιδας C παγκοσμίως: Τα βέλη δείχνουν την πιθανή οδό διασποράς (περιφερειακή ή διηπειρωτική). [World J Virol. 2016 Nov 12; 5(4): 170–182]



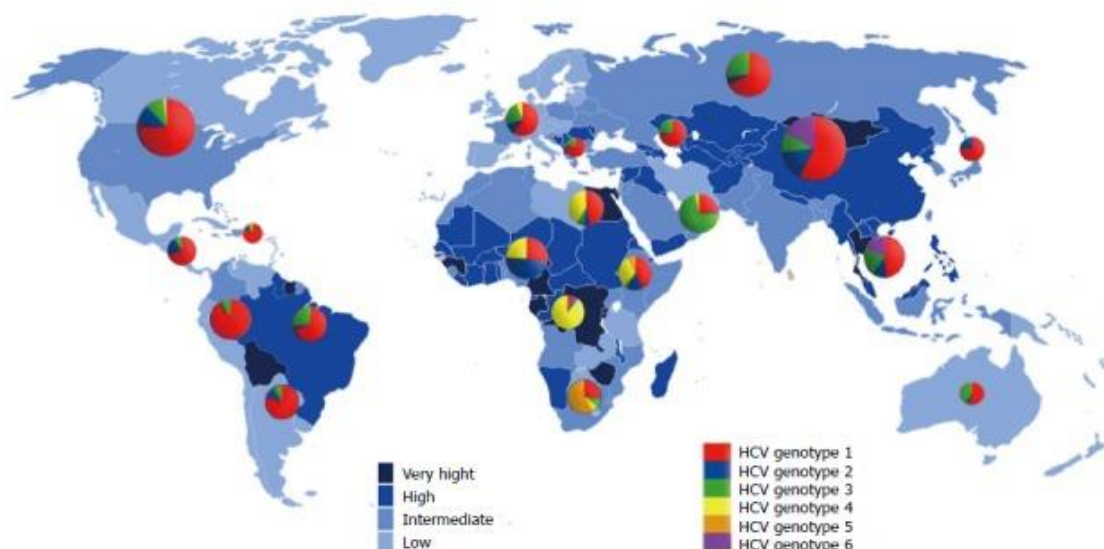
1.2. ΤΟ ΜΕΓΕΘΟΣ ΤΟΥ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΟΣ

Ο HCV αποτελεί σήμερα μία από τις κυριότερες αιτίες ιογενούς ηπατίτιδας και ένα παγκόσμιο πρόβλημα υγείας, έχοντας μολύνει περισσότερους από 170 εκατομμύρια ανθρώπους (2-3% του παγκόσμιου πληθυσμού).⁴ Σύμφωνα με πρόσφατα δεδομένα του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας εκτιμάται ότι 500.000 πεθαίνουν ετησίως από επιπλοκές της νόσου. Αν και οι νέες αντιιικές θεραπείες μπορούν να επιτύχουν εκρίζωση του ιού έως και στο 100% των περιπτώσεων, το κόστος της θεραπείας, η μη πρόσβαση των περισσότερων στη θεραπεία, καθώς και η έλλειψη εμβολίου για την πρόληψη αποτελούν τις αιτίες των υψηλών ποσοστών του επιπολασμού της νόσου ακόμα και σήμερα.

Ο επιπολασμός του HCV ποικίλλει ευρέως ανά τις διάφορες γεωγραφικές περιοχές, από 0,1%

σε ορισμένες Σκανδιναβικές χώρες έως 23% σε ορισμένες Αφρικανικές χώρες (σχήμα 2) και χαρακτηρίζεται ως χαμηλός (<2,5%), ενδιάμεσος (2,5% -10%) ή υψηλός (> 10%).² Σε μια μελέτη με ελληνική συμμετοχή, οι χαμηλότερες εκτιμήσεις του επιπολασμού του HCV ($\leq 0,5\%$) προέρχονταν από χώρες της Βόρειας Ευρώπης και οι υψηλότερες ($\geq 3\%$) από τη Ρουμανία και τις αγροτικές περιοχές στην Ελλάδα, την Ιταλία και τη Ρωσία.⁵ Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα υψηλής ενδημικότητας αποτελεί η Αίγυπτος όπου υπολογίζεται ότι το 20% του πληθυσμού έχει μολυνθεί (συνήθως με γονότυπο 4). Αυτό αποδίδεται στη χρήση συρίγγων πολλαπλών χρήσεων και στην ανεπαρκή αποστείρωση τους, με τις οποίες γινόταν η χορήγηση της θεραπείας για τη σχιστοσωμίαση μαζικά στον πληθυσμό, κατά την 20ετία 1960-1980.

Σχήμα 2: Επιπολασμός της λοίμωξης από τον ιό της ηπατίτιδας C και η κατανομή διαφορετικών γονοτύπων παγκοσμίως. [World J Virol. 2016 Nov 12; 5(4): 170–182]



Η Ελλάδα έχει ένα από τα υψηλότερα ποσοστά επιπολασμού CHC στην Ευρώπη, με περίπου 33% των χρονίως μολυσμένων ασθενών στα στάδια της προηγμένης ίνωσης. Επιπλέον, έχει μεγαλύτερης ηλικίας πληθυσμό σε σύγκριση με άλλες χώρες, πράγμα που σημαίνει ότι η μέση πρόοδος της ίνωσης είναι σχετικά γρήγορη και η πιθανότητα θνησιμότητας ή νοσηρότητας που σχετίζεται με τον HCV είναι υψηλότερη. Επομένως, αν και ο επιπολασμός του HCV στην Ελλάδα φαίνεται να μειώνεται από το μέγιστο που βρέθηκε το 2005, η νοσηρότητα και η θνησιμότητα προβλέπεται ότι θα αυξηθούν τα επόμενα χρόνια.⁶

Με την εξέλιξη των τεχνικών ελέγχου και ανίχνευσης του ιού τα επιδημιολογικά δεδομένα κυρίως σε ό,τι αφορά τη συχνότητα των γονοτύπων φαίνεται να αλλάζουν. Ο καθολικός έλεγχος του αίματος και των παραγώγων αυτού στις αιμοδοσίες με μοριακές μεθόδους έχει ελαττώσει σημαντικά το «παράθυρο» μη ανίχνευσης του ιού και επομένως τον κίνδυνο λοίμωξης στους μεταγγιζόμενους ασθενείς. Επίσης, η χρήση ανασυνδυασμένων παραγόντων πήξης από τους ασθενείς με αιμορροφιλία Α και Β έχει ελαττώσει κατά πολύ τα νέα κρούσματα λοίμωξης σε αυτήν την κατηγορία ασθενών. Τα παραπάνω είναι ίσως ο κύριος λόγος της πτωτικής πορείας του ποσοστού του γονοτύπου 1 έναντι του αυξανόμενου ποσοστού του γονοτύπου 3 που συναντάται κυρίως στους χρήστες ουσιών οι οποίοι έχουν αυξηθεί τα τελευταία έτη.

Σε μία μεγάλη επιδημιολογική μελέτη που πραγματοποιήθηκε σε κοόρτη Ελλήνων ασθενών (HEPNET - Greece cohort study), επιβεβαιώνονται τα παραπάνω δεδομένα. Δίδεται δε ιδιαίτερη σημασία στη συμπεριφορά των χρηστών ουσιών και στα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά τους με σκοπό την ελάττωση μετάδοσης αλλά και την οργανωμένη προσπάθεια θεραπείας τους.⁷ Ωστόσο, τα δεδομένα συνεχώς αλλάζουν και το πιθανότερο είναι ότι με τη μετανάστευση των λαών, όπως παρατηρείται ιδιαίτερα τα τελευταία χρόνια, θα αυξηθεί το ποσοστό άλλων γονοτύπων, όπως για παράδειγμα του 4 που συναντάται στην Αφρική.

1.3. ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ ΙΟΥ ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ C

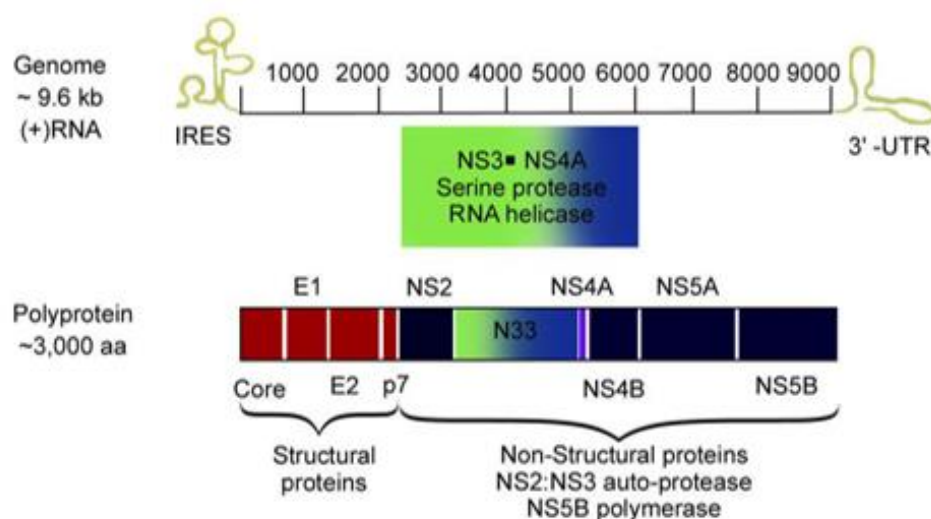
Ο HCV είναι ένας σχετικά μικρός RNA ηπατοτρόπος ιός (9600 βάσεων) που ανήκει στην οικογένεια των Flaviridae. Το γονιδίωμα του κωδικογραφεί για μια πολυπρωτεΐνη περίπου 3000 αμινοξέων που ακολούθως τέμνεται πρωτεολυτικά σε επί μέρους 3 δομικές (πρωτεΐνη του πυρηνοκαψιδίου c, πρωτεΐνη του φακέλου E1 και E2) και 7 μη δομικές περιοχές (NS1, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A και NS5B).⁸ Γνωρίζουμε την ύπαρξη τουλάχιστον 6 διαφορετικών γονοτύπων του HCV με διαφορετική γεωγραφική κατανομή και διαφορετική ανταπόκριση στη αντιική θεραπεία (σχήμα 1). Κάθε ένας από αυτούς εμπεριέχει διακριτές υποομάδες ανάλογα με τη σχέση των νουκλεοτιδίων. Οι υπότυποι περιγράφονται με το μικρό γράμμα της αλφαβήτου δίπλα από το νούμερο του γονοτύπου (πχ. 1a, 1b, 2a, κ.τ.λ.).⁹ Ωστόσο, με την αποκωδικοποίηση περισσότερων περιοχών του γονιδιώματος του ιού, όλο και περισσότεροι γονότυποι περιγράφονται, ενώ γίνεται αναφορά και για το γονότυπο 7.¹⁰

Ο άνθρωπος θεωρείται ο μόνος φυσικός ξενιστής του ιού. Οι χιμπατζήδες έχουν μολυνθεί πειραματικά, αλλά “η φυσική” μόλυνσή τους δεν έχει εξακριβωθεί. Ο αριθμός των μολυσμένων ηπατοκυττάρων στη CHC παραμένει άγνωστος, εξαιτίας της απουσίας αξιόπιστων μεθόδων μέτρησής τους σε βιοψίες ήπατος. Γνωρίζουμε όμως ότι σε ασθενείς χωρίς θεραπεία τα επίπεδα του ιού στο αίμα βρίσκονται σχετικά σταθερά με μικρές μόνο διακυμάνσεις ($<10^1$ iu/ml). Αυτό σημαίνει ότι υπάρχει ισορροπία μεταξύ παραγωγής και κάθαρσης του ιού. Υπολογίζεται ότι 10^{12} ιικά σωματίδια απελευθερώνονται την ημέρα από το ήπαρ μολυσμένων ατόμων. Επίσης, υπολογίζεται ότι ο μέσος χρόνος ζωής κάθε ιικού σωματίου στον ορό είναι 2-3 ώρες.¹¹ Σε μια τυπική λοίμωξη, το ιικό φορτίο κυμαίνεται από 10^4 έως 10^7 IU/ml.

1.4.ΛΟΙΜΩΞΗ ΑΠΟ ΤΟΝ ΙΟ ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ C

Η HCV λοίμωξη προκαλεί οξεία και χρόνια ηπατίτιδα C. Η πλειονότητα των ασθενών με οξεία ηπατίτιδα C είναι ασυμπτωματικοί και συνηθώς δε διαγιγνώσκονται, ενώ πολύ σπάνια οδηγούνται σε οξεία ηπατική ανεπάρκεια. Παρόλα αυτά 20-30% των ενηλίκων μπορεί να εμφανίσουν συμπτώματα, 3-12 εβδομάδες μετά την έκθεση στον ιό, όπως καταβολή δυνάμεων, ανορεξία και σε εξαιρετικά σπάνιες περιπτώσεις ίκτερο. Η αύξηση των επιπέδων της αλανινικής αμινοτρανσφεράσης (ALT), που υποδεικνύει ηπατοκυτταρική νέκρωση, αρχίζει 2 έως 8 εβδομάδες μετά τη μόλυνση και συχνά φτάνει σε επίπεδα δεκαπλάσια των ανωτέρων φυσιολογικών ορίων. Το RNA (ριβονουκλεϊκό οξύ, ή ορθότερα ριβοζονουκλεϊκό οξύ) του ιού μπορεί να ανιχνευθεί στον ορό σε περίπου 2 εβδομάδες μετά την έκθεση, αν και με τις νεότερες μεθόδους ο χρόνος ανίχνευσης έχει μειωθεί περαιτέρω. Τα αντισώματα έναντι του ιού (anti-HCV) ανιχνεύονται με ανοσοενζυμικές μεθόδους σε 1 έως 3 μήνες από την έκθεση. Η οξεία HCV λοίμωξη αυτοπεριορίζεται στο 15% των περιπτώσεων και χαρακτηρίζεται από εξάλειψη του HCV-RNA στον ορό και επάνοδο των τιμών των ηπατικών ενζύμων.¹²

Σχήμα 3: Το γονιδίωμα του ιού της ηπατίτιδας C και οι θέσεις πολυπρωτεϊνών ως θεραπευτικοί στόχοι – Courtesy of Hepatitis Resource Network



Στο 80% περίπου των περιπτώσεων της, ο ιός διαφεύγει του ανοσιακού συστήματος και αναπτύσσει χρόνια λοίμωξη, που χαρακτηρίζεται από παρατεταμένη ασυμπτωματική περίοδο και δύναται να οδηγήσει περίπου το 20% των ασθενών σε κίρρωση. Από αυτούς, το 1-5% θα αναπτύξει ηπατοκυτταρικό καρκίνο (ΗΚΚ) μέσα σε 20 χρόνια από την οξεία λοίμωξη.¹³

Οι μηχανισμοί της εξέλιξης της λοίμωξης σε χρονιότητα παραμένουν αδιευκρίνιστοι. Πιθανολογείται ότι σχετίζονται με τη γενετική ποικιλομορφία του ιού και την τάση του για ταχεία μετάλλαξη, την παρουσία του σε εξωηπατικούς ιστούς και κυρίως την παρουσία των “σχεδόν ειδών” (quasispecies), που διαφεύγουν της ανοσιακής απόκρισης. Ως “σχεδόν είδη” ορίζεται ο ετερογενής πληθυσμός του γονιδιώματος του HCV (ομόλογη αλληλουχία νουκλεοτιδίων πάνω από 95%), που συνυπάρχει σε ένα μολυσμένο άτομο. Η ετερογένεια του ιού θεωρείται εξαιρετικά σημαντική για τη διάγνωση της λοίμωξης, την παθογένεια της νόσου και την ανταπόκριση στη θεραπεία.

Όλοι οι ασθενείς με χρόνια HCV λοίμωξη έχουν ανιχνεύσιμα επίπεδα RNA του ιού, τουλάχιστον επί 6 μήνες από την οξεία λοίμωξη. Οι περισσότεροι ασθενείς εμφανίζουν σταθερά υψηλές τιμές ALT, αν και ορισμένοι έχουν φυσιολογικές τιμές ή παθολογική τιμή ALT σε διαλείπουσα φάση. Η ηλικία αποτελεί έναν από τους πιο σημαντικούς παράγοντες μετάπτωσης σε χρονιότητα αφού φαίνεται ότι τα νεαρά άτομα έχουν μικρότερο κίνδυνο μετάπτωσης σε χρονιότητα και τα νεογέννητα παιδιά μητέρων με HCV λοίμωξη εμφανίζουν παροδική λοίμωξη. Άλλοι παράγοντες που μπορεί να σχετίζονται είναι το φύλο και η φυλή, με τις γυναίκες και τα άτομα Καυκάσιας ή Ισπανικής φυλής να εμφανίζουν μικρότερα ποσοστά. Επίσης, η σπάνια μορφή ικτερικής οξείας ηπατίτιδας σχετίζεται με μεγαλύτερο ποσοστό κάθαρσης του ιού που πιθανόν οφείλεται σε καλύτερη ανοσιακή απάντηση.

Η φυσική πορεία της χρόνιας HCV λοίμωξης ποικίλλει από ασθενή σε ασθενή. Το 80% των ασθενών εμφανίζουν μια σταθερή πορεία χωρίς σημαντικές μεταβολές στην τιμή της ALT, ενώ οι υπόλοιποι θα αναπτύξουν κίρρωση. Σε αυτούς τους ασθενείς υπάρχει πάντα η πιθανότητα

ρήξης της αντιρρόπησης της κίρρωσης με κίνδυνο σοβαρής θνητότητας ή εμφάνισης ΗΚΚ. Στην εξέλιξη του νοσήματος συμβάλουν και άλλοι παράγοντες όπως η ηλικία λοίμωξης, το φύλο, η κατάχρηση αιθυλικής αλκοόλης ή συνύπαρξη άλλης ιογενούς λοίμωξης (Hepatitis B virus - HBV, human immunodeficiency virus - HIV) και η λιπώδης νόσος του ήπατος. Εκτός από τις παραπάνω επιπλοκές, σημαντικό ρόλο στη χρόνια HCV λοίμωξη κατέχουν οι εξωηπατικές εκδηλώσεις του νοσήματος, που επηρεάζουν την ποιότητα ζωής των ασθενών και συμβάλλουν σε σημαντική νοσηρότητα αλλά και αύξηση της θνητότητας. Ορισμένες από τις εξωηπατικές εκδηλώσεις είναι η κρυοσφαιριναιμία με ή χωρίς αγγειίτιδα, η αύξηση ποσοστού εμφάνισης λεμφοϋπερπλαστικών νοσημάτων, η αθηροσκλήρωση και η αύξηση ποσοστού καρδιαγγειακών νοσημάτων.¹⁴

1.5. ΤΡΟΠΟΣ ΜΕΤΑΔΟΣΗΣ, ΟΜΑΔΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΚΑΙ ΔΙΑΓΝΩΣΗ

Η μετάδοση του ιού γίνεται μετά από έκθεση σε μολυσμένο αίμα (κυρίως μέσω της παρεντερικής οδού, όπως η χρήση κοινών συρίγγων από χρήστες ενδοφλέβιων ναρκωτικών), αλλά σε ένα σημαντικό ποσοστό ασθενών (20-40%) δεν είναι δυνατό να προσδιοριστεί κάποιος εμφανής παράγοντας κινδύνου. Υψηλός επιπολασμός της νόσου διαπιστώνεται στα άτομα που είχαν υποβληθεί σε μετάγγιση αίματος πριν από το 1990. Με τις σύγχρονες μεθόδους ελέγχου στις αιμοδοσίες (μέθοδος NAT), η μετάδοση της HCV λοίμωξης μέσω μετάγγισης κυμαίνεται σε 1 στις 500.000 έως 2.000.000 μεταγγίσεις.¹⁵

Ο κίνδυνος μετάδοσης με σεξουαλική επαφή είναι αρκετά χαμηλός αφού σε ασθενείς με μόνιμους ερωτικούς συντρόφους, η μετάδοση είναι σπάνια. Αυξάνει με την ύπαρξη πολλαπλών ερωτικών συντρόφων ή τη συνύπαρξη άλλων λοιμώξεων, όπως ο έρπητας των γεννητικών οργάνων. Η μετάδοση από τη μητέρα στο παιδί είναι σπάνια και παρατηρείται σε περιπτώσεις που η μητέρα έχει υψηλό ιικό φορτίο, ενώ ο θηλασμός θεωρείται γενικά ασφαλής.¹⁶ Η μετάδοση

επίσης με ενδορινική χρήση κοκαΐνης σε άτομα που δεν ανέφεραν χρήση ενδοφλεβίων ουσιών είναι αμφιλεγόμενη.

Σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες του 2017 της Ελληνικής Εταιρείας Μελέτης του Ήπατος (ΕΕΜΗ) σε έλεγχο αντισωμάτων υποβάλλονται:

- Όλα τα άτομα που έχουν αυξημένες τρανσαμινάσες
- Πρώην και ενεργοί χρήστες ενδοφλεβίων ναρκωτικών
- Όσοι έχουν υποβληθεί σε μεταγγίσεις αίματος ή παραγώγων του ή σε μεταμόσχευση οργάνου πριν από το 1992
- Όσοι έχουν υποβληθεί ή υποβάλλονται σε αιμοκάθαρση με τεχνητό νεφρό
- Όσοι έχουν εκτεθεί παρεντερικά σε δυνητικά μολυσμένα ιατρικά ή παραϊατρικά εργαλεία
- Κρατούμενοι σωφρονιστικών ιδρυμάτων
- Ερωτικοί σύντροφοι ατόμων με ηπατίτιδα C
- Άτομα με πολλαπλούς ερωτικούς συντρόφους
- Παιδιά μητέρων με ηπατίτιδα C
- Ασθενείς με HIV λοίμωξη ή χρόνια HBV λοίμωξη

Η διάγνωση της χρόνιας HCV λοίμωξης τίθεται με την παρουσία ανιχνεύσιμου HCV-RNA και θετικών anti-HCV ορού τουλάχιστον από 6μήνου. Μία μόνο αρνητική εξέταση για HCV RNA ορού δεν αποκλείει την HCV λοίμωξη σε άτομα με κλινικοεργαστηριακή υποψία (π.χ. έκθεση ή παράγοντα κινδύνου για HCV με ή χωρίς υπερτρανσαμιναιμία) και χρειάζεται επανεξέταση προς αποκλεισμό παροδικά πολύ χαμηλών επιπέδων HCV ιαιμίας. [οδηγίες ΕΕΜΗ 2017].

Το HCV RNA αποτελεί τον καλύτερο δείκτη ιαιμίας και μολυσματικότητας. Αποκαλύπτει την παρουσία και επίσης την ποσότητα του γενετικού υλικού του HCV που κυκλοφορεί στο αίμα του πάσχοντος και κατ' επέκταση το ρυθμό με τον οποίο ο ιός πολλαπλασιάζεται στον οργανισμό του. Ο προσδιορισμός του στον ορό ή στο πλάσμα των ασθενών αποτελεί το χρυσό κανόνα για τη διάγνωση ενεργού λοίμωξης και περιγράφεται ως ιικό φορτίο του HCV.

Εμφανίζεται στον ορό νωρίτερα από τους υπόλοιπους δείκτες και η ανίχνευση του μπορεί να συντελέσει στη διάγνωση λίγες μέρες μετά την έκθεση στον ιό. Η συχνότερη τεχνική που χρησιμοποιείται σήμερα για τον προσδιορισμό του HCV RNA, είναι η τεχνική αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης πραγματικού χρόνου (Real Time Polymerase Chain Reaction, PCR), που διαθέτει υψηλή ευαισθησία, με ικανότητα ανιχνεύσεως ακόμη και λιγότερο από 10 διεθνών μονάδων του ιού ανά ml. Η ανίχνευση του HCV RNA στον ορό χρησιμοποιείται κυρίως για επιβεβαίωση της διάγνωσης της λοίμωξης, για τη διάγνωση της λοίμωξης σε ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς και για τον έλεγχο της ιολογικής ανταπόκρισης στη χορήγηση αντιιικής θεραπείας.

1.6. ΜΙΚΤΗ ΚΡΥΟΣΦΑΙΡΙΝΑΙΜΙΑ

Ο HCV εκτός από την ηπατική προσβολή ευθύνεται και για εξωηπατικές βλάβες περίπου στο 40% των ασθενών. Το σύνδρομο MC αποτελεί μία από τις σημαντικότερες με κύριο αίτιο την HCV λοίμωξη. Η κρυοσφαιριναιμία περιγράφηκε για πρώτη φορά ως ξεχωριστή οντότητα το 1966.¹⁷ Ο όρος πρωτοπαθής (ιδιοπαθής) χαρακτήριζε το σύνδρομο κρυοσφαιριναιμίας στο οποίο δεν υπήρχε υποκείμενη πάθηση. Είκοσι πέντε χρόνια μετά ανακαλύφθηκε η συσχέτιση μεταξύ της κρυοσφαιριναιμίας και της λοίμωξης από HCV.¹⁸ Αν και πλέον δεν είναι άγνωστη η αίτια, φαίνεται ότι ο ορισμός ως ιδιοπαθής ακόμα χαρακτηρίζει τη μικτή κρυοσφαιριναιμία που οφείλεται στον HCV.

Η κρυοσφαιριναιμία αποτελεί μια διαταραχή στην οποία οι μη φυσιολογικές πρωτεΐνες (κατά βάση ανοσοσφαιρίνες), καθιζάνουν και παραμένουν αδιάλυτες, σχηματίζοντας ανοσο-συμπλέγματα, σε θερμοκρασίες χαμηλότερες της φυσιολογικής θερμοκρασίας του ανθρώπινου σώματος (<37° Κελσίου).

Ο επιπολασμός της MC παρουσιάζει μεγάλη γεωγραφική ετερογένεια. Η νόσος είναι συχνότερη στη Νότια Ευρώπη από ότι στη Βόρεια Ευρώπη ή τη Βόρεια Αμερική. Ωστόσο,

επειδή αποτελεί σπάνια διαταραχή δεν υπάρχουν επαρκείς επιδημιολογικές μελέτες σχετικά με τη συνολική επικράτηση της. Επιπλέον δεδομένου του κλινικού πολυμορφισμού της οι ασθενείς με MC συχνά περιγράφονται από διαφορετικές ειδικότητες. Επομένως, η σωστή διάγνωση μπορεί να καθυστερήσει ή και να διαφύγει εντελώς. Κατά συνέπεια, η πραγματική συχνότητά της μπορεί να υποτιμηθεί.

Η νόσος είναι το αποτέλεσμα της εναπόθεσης των κυκλοφορούντων ανοσοσυμπλεγμάτων (κρυσφαιρινών) στα τοιχώματα μικρών και μεσαίων μεγέθους αγγείων. Αναλόγως της παρουσίας πολυκλωνικών ή ολιγο-μονοκλωνικών IgM διακρίνεται σε τρεις τύπους, αλλά στο 55-86% των ασθενών με χρόνια λοίμωξη από HCV ανιχνεύονται συνήθως τύπου II και III κρυσφαιρίνες. Επίσης σε ποσοστό λιγότερο του 15% των ασθενών που ανιχνεύεται κρυσφαιρίνη υπάρχουν κλινικά συμπτώματα ή σημεία κρυσφαιριναιμίας. Οι τύποι II και III κρυσφαιρίνης, αναφέρονται ως μικτοί τύποι και σχετίζονται στενά με τη λοίμωξη από τον HCV. Ο HCV αποτελεί αιτιολογικό/παθογενετικό παράγοντα της κρυσφαιριναιμίας, σε ποσοστά που αγγίζουν το 35% έως 54% των ασθενών με HCV λοίμωξη στις διάφορες μελέτες.

Το σύνδρομο MC (ή κρυσφαιρινική αγγειίτιδα) αποτελεί συνδυασμό ορολογικών ευρημάτων [μικτές κρυσφαιρίνες με δραστηριότητα ρευματοειδούς παράγοντα (rheumatoid factor – RF) και συχνά χαμηλό το κλάσμα C4 του συμπληρώματος] και τυπικά κλινικοπαθολογικά χαρακτηριστικά. Κλινικά χαρακτηρίζεται από πορφύρα, αρθραλγία και αδυναμία (τριάδα Meltzer), που μπορεί να προκαλέσει μεμβρανοϋπερπλαστική σπειραματονεφρίτιδα, περιφερική νευροπάθεια, δερματικά έλκη και διάχυτη αγγειίτιδα. Το ήπαρ συμμετέχει στο 70% των περιπτώσεων, συχνά με ιστοπαθολογική εικόνα χρόνιας ενεργού ηπατίτιδας, με ή χωρίς κίρρωση. Εν τούτοις, μπορεί να παρατηρηθεί σύνδρομο MC οποιαδήποτε στιγμή κατά τη διάρκεια της φυσικής πορείας της νόσου. Επίσης μπορούν να ανιχνευθούν μόνο οι κρυσφαιρίνες στον ορό χωρίς κλινικές εκδηλώσεις (ασυμπτωματική κρυσφαιριναιμία). Η μη ανίχνευση κρυσφαιρίνης στον ορό σε ασθενείς με κλινικό σύνδρομο MC μπορεί να αποτελέσει

παροδικό φαινόμενο λόγω της μεγάλης μεταβλητότητας της συγκέντρωσης των ανοσοσυμπλεγμάτων ή λιγότερο συχνά, με τη μετάβαση από καλοήγη λεμφοκυτταρικό πολλαπλασιασμό σε λέμφωμα

Ο μηχανισμός με τον οποίο ο HCV προάγει την παραγωγή κρυοσφαιρίνης παραμένει ασαφής. Η διαρκής παρουσία της ιαιμίας μπορεί να αποτελεί ένα συνεχές ερέθισμα για το ανοσοποιητικό σύστημα του ξενιστή που δεν είναι ικανό να παράγει εξουδετερωτικά αντισώματα (neutralizing antibodies). Σε αυτό το πλαίσιο, οι κρυοσφαιρίνες μπορεί να αντιπροσωπεύουν προϊόντα αλληλεπιδράσεων ιού-ξενιστή σε ασθενείς με HCV, ενώ η παραγωγή μορίων IgM με δραστικότητα RF είναι ένα κρίσιμο γεγονός στη διαδικασία κρυοκαθίζησης.

Η έρευνα και οι βιβλιογραφικές αναφορές σχετικά με τις κρυοσφαιρίνες τις 2 τελευταίες δεκαετίες είναι μεγάλη. Παρόλα αυτά η παθογένεια της MC είναι πολυπαραγοντική και δύσκολα μπορεί να κατανοηθεί. Μερικά ερωτήματα που προκύπτουν από τη διεθνή βιβλιογραφία και χρήζουν περαιτέρω διερεύνησης, αναφέρονται παρακάτω:

- 1) Ποια είναι η παθογένεια της ιδιοπαθούς MC?
- 2) Ο HCV αποτελεί έναν απλό εκλυτικό παράγοντα ή πυροδοτεί συνεχώς το παθογενετικό μηχανισμό της κρυοσφαιριναιμίας?
- 3) Ποια είναι η φύση και ο ρόλος άλλων αιτιοπαθογενετικών συν-παραγόντων?
- 3) Ποιος είναι ο πραγματικός ρόλος της εκρίζωσης του HCV στη φυσική ιστορία του συνδρόμου της MC?
- 4) Ποια είναι η χρησιμότητα των συνδυαστικών αντιιικών θεραπειών συγκριτικά με τις παραδοσιακές θεραπευτικές προσεγγίσεις?

1.7. Η ΕΞΕΛΙΞΗ ΤΗΣ ΑΝΤΙΪΙΚΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ ΣΤΗ CHC

Διανύουμε την εποχή που η θεραπευτική αγωγή στη CHC εξελίσσεται ραγδαία. Ο θεραπευτικός στόχος παραμένει πάντα ο ίδιος και είναι η επίτευξη μακροχρόνιας ιολογικής ανταπόκρισης (Sustained-Virological Response, SVR), δηλαδή μη ανιχνεύσιμου RNA ιού. Η ηπατίτιδα C θεωρείται πλέον ιάσιμη νόσος που με τη χρήση των νεότερων αντιΪικών παραγόντων τα ποσοστά επιτυχίας μπορούν να φτάσουν >95%. Η επίτευξη SVR έχει φανεί ότι οδηγεί στους απώτερους στόχους της θεραπείας, που περιλαμβάνουν την ιστολογική βελτίωση ως προς τη νεκροφλεγμονώδη δραστηριότητα και την ίνωση, την αναστολή της εξέλιξης της ηπατικής νόσου, την πιθανή υποστροφή της κίρρωσης, την ελάττωση του κινδύνου ανάπτυξης ΗΚΚ και τη βελτίωση της επιβίωσης. Ο κίνδυνος του ΗΚΚ δεν εξαφανίζεται μετά την επίτευξη SVR σε ασθενείς με προϋπάρχουσα κίρρωση, ενώ ο κίνδυνος υποτροπής μετά την επίτευξη SVR είναι εξαιρετικά σπάνιος.

Στην οξεία ηπατίτιδα C η αυτόματη κάθαρση του ιού μπορεί να συμβεί σε ποσοστό από 15-50% των ασθενών.¹⁹ Τα άτομα που δεν επιτυγχάνουν αυτόματη κάθαρση του ιού θεωρούνται ότι βρίσκονται πλέον στη χρόνια φάση της ηπατίτιδας C και έτσι η απόφαση για την έναρξη αντιΪικής θεραπείας προτείνεται για τουλάχιστον 6 μήνες μετά την παρακολούθηση του ασθενούς ώστε η πιθανότητα αυτόματης κάθαρσης να έχει παρέλθει.

Όλοι οι ασθενείς με CHC είναι υποψήφιοι για αντιΪική θεραπεία και δυνητικά πρέπει να θεραπεύονται με το βέλτιστο σχήμα που προσφέρει την υψηλότερη αποτελεσματικότητα και την καλύτερη ασφάλεια και ανοχή.

Την πρώτη γραμμή θεραπείας της CHC επί πολλά έτη αποτελούσε ο συνδυασμός της πεγκυλιωμένης ιντερφερόνης-α (pegIFNa) μαζί με ριμπαβιρίνη (RBV). Η κλασική ιντερφερόνη-α (IFNa) είχε ουσιαστικά εγκαταλειφθεί κυρίως λόγω της υψηλότερης αποτελεσματικότητας της pegIFN και του απλούστερου σχήματος (μια φορά εβδομαδιαίως έναντι τριών). Η προσθήκη του μορίου της propylene glycol (peg) οδήγησε στην ανάπτυξη μακράς δράσης ιντερφερόνης

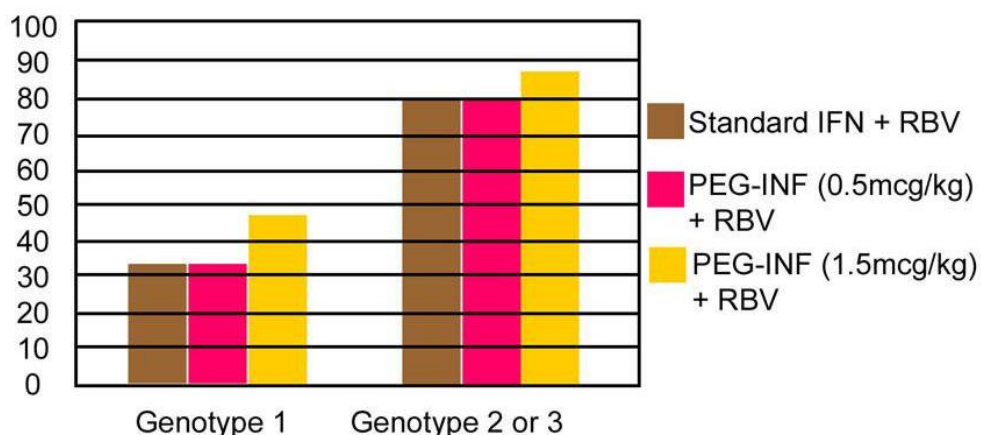
(IFN) με παρατεταμένη απορρόφηση, χαμηλότερο ρυθμό κάθαρσης και μεγαλύτερο χρόνο ημίσειας ζωής, που επιτρέπει την πιο βολική χορήγηση μια φορά εβδομαδιαίως. Η pegIFNa-2a χορηγείται υποδορίως σε εβδομαδιαία δόση 180 µg, ενώ η pegIFNa-2b σε εβδομαδιαία δόση 1.5 µg ανά Kg σωματικού βάρους (ΣΒ).

Μεγάλο επίτευγμα στη θεραπεία της CHC αποτέλεσε η προσθήκη στο σχήμα της IFN ενός από του στόματος νουκλεοτιδικού ανάλογου, της RBV. Όπως αναφέρεται στις μελέτες σταθμό το 1998 από τους McHutchison et al²⁰ και Poynard et al,²¹ ο συνδυασμός IFNa-2b/RBV για 6-12 μήνες οδήγησαν σε εκρίζωση του ιού σε ποσοστά 30-40%. Οι ασθενείς με γονότυπο 1 που θεραπεύτηκαν για 12 μήνες παρουσίασαν μικρότερη ανταπόκριση σε σχέση με τους γονότυπους 2 και 3 που έλαβαν 6μηνη θεραπεία. Η προσθήκη λοιπόν της RBV είχε οδηγήσει σε μια νέα εποχή αντιμετώπισης της CHC. Τα οφέλη από τη συνδυαστική θεραπεία τεκμηριώθηκαν αργότερα και σε 3 ακόμα μελέτες: το 2001 στη μελέτη του Manns et al,²² το 2002 στη μελέτη του Fried et al,²³ και το 2004 στη μελέτη του Hadziyannis et al.²⁴

Οι Manns et al ανέφεραν σημαντικά υψηλότερη συχνότητα SVR σε ασθενείς που έλαβαν υψηλότερη δόση peg-IFNa-2b συν RBV σε σύγκριση με τους ασθενείς στους οποίους χορηγήθηκε χαμηλή δόση peg-IFNa-2b συν RBV ή εκείνους που έλαβαν IFNa- 2b συν RBV (σχήμα 4).²² Τα προφίλ ανεπιθύμητων ενεργειών στις τρεις ομάδες θεραπείας ήταν παρόμοια. Δευτερεύουσες αναλύσεις αναγνώρισαν το σωματικό βάρος και το ιικό φορτίο HCV RNA σε λιγότερο από 1 εκατομμύριο αντίγραφα/mL ως σημαντικούς παράγοντες πρόβλεψης του SVR. Στη μελέτη του Fried et al φάνηκε ότι παρουσίασαν υψηλότερα ποσοστά SVR οι ασθενείς που έλαβαν σχήμα συνδυασμού με IFNa-2a και RBV (56%) έναντι των σχημάτων IFNa-2b και RBV (44%) και μονοθεραπεία PEG-IFNa-2a (29%). Τα ποσοστά SVR για ασθενείς με HCV γονότυπο 1 ήταν 46%, 36% και 21%, αντίστοιχα για τα τρία σχήματα.²³

Οι Hadziyannis et al ανέφεραν ότι σε ασθενείς που έχουν μολυνθεί με γονότυπο 1, οι 48 εβδο-

Σχήμα 4: Ιολογική ανταπόκριση βάση γονότυπου και θεραπείας – Δόση ριμπαβιρίνης >10.6 mg/kg (Manns MP et al. Lancet 2001;358(9286):958-65)



μάδες θεραπείας υπερείχαν συγκριτικά με τις 24 εβδομάδες και η τυπική δόση RBV υπερείχε συγκριτικά με τη χαμηλή δόση RBV. Σε αυτή τη μελέτη, 1311 άτομα τυχαιοποιήθηκαν σε peg-IFNa-2a στα 180 mcg/εβδομάδα για 24 ή 48 εβδομάδες συν μία χαμηλή δόση (800 mg/ημέρα) ή βασική δόση ανάλογα με το βάρος (1000 ή 1200 mg/ημέρα) της RBV. Σε ασθενείς με HCV γονότυπους 2 ή 3, δεν υπήρξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στα ποσοστά επίτευξης SVR στις τέσσερις ομάδες θεραπείας.²⁴

Άλλες μελέτες έχουν επίσης συγκρίνει την αποτελεσματικότητα των συνδυασμών pegIFNa-2a ή PegIFNa-2b με RBV.²⁵ Η δόση της RBV χορηγείται από του στόματος ανά 12 ώρες. Η RBV σε δόση 1000 ή 1200 mg σε συνδυασμό με pegIFNa-2a χορηγείται σε ασθενείς με γονότυπο 1 ή 4 και ΣΒ ≤75 Kg και 800 mg σε ασθενείς με γονότυπο 2 ή 3 ανεξαρτήτως ΣΒ. Η ημερήσια δόση RBV σε συνδυασμό με PegIFNa-2b είναι 800, 1000, 1200 ή 1400 mg για ασθενείς με ΣΒ<65, 65-80, 81-105 ή >105 Kg αντιστοίχως, ανεξαρτήτως γονοτύπου. Εξατομικευμένες χαμηλές δόσεις RBV (200-400 mg) ίσως χρησιμοποιηθούν σε ασθενείς με σχετική αντένδειξη για το φάρμακο, όπως ασθενείς με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια ή χρόνια αιμολυτικά σύνδρομα, αν και είναι προτιμότερο να αποφεύγεται σε αυτές τις ομάδες ασθενών.

Οι πιο συχνές ανεπιθύμητες ενέργειες από τη θεραπεία με pegIFNa είναι η γριπώδης συνδρομή, η καταβολή δυνάμεων και γενικότερα το αίσθημα αδιαθεσίας. Σε ορισμένους ασθενείς εμφανίζονται συναισθηματικές διαταραχές, όπως ευερεθιστότητα ή κατάθλιψη. Επιπλέον η pegIFNa μπορεί να προκαλέσει καταστολή του μυελού και στις τρεις αιμοποιητικές σειρές (ουδετεροπενία, αναιμία, θρομβοπενία). Χρειάζεται προσοχή σε κυτταροπενία που προϋπάρχει πριν την έναρξη της θεραπείας για την πιθανότητα έναρξης ή μη της αντιιικής θεραπείας αναλόγως της βαρύτητας της. Απόλυτες αντενδείξεις θεραπευτικής παρέμβασης σχημάτων με peg-IFNa είναι: η εγκυμοσύνη, η μη ελεγχόμενη κατάθλιψη ή η ψύχωση, ένα συστηματικό αυτοάνοσο νόσημα δίχως θεραπεία ή άλλο σοβαρό νόσημα (καρδιακή ανεπάρκεια, χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια), η μη αντιρροπούμενη κίρρωση, ο μη ελεγχόμενος σακχαρώδης διαβήτης (ΣΔ) ή η υπέρταση. Σχετικές αντενδείξεις αποτελούν οι κυτταροπενίες, η ελεγχόμενη θυρεοειδοπάθεια ή η στεφανιαία νόσος. Η κύρια παρενέργεια της RBV είναι η αιμόλυση. Επίσης, η RBV αντενδείκνυται σε ασθενείς με υπερευαισθησία στο φάρμακο, σε έγκυες ή θηλάζουσες γυναίκες, σε ασθενείς με σοβαρή καρδιοπάθεια ή νεφρική ανεπάρκεια (κάθαρση κρεατινίνης < 50 ml/min ή αιμοκάθαρση). Ιδιαίτερη προσοχή χρειάζεται επειδή η RBV έχει τερατογόνο δράση και γι' αυτό όλοι οι ασθενείς, ανεξαρτήτως φύλου πρέπει να λαμβάνουν επαρκή αντισυλληπτικά μέτρα κατά τη διάρκεια της θεραπείας και επί 6 μήνες μετά τη διακοπή της θεραπείας με RBV. Επομένως, αρκετοί είναι οι ασθενείς που δε δύναται να λάβουν θεραπεία ή λόγω παρενεργειών δε θα καταφέρουν να ολοκληρώσουν τη θεραπεία. Είναι πολύ σημαντικό να τονίζεται από την αρχή η σημασία της συμμόρφωσης και της άμεσης ενημέρωσης του ιατρού για την εμφάνιση συμπτωμάτων που μπορεί να σχετίζονται με τη θεραπεία.

Η διάρκεια της θεραπείας με pegIFNa/RBV τροποποιείται αναλόγως γονοτύπου. Σε ασθενείς με γονότυπο 1 η θεραπεία χορηγείται για 48 εβδομάδες και σε ασθενείς με γονότυπο 2 ή 3 για 24 εβδομάδες.²⁶

Η ανταπόκριση στη θεραπεία του γονότυπου 1 του HCV μπορεί να προβλεφθεί με την ταυτοποίηση μεμονωμένων πολυμορφισμών νουκλεοτιδίων (SNPs) που εντοπίζονται στην περιοχή του γονιδίου της ιντερλευκίνης (IL)-28B μέσω μελετών γονιδιώματος (GWAS). Οι ασθενείς με τον γονότυπο CC της IL-28B έχουν πολύ πιο ευνοϊκή ανταπόκριση σε σύγκριση με τον γονότυπο CT ή TT (70% έναντι 25% -30%). Ο έλεγχος της IL-28B για τον γονότυπο 1 είναι επομένως ένα χρήσιμο εργαλείο στη διαχείριση των ασθενών.²⁷

Η ανάγκη για βελτίωση του ποσοστού SVR σε δύσκολους γονότυπους, όπως ο 1 αλλά και η προσπάθεια για μείωση των ανεπιθύμητων ενεργειών κυρίως λόγω της χρήσης IFN είχε ως αποτέλεσμα την ανάπτυξη νέων αντιιικών φαρμάκων. Αρχικά πήραν έγκριση το bocoprevir και το telaprevir σε συνδυασμό με pegIFNa/RBV για τη θεραπεία του γονότυπου 1. Η χρήση τους όμως έχει πλέον εγκαταλειφθεί μετά την έγκριση των νεότερων αντιιικών φαρμάκων.

Οι διάφοροι αντιιικοί παράγοντες στοχεύουν σε διάφορες πρωτεΐνες του HCV. Παρόμοια με τα αντιρετροϊκά φάρμακα, αυτοί οι παράγοντες έχουν εγκριθεί σε διάφορους συνδυασμούς για να διακόψουν την αντιγραφή του HCV σε διαφορετικές θέσεις, με αναφορές για ποσοστά επιτυχίας SVR 95-100% στους ασθενείς που υποβλήθηκαν σε θεραπεία έναντι του 50-70% που πετυχαίνει η θεραπεία με peg-IFN/RBV.

Στον πίνακα 1 παρουσιάζονται τα παλιά και τα νεότερα φάρμακα για ενήλικες ασθενείς για την αντιμετώπιση της CHC. Τα χρησιμοποιούμενα νεότερα άμεσα δρώντα αντιιικά φάρμακα (direct acting antivirals, DAAS) είναι γενικώς ασφαλή και καλά ανεκτά. Όλα τα σχήματα που περιέχουν αναστολέα πρωτεάσης δεν πρέπει να χορηγούνται σε ασθενείς με μη αντιρροπούμενη κίρρωση σταδίου B ή C κατά Child. Οι συνδυασμοί που περιέχουν σοφοσμπουβίρη χρησιμοποιούνται με προσοχή σε ασθενείς με χαμηλή κάθαρση κρεατινίνης. Το κύριο σημείο που χρήζει προσοχής κατά τη χρήση των αντιιικών φαρμάκων είναι οι πιθανές αλληλεπιδράσεις τους με άλλα συγχωρηγούμενα φάρμακα.

Αναμφισβήτητα η νέα εποχή με τα πρόσφατα ανεπτυγμένα DAAs έχει οδηγήσει σε εξαιρετικά θεραπευτικά αποτελέσματα σε ασθενείς με CHC και δικαίως αποτελεί τη νέα θεραπεία αντιμετώπισης των ασθενών αυτών. Ωστόσο, υπάρχουν περιπτώσεις που η θεραπεία με DAAs είναι πιθανό να μην είναι επαρκής, όπως η θεραπεία της MC, όπου μπορεί να είναι απαραίτητος ο συνδυασμός με ανοσοκατασταλτική θεραπεία.^{28 29} Επί του παρόντος, τα διαθέσιμα δεδομένα σχετικά με την αποτελεσματικότητα της αντιϊκής θεραπείας σε σχέση με την HCV κρυοσφαιριναιμία είναι περιορισμένα.³⁰ Επιπλέον λόγω της μεγάλης οικονομικής επιβάρυνσης της θεραπείας με τα DAAs, η θεραπεία με pegIFNa/RBV εξακολουθεί να αποτελεί τη συνήθη θεραπεία για τους ασθενείς με CHC σε ορισμένες χώρες.³¹

Πίνακας 1: Εγκεκριμένα παλιά και νέα φάρμακα σε ενήλικες ασθενείς για την αντιμετώπιση της χρόνιας ηπατίτιδας C.

Κλασική ιντερφερόνη	Intron®A και Roferon®-A
Πεγκυλιωμένες ιντερφερόνες	Peg-IFNa2a (Pegasys®) Peg-IFNa-2b (PegIntron®, Sylatron)
Ριμπαβιρίνη	Copegus, Rebetol, Virazole, Moderiba, Ribasphere
Πρώτης γενιάς αναστολείς πρωτεάσης	Boceprevir, BOC (Victrelis®) και telaprevir, TPV (Incivo®)
Νουκλεοτιδικό ανάλογο αναστολέας της πολυμεράσης του HCV (NS5B polymerase inhibitor nucleotide analogue)	Sofosbuvir, SOF (Sovaldi®)
Μη νουκλεοτιδικό ανάλογο αναστολέας της πολυμεράσης του HCV (NS5B polymerase inhibitor non-nucleoside analogue)	Dasabuvir, DSV (Exviera®)
Νέος αναστολέας πρωτεάσης (NS3/4A protease inhibitors)	Simeprevir, SMV (Olysio®), Glecaprevir, Voxilaprevir, Grazoprevir, Paritaprevir
Ένας αναστολέας της NS5A περιοχής (NS5A inhibitors)	Daclatasvir, DCV (Daklinza®), Velpatasvir, Ledipasvir, Pibrentasvir
Συνδυασμοί	Sofosbuvir με έναν αναστολέα NS5A [ledipasvir (LDV)] συγχρησιμοποιούμενα σε ένα δισκίο (Harvoni®) Ένας αναστολέα πρωτεάσης (paritaprevir) με ριτοναβίρη (PRV/r) Ένας άλλος συνδυασμός του sofosbuvir με έναν αναστολέα NS5A [velpatasvir (VEL)] συγχρησιμοποιούμενα σε ένα δισκίο [Epclusa®] Ένας άλλος συνδυασμός ενός αναστολέα πρωτεάσης [grazoprevir

Άλλοι συνδυασμοί

(GZR)] και ενός αναστολέα NS5A περιοχής [elbasvir (EBR)] σε ένα δισκίο (Zepatier®)

Glecaprevir/pibrentasvir

Sofosbuvir/velpatasvir/voxilaprevir

Sofosbuvir/daclatasvir

Sofosbuvir/ravidasvir

2. Η ΑΝΟΣΙΑΚΗ ΑΠΟΚΡΙΣΗ

2.1. ΣΤΗ ΧΡΟΝΙΑ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ C

Το ανοσολογικό σύστημα είναι ένα πολύπλοκο δίκτυο σχεδιασμένο να προστατεύει τον ξενιστή από εξωτερικές απειλές (π.χ. ιοί και βακτήρια) και εσωτερικές απειλές (π.χ. κακοήθης εξαλλαγή). Το σύνολο των κυττάρων, των ιστών και των μορίων του οργανισμού που συμμετέχουν στη διαδικασία αυτή αποτελούν το ανοσολογικό σύστημα, ενώ η συγχρονισμένη αντίδραση του ανοσοποιητικού εναντίον των λοιμωδών παραγόντων ονομάζεται ανοσιακή απόκριση.

Η ανοσιακή απόκριση αποτελείται από δύο αλληλοεξαρτώμενα επίπεδα, τη **φυσική ανοσία** ή μη ειδική και την **επίκτητη** ή **ειδική** ανοσία. Ανάλογα με τα συστατικά της ανοσολογικής απόκρισης η επίκτητη ανοσία χωρίζεται περαιτέρω στην **κυτταρική ανοσία** και στη **χυμική ανοσία**.

ΦΥΣΙΚΗ ΑΝΟΣΙΑ

Η φυσική ανοσία έρχεται πρώτη σε επαφή με τον εισβολέα και γι' αυτό δρα άμεσα και γρήγορα. Οι μηχανισμοί άμυνας της περιλαμβάνουν ποικίλα κύτταρα, όπως τα ουδετερόφιλα, τα μακροφάγα, τα ηωσινόφιλα, τα ιστιοκύτταρα, τα φυσικά κυτταροκτόνα κύτταρα (natural killers, NK), τα μη φυσικά κυτταροκτόνα Τ κύτταρα (non natural killers, NKT), και παράγοντες του συμπληρώματος. Τα NK παράγουν μεγάλο αριθμό κυτταροκινών και ένα ισχυρό παράγοντα, τον παράγοντα νέκρωσης όγκων (tumor necrosis factor, TNF). Τα ιστιοκύτταρα ή μαστοκύτταρα (mast cells) επίσης παράγουν κυτταροκίνες, όπως την ιντερλευκίνη 4 (IL-4) που ενεργοποιεί τα ηωσινόφιλα και άλλα φλεγμονώδη κύτταρα, και την ιντερλευκίνη 5 (IL-5) που ενεργοποιεί τα Β λεμφοκύτταρα για την παραγωγή ανοσοσφαιρίνης Ε (immunoglobulin, IgE) αντισώματος. Τα δένδριτικά κύτταρα (dendritic cells, DC), τα μακροφάγα και οι ινοβλάστες

συμμετέχουν στη φυσική ανοσία παράγοντας τις ιντερφερόνες (interferons, IFNs) και διάφορες πρωτεΐνες με στόχο της καταστολή του εισβολέα.

Στο σχήμα 5 παρουσιάζεται η ανοσιακή απόκριση και το πολύπλοκο δίκτυο των κυτταροκινών στη CHC. Στο ήπαρ υπάρχει ένα μεγάλος αριθμός μακροφάγων (κύτταρα Kupffer), DC, NK και NKT κυττάρων. Όταν ο HCV μολύνει το ήπαρ εκκρίνονται από τα μολυσμένα ηπατοκύτταρα IFNs τύπου I. Τα NK κύτταρα αποτελούν την πρώτη γραμμή άμυνας που θα αντιμετωπίσει ο HCV,³² και ενεργοποιούνται από τις IFNs τύπου I,³³ που φαίνεται από in vitro πειράματα ότι εκκρίνονται εκτός από τα μολυσμένα ηπατοκύτταρα και από τα πλασματοκυτταροειδή DC (plasmacytoid Dendritic Cells, pDC).³⁴ Η δράση των IFNs βασίζεται στον κυτταρικό θάνατο των μολυσμένων ηπατοκυττάρων, στη δημιουργία αντιϊικού περιβάλλοντος στα γειτονικά μη μολυσμένα ηπατοκύτταρα, καθώς και στην ενεργοποίηση των υπολοίπων κυττάρων της φυσικής ανοσίας.³⁵ Τα κύτταρα αυτά ενισχύουν την ανοσιακή απόκριση απελευθερώνοντας προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες και χημειοκίνες.

Ο HCV δεν αναπαράγεται μέσω ενδιαμέσου DNA και δεν ενσωματώνεται στο γονιδίωμα του ξενιστή. Επειδή έχει την τάση να κυκλοφορεί σε πολύ χαμηλούς τίτλους, 10³-10⁷ ιοσωματίδια/ml, είναι δύσκολη η παρατήρηση ιικών σωματιδίων, τα οποία εκτιμάται ότι έχουν μέγεθος 40-60 nm. Ωστόσο, ο ρυθμός πολλαπλασιασμού του HCV είναι πολύ υψηλός (10¹² ιοσωματίδια ανά ημέρα) και ο χρόνος ημισείας ζωής μπορεί να φτάσει τις 2,7 ώρες.³⁶ Με την ενδοηπατική έκκριση των IFNs τύπου I ο χρόνος διπλασιασμού μπορεί να μεταβληθεί σε 7,5 ημέρες οπότε οι τίτλοι του ιού φτάνουν τη μέγιστη τιμή τους και σταθεροποιούνται.³⁷

Παρόλα αυτά, ο HCV φαίνεται εν μέρει να μην επηρεάζεται από τη δράση των IFNs και ουσιαστικά συνεχίζει να πολλαπλασιάζεται στο ήπαρ. Αυτό πιθανώς το πετυχαίνει επειδή τόσο οι δομικές όσο και οι μη δομικές πρωτεΐνες του ιού αποκλείουν τα γονίδια που επάγουν την έκφραση των IFNs (IFN-stimulated genes, ISGs).

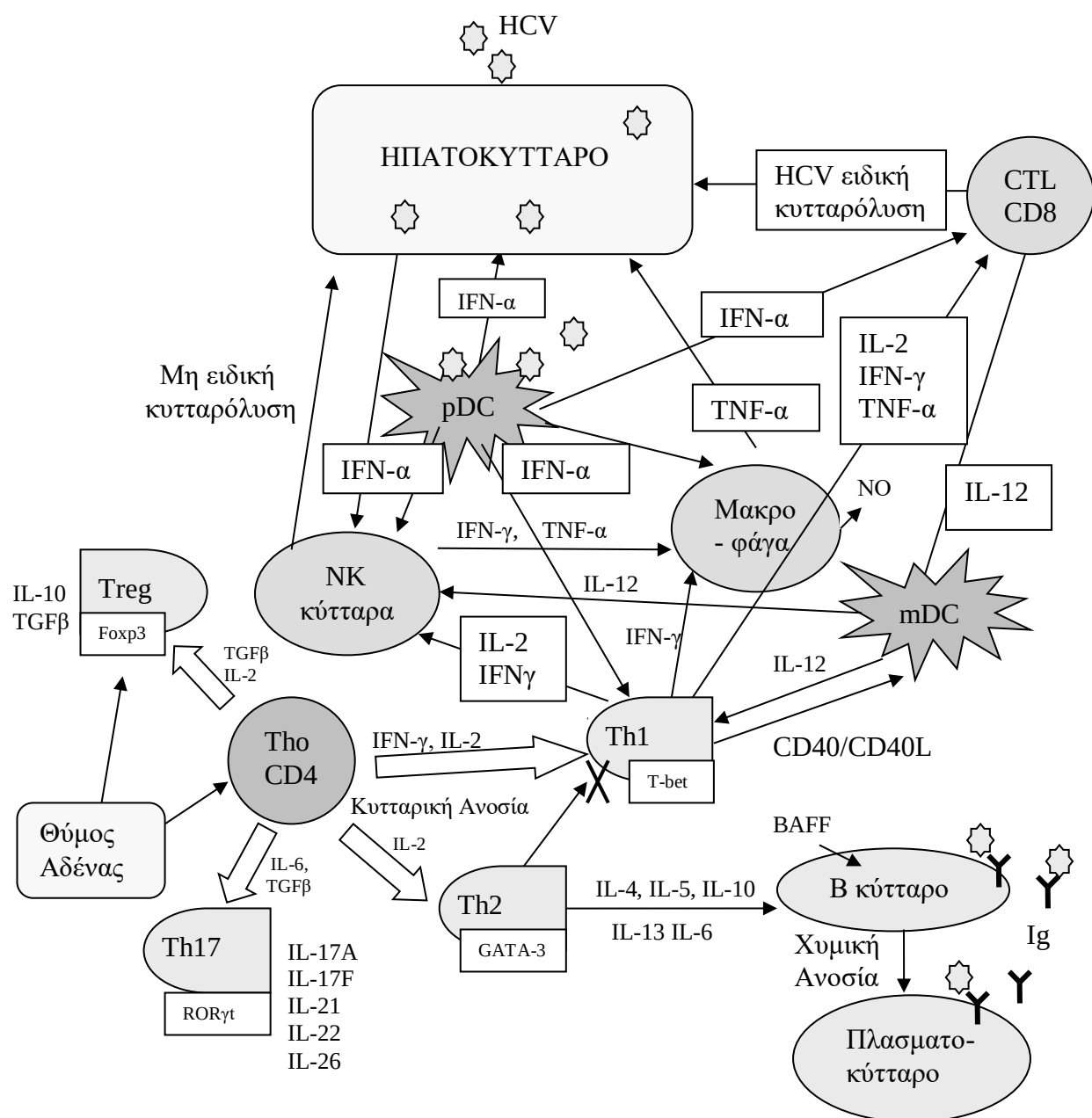
Η έκβαση της ιογενούς λοίμωξης εξαρτάται από την αλληλεπίδραση μεταξύ της ικανότητας του ξενιστή να πυροδοτήσει αντιική απόκριση και των ιικών μηχανισμών. Τα NK κύτταρα ανευρίσκονται στο ήπαρ σε πολύ μεγαλύτερη συχνότητα σε σχέση με το περιφερικό αίμα και ασκούν άμεσα αντιική δράση μέσω κυτταροτοξικών μηχανισμών και με την παραγωγή κυτταροκινών, όπως ο TNF- α , η IFN- γ , η ιντερλευκίνη 10 (IL-10), η ιντερλευκίνη 13 (IL-13), ο μετατρεπτικός αυξητικός παράγοντας (transforming growth factor, TGF- β) και ο παράγοντας διέγερσης των ουδετερόφιλων-μακροφάγων (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, GMSCF).³⁸ Οι κυτταροκίνες αυτές προάγουν με τη σειρά τους την ωρίμανση των DC που περιέχουν ιικά αντιγόνα και ευνοούν την ανάπτυξη Th1/T κυτταροτοξικής απόκρισης. Έχει βρεθεί ότι τα NK κύτταρα ενεργοποιούνται και από τα DC που εκκρίνουν την IL-12.³⁹ Παρόλα αυτά φαίνεται ότι δεν παίζουν κάποιο ρόλο στην αντιμετώπιση της οξείας λοίμωξης από τον HCV.⁴⁰ Έχει επίσης προταθεί ότι ο HCV αποκλείει τα NK κύτταρα μέσω αλληλεπιδράσεων μεταξύ της E2 πρωτεΐνης και του μορίου CD81, εμποδίζοντας έτσι τις αντιικές κυτταροκίνες.⁴¹ Τα NKT κύτταρα αποτελούν ιδιαίτερο τύπο των T λεμφοκυττάρων που εκφράζουν υποδοχείς T κυττάρων και ιδιότητες NK κυττάρων. Όταν διεγείρονται μπορούν να παράγουν τις κυτταροκίνες IL-4, IFN- γ και TNF- α , και να ενεργοποιούν άλλα κύτταρα όπως DC και NK. Τα NKT βρίσκονται σε αφθονία στο ήπαρ και υπολογίζονται περίπου στο 50% των λεμφοκυττάρων.⁴² Στη CHC έχουν αναφερθεί μειωμένα τα ενδοηπατικά NKT, ενώ αύξηση του αριθμού τους παρατηρήθηκε μετά από θεραπεία με pegIFN/RBV.⁴³ Όμως, αν και τα NKT κύτταρα θεωρείται ότι έχουν προστατευτικό ρόλο έναντι του HCV, σε μια μελέτη ο αριθμός των ενεργοποιημένων NKT κυττάρων στο ήπαρ σχετίστηκε με το βαθμό της ηπατοκυτταρικής βλάβης και την εκδήλωση ίνωσης, προτείνοντας ότι μπορεί να έχουν και βλαβερή επίδραση στο ήπαρ.⁴⁴ Τα DCs διαδραματίζουν πρωτεύοντα ρόλο στην έναρξη των T ειδικών κυτταρικών αποκρίσεων μέσω της διαδικασίας της αντιγονοπαρουσίασης. Υπάρχουν δύο βασικοί τύποι, τα μυελοειδή

DC (myeloid dendritic cells, mDC) που εκκρίνουν κυρίως τις IL-10 και IL-12, και τα pDC, που χαρακτηρίζονται από την παραγωγή IFN-α. Η λειτουργία των DCs φαίνεται ότι είναι ιδιαίτερα σημαντική στην αποφυγή της χρόνιας της λοίμωξης από HCV. Μόνο οι ασθενείς που μπορούν να αυξήσουν τον απόλυτο αριθμό των κυκλοφορούντων mDC κατά την οξεία λοίμωξη είναι ικανοί να εξαλείψουν τον ιό.⁴⁵ Στην CHC η συχνότητα των mDC και των pDC στο περιφερικό αίμα μειώνεται, ενώ εξασθενεί και η διαδικασία της ωρίμανσης τους.⁴⁶

Επιπλέον, η συχνότητα των pDC στο αίμα και η ικανότητα τους να παράγουν IFN-α μειώνεται,⁴⁷ όπως επίσης μειώνεται η παραγωγή IL-12 από τα mDC.⁴⁸ Επιπλέον, οι δομικές πρωτεΐνες του HCV επιδρούν στα μονοκύτταρα και επάγουν την παραγωγή IL-10, που αναστέλλει την παραγωγή IL-12 και IFN-α από τα DC.⁴⁹ Παρόλα αυτά σε άλλες μελέτες περιγράφηκε αύξηση της παραγωγής της IFN-α ιδίως στους ασθενείς που απέτυχαν να ανταποκριθούν στη χορήγηση εξωγενούς IFN, στους οποίους τα ISGs είναι ιδιαίτερα ενεργοποιημένα.⁵⁰

Η αναγνώριση του ιού μέσω μιας συντονισμένης αλληλεπίδρασης των κυττάρων της φυσικής ανοσίας, οδηγεί και στην ενεργοποίηση της επίκτητης ανοσίας που στοχεύει σε συγκεκριμένες λειτουργίες. Φαίνεται ότι υπάρχουν αποκρίσεις της φυσικής ανοσίας που ελέγχουν τα επίπεδα του ιού και οδηγούν σε σημαντικές μειώσεις του HCV RNA και αύξησης της SVR, η οποία εκφράζει την ίαση από την χρόνια λοίμωξη. Ο χρόνος που θα εκδηλωθούν οι αποκρίσεις αυτές είναι διαφορετικός για τους ασθενείς που απαντούν νωρίς στη θεραπεία και για αυτούς που απαντούν αργά. Χαρακτηριστικό της HCV λοίμωξης είναι η καθυστερημένη ανοσιακή απόκριση παρόλο που ο ιός πολλαπλασιάζεται από νωρίς. Η καθυστέρηση αυτή παρατηρείται σε ασθενείς με υψηλούς τίτλους του ιού που δεν επιτυγχάνουν SVR και οδηγεί σε διαφυγή ή εξάντληση της ανοσιακής απόκρισης, πιθανώς λόγω του αυξημένου αριθμού των μολυσμένων κυττάρων.

Παρακάτω περιγράφονται οι **κυτταροκίνες** (TNF-α, IL-1, IL-10, IL-12, IL-33, IFNs) και οι **χημειοκίνες** που διαδραματίζουν βασικό ρόλο στη φυσική ανοσία. Αρχικά ο **TNF-α** (ή καχεκτί-



Σχήμα 5: Η ανοσιακή απόκριση και το πολύπλοκο δίκτυο των κυτταροκινών στη χρόνια ηπατίτιδα C.

Τα πλασματοκυτταροειδή δενδριτικά κύτταρα (pDC) αναγνωρίζουν τον HCV και παράγουν IFN-α, που ενεργοποιεί τα φυσικά κύτταρα φονείς (NK), τα T βοηθητικά κύτταρα (Th), τα μακροφάγα, και τα κυτταροτοξικά λεμφοκύτταρα (CTLs). Τα ενεργοποιημένα NK κύτταρα καταστρέφουν τα μολυσμένα ηπατοκύτταρα με μη ειδικό τρόπο. Σε αντίθεση τα CTLs δρουν με αντιγόνο-ειδικό τρόπο. Τα μυελοειδή κύτταρα (mDC) που αναγνωρίζουν τα νεκρά ηπατοκύτταρα, εκκρίνουν IL-12, ενισχύουν την ενεργοποίηση των NK, των Th1 και των CTLs. Τα CD4 T κύτταρα διαφοροποιούνται σε Th1, Th2, Th17, Treg που χρησιμοποιούν τους παράγοντες μεταγραφής T-bet, GATA-3, RORγt, Foxp3 αντίστοιχα. Εν συνεχεία τα ενεργοποιημένα Th1 προάγουν την ωρίμανση των DC μέσω της αλληλεπίδρασης του CD40/CD40 υποκαταστάτη και ενεργοποιούν τα CTL μέσω των IL-2, IFN-γ, TNF-α. Τα μακροφάγα που ρυθμίζονται από τα Th1 παράγουν TNF-α με αποτέλεσμα την ενίσχυση της φλεγμονής. Στη χυμική ανοσία, τα Th2 κύτταρα ενεργοποιούν τα B κύτταρα και παράγονται ανοσοσφαιρίνες (Ig) για την εξουδετέρωση του ελεύθερου στη κυκλοφορία HCV. IL: ιντερλευκίνη, IFN: ιντερφερόνη, HCV: ιός της ηπατίτιδας C, Treg: T ρυθμιστικά κύτταρα, BAFF: παράγοντας ενεργοποίησης B κυττάρων. Εικόνα από: Ο ρόλος των Κυτταροκινών στη Χρόνια Ηπατίτιδα C. Αρχεία Ελληνικής Εταιρείας 2013, 30 (6): 659-674

νη), που παράγεται από τα Th1, Th2 και τα κυτταροτοξικά λεμφοκύτταρα (CTL) και ενεργοποιεί την παραγωγή νιτρικού οξέος (NO) από τα μακροφάγα. Αποτελεί σημαντικό ρυθμιστή της οξείας φλεγμονής. Συνδέεται με δύο υποδοχείς στην επιφάνεια των κυττάρων, τους TNFR-1 και TNFR-2. Ο TNF-α είναι απαραίτητος για τον πολλαπλασιασμό των ηπατοκυττάρων κατά την αναγέννηση του ήπατος και για την αναστολή αντιαποπτωτικών δράσεων. Παράλληλα όμως έχει αναγνωριστεί ως ρυθμιστής του ηπατοκυτταρικού θανάτου. Τα επίπεδά του βρέθηκαν αυξημένα στον ορό ασθενών με HCV λοίμωξη, ενώ οι μεγαλύτερες τιμές παρατηρήθηκαν σε ασθενείς με κίρρωση. Επίσης, τα επίπεδα των sTNFR βρέθηκαν αυξημένα και παρουσίασαν σημαντική συσχέτιση με τα επίπεδα των αμινοτρανσφερασών και με το βαθμό της ηπατικής φλεγμονής.^{51 52} Θεραπευτικά, οι αναστολείς του TNF-α (anti TNF, όπως η ετανερσέπτη) έχουν δοκιμασθεί σε ασθενείς με εξωηπατικές εκδηλώσεις CHC.⁵³

Η **IL-1** αποτελεί προφλεγμονώδη κυτταροκίνη (proinflammatory cytokine) με πολλές ομοιότητες με τον TNF-α. Παράγεται από τα ενεργοποιημένα μακροφάγα, συνήθως μαζί με αυτόν. Ο ακριβής ρόλος της στην ηπατίτιδα C δεν έχει διευκρινιστεί. Κάποιες μελέτες έδειξαν ότι η παραγωγή της παρουσιάζει μείωση σε ασθενείς με HCV λοίμωξη, υποθέτοντας ότι παίζει κάποιο ρόλο στην κάθαρση από τον ιό. Προτάθηκε έτσι ότι μπορεί να βοηθήσει στη ρύθμιση της ανοσιακής απόκρισης με τη διαδικασία της αντιγονοπαρουσίασης. Επιπλέον, μοριακές αναλύσεις έδειξαν ότι μπορεί να συμβάλλει στην έκφραση των ISGs με αποτέλεσμα την ενίσχυση της αντιϊκής δράσης.⁵⁴ Τα επίπεδα της IL-1α στον ορό ήταν αυξημένα σε ασθενείς με CHC και σχετιζόμενες με αυτό ηπατικές νόσους (κίρρωση του ήπατος και ΗΚΚ) και μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως σημαντική παράμετρος της φλεγμονώδους δραστηριότητας και για την αξιολόγηση της ίνωσης σε ασθενείς με χρόνια ηπατική νόσο.⁵⁵

Η **IL-10** αποτελεί μία από σημαντικότερες και καλά μελετημένες κυτταροκίνες με ισχυρή ανοσιακή δράση. Περιγράφεται αναλυτικότερα παρακάτω στην κυτταρική ανοσία.

Η **IL-12** παράγεται από τα DC, τα μακροφάγα και τα Β-λεμφοβλαστικά ως απάντηση σε αντιγονικά ερεθίσματα. Προάγει την κυτταρική ανοσία με την επικράτηση Th1 ανοσιακής απόκρισης και έτσι συμβάλει στην ανοσοπαθογένεια της HCV λοίμωξης ενισχύοντας τη φλεγμονή. Τα επίπεδα της βρίσκονται αυξημένα σε ασθενείς με χρόνια λοίμωξη από HCV ενώ παρατηρείται και αύξηση τους μετά από θεραπεία με pegIFN/RBV.⁵⁶

Η **IL-33** είναι μία από τα νεότερα ανακαλυφθέντα μέλη της οικογένειας της IL-1. Δρα μέσω του υποδοχέα ST2 και in vitro επάγει τα Th2 κύτταρα προς παραγωγή κυτταροκινών, ενώ in vivo επάγει την έκφραση των IL-4, IL-5, IL-10, IL-13.⁵⁷ Επίσης έχει περιγραφεί ότι σχετίζεται με την ανάπτυξη και την εξέλιξη της ηπατικής ίνωσης από τον HCV.⁵⁸ Σε άλλη μελέτη ασθενών με CHC βρέθηκαν αυξημένα τα επίπεδα της IL-33 ενώ κατά τη θεραπεία με pegIFN/RBV τα επίπεδα μειώθηκαν σημαντικά.⁵⁹ Φαίνεται ότι η IL-33 είναι πιθανό να αποτελεί σημαντικό βιοδείκτη της ηπατικής βλάβης σε ασθενείς με CHC καθώς και ευαίσθητο δείκτη για την επίτευξη SVR.

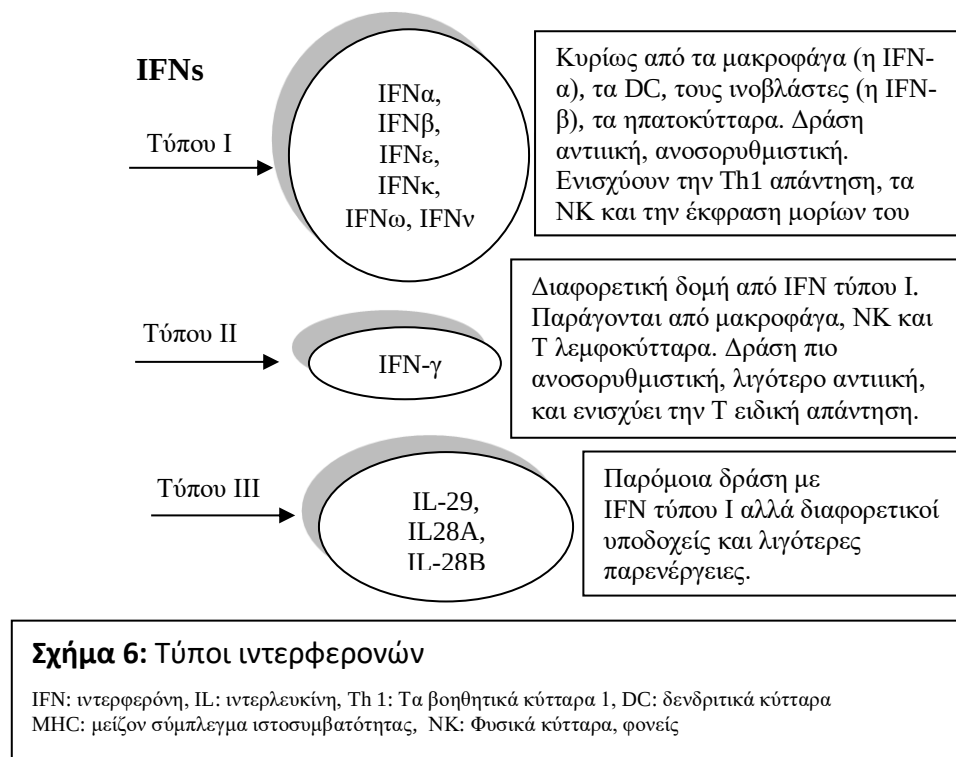
Οι **IFNs** ανακαλύφθηκαν πριν από 50 χρόνια από τους Isaacs και Lindenmann. Σήμερα έχουν αναγνωριστεί πάνω από 10 IFNs και πολλοί περισσότεροι υπότυποι, όλοι με αντιική δράση αλλά και με ξεχωριστές ιδιότητες. Οι IFNs αποτελούν κομβικές κυτταροκίνες στην αρχή της φυσικής ανοσιακής απόκρισης και στην κυτταρική ανοσία κατά τη χρόνια φάση της ηπατίτιδας C. Τα προϊόντα των ISGs μπορούν να εμποδίσουν τη μετάφραση του ιικού RNA και επομένως να περιορίσουν την αρχική ιική εξάπλωση του ιού στο ήπαρ, μέχρι να επιτευχθεί κάθαρση από τα T ειδικά κύτταρα. Οι IFNs ταξινομούνται σε 3 τύπους (σχήμα 6).

Η αρχική απόκριση στη λοίμωξη από HCV φαίνεται ότι είναι η παραγωγή IFN-β από τα μολυσμένα ηπατοκύτταρα. Η IFN-β έχει διαφορετικές βιολογικές ιδιότητες από την IFN-α και επιτυγχάνει σε μεγαλύτερο βαθμό την κάθαρση του ιού. Η IFN-α παράγεται κυρίως από τα μακροφάγα, ενώ η IFN-β από διάφορα κύτταρα και τους ινοβλάστες. Παρόλο που οι δύο τους διαφέρουν δομικά, συνδέονται στον ίδιο υποδοχέα και ασκούν παρόμοιες επιδράσεις, με

βασικό στόχο την αντιμετώπιση ιογενών λοιμώξεων. Οι βιολογικές δραστηριότητες των ιντερφερονών τύπου I δεν περιορίζονται στην αντιική δράση αλλά περιλαμβάνουν ευρύ πλαίσιο, όπως ανοσορρυθμιστικές και ανασταλτικές της ανάπτυξης ιδιότητες.

Η ανακάλυψη το 2003 της οικογένειας των IFN-λ, άνοιξε ένα νέο κεφάλαιο στην ιστορία των IFNs. Υπάρχουν τρία διαφορετικά γονίδια IFN-λ που κωδικοποιούν τις IFN-λ1, IFN-λ2 και IFN-λ3 (IL-29, IL28A και IL-28B αντίστοιχα). Οι τρεις αυτές πρωτεΐνες αποτελούν τις **IFNs τύπου III**. Όπως και με τις IFNs τύπου I, η έκκριση τους επάγεται από ιογενείς λοιμώξεις αλλά η μετάδοση του σήματος τους πραγματοποιείται μέσω ετεροδιμερούς συστήματος υποδοχέων διαφορετικών από αυτών που χρησιμοποιούν οι IFNs τύπου I και II. Οι υποδοχείς των IFN τύπου III (IL10R2 και IFNLR1) περιορίζονται στα κύτταρα με επιθηλιακή προέλευση, ενώ αντίστοιχα οι υποδοχείς των IFNs τύπου I εκφράζονται σε πολλούς τύπους κυττάρων. Παρόλο ότι έχουν διαφορετικούς υποδοχείς ενεργοποιούν την ίδια ενδοκυττάρια οδό μετάδοσης.⁶⁰

Η κάθαρση από τον HCV, εξωγενής ή αυτόματη, επηρεάζεται από ποικίλους παράγοντες του ξενιστή. Ενδιαφέρον παρουσιάζει ο πολυμορφισμός μιας περιοχής του γονιδίου **IL-28B (IFN-**



λ3), εμπλέκοντας το παράγωγο του γονιδίου, την **IFN-λ3**, στην ανοσιακή απόκριση του HCV. Φαίνεται ότι ο πολυμορφισμός του γονιδίου της IFN-λ3 σχετίζεται με την ανταπόκριση στη θεραπεία και με την επίτευξη SVR σε ασθενείς που έλαβαν την τυπική θεραπεία με pegIFN/RBV. Σε ασθενείς με CHC έχει αναγνωριστεί αυξημένη μεταγραφή της IFN-λ3 στο ήπαρ και στα μονοπύρρηνα του περιφερικού αίματος (peripheral blood nuclear cells, PBNCs). In vitro έχει περιγραφεί ως πιθανός ανασταλτής του πολλαπλασιασμού του HCV.^{61 62} Τέλος η IFN-λ3 έχει δοκιμαστεί ως πιθανή νέα θεραπευτική επιλογή σε ασθενείς με CHC. Φαίνεται ότι αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό του ιού και σχετίζεται με ήπιες παρενέργειες. Όμως έχει παρατηρηθεί ηπατοτοξικότητα τόσο στους υγιείς εθελοντές όσο και στους ασθενείς με ηπατίτιδα C που έλαβαν IFN-λ1.⁶³

Οι **χημειοκίνες** αποτελούν ομάδα δομικά ομολόγων κυτταροκινών. Λειτουργικά υπάγονται σε δύο μεγάλες κατηγορίες την ομοιοστατική και την προφλεγμονώδη. Οι ομοιοστατικές χημειοκίνες εμπλέκονται στη διακίνηση των λεμφοκυττάρων και στην επιτήρηση της ανοσιακής απόκρισης.⁶⁴ Οι προφλεγμονώδεις παράγονται κατά τη διάρκεια λοίμωξης ή μετά από προφλεγμονώδη ερεθίσματα, και προτρέπουν τη μετανάστευση των λευκοκυττάρων στη βλάβη. Αυτές οι χημειοκίνες μπορούν να ενεργοποιήσουν κύτταρα ώστε να αυξηθεί η ανοσιακή απόκριση.

Οι χημειοκίνες σχετίζονται μεταξύ τους δομικά γιατί οι περισσότερες περιέχουν ως συστατικό τους την κυστεΐνη. Ανάλογα με τη διάταξη των δύο πρώτων κυστεϊνών χωρίζονται σε τέσσερις υπότυπους: CXC (alpha), CC (beta), C (gamma) και CX3C (delta).⁶⁵ Παράγονται ως προπεπτίδια και διασπώνται κατά τη διάρκεια της εκκρίσεως προκειμένου να παραχθεί μια δραστική ώριμη πρωτεΐνη, που λειτουργεί με την ενεργοποίηση υποδοχέων G-συνδεδεμένων πρωτεϊνών. Οι υποδοχείς για αυτές τις χημειοκίνες έχουν ονομαστεί αναλόγως CXCR, CCR, CR, και CX3CR.⁶⁶

Στη CHC η συνεχής παραγωγή χημειοκινών λόγω επίμονης ιογενούς αντιγραφής, μπορεί να οδηγήσει στη συνεχή στρατολόγηση αντιφλεγμονωδών κυττάρων στο ήπαρ, προκαλώντας χρόνια φλεγμονή και βλάβη του ήπατος.⁶⁷ Η CXCL10 (μοτίβο CXC και ligand 10), γνωστή και ως IP-10 (interferon-γ-inducible protein-10), παράγεται από τα ηπατοκύτταρα, τα λεμφοκύτταρα και τα ηπατικά ενδοθηλιακά κύτταρα των κολποειδών (liver sinusoidal endothelial cells, LSECs) και βρέθηκε αυξημένη στο ήπαρ και στο περιφερικό αίμα, ενώ τα επίπεδα της σχετίστηκαν με την φλεγμονή.⁶⁸ Τα επίπεδα της IP10 στο πλάσμα αντικατοπτρίζουν τα ενδοηπατικά CXCL10. Θεωρείται ότι μπορούν και τα δύο να προβλέψουν την πρώιμη μείωση του HCV RNA στη θεραπεία σε ασθενών με HCV.⁶⁹ Η CXCL9 (μοτίβο CXC και Ligand 9) που επίσης παράγεται από τα LSECs, βρίσκεται αυξημένη στο ήπαρ και το περιφερικό αίμα, ενώ τα επίπεδα της σχετίστηκαν με το βαθμό φλεγμονής.⁶⁸ Η CXCL11 (μοτίβο CXC και Ligand 11) παράγεται κυρίως από τα ηπατοκύτταρα. Τα ενδοηπατικά επίπεδα της CXCL11 σχετίστηκαν σημαντικά με πυλαία και λοβιδιακή φλεγμονή.⁷⁰ Σε άλλες μελέτες, οι χημειοκίνες θεωρήθηκαν χρήσιμοι προγνωστικοί δείκτες της θεραπείας της CHC. Για παράδειγμα τα αυξημένα επίπεδα της CXCL10 προ της θεραπείας σχετίστηκαν με μη ανταπόκριση στη θεραπεία.⁶⁹

Η **ιντερλευκίνη 8 (CXCL8/IL-8)**, γνωστή και ως χημειοτακτικός παράγοντας των ουδετεροφίλων και των λεμφοκυττάρων, αποτελεί σημαντικό ρυθμιστή της φλεγμονής και της ανοσιακής απόκρισης. Η παραγωγή της ρυθμίζεται από τις IL-1, TNF-α και την IL-6. Ενεργοποιεί τα ουδετερόφιλα και επάγει την αποκοκκίωση με απελευθέρωση λακτοφερίνης. Αυτός ο τύπος φλεγμονωδών κυττάρων έχει παρατηρηθεί στον ηπατικό ιστό σε ιογενείς χρόνιες ηπατίτιδες. Τέλος, τα επίπεδα της IL-8 έχουν βρεθεί αυξημένα σε ασθενείς με CHC και οι μέγιστες τιμές παρατηρήθηκαν στους ασθενείς με κίρρωση.⁵²

ΕΠΙΚΤΗΤΗ ΑΝΟΣΙΑ

Η **επίκτητη ή ειδική ανοσία** αν και θεωρείται πιο βραδεία στην ανοσιακή απόκριση, χαρακτηρίζεται από δύο βασικές ιδιότητες που δε διαθέτει η φυσική ανοσία: την ειδική αντιγονική αναγνώριση και τη δημιουργία μνήμης στην εισβολή κάθε αντιγόνου. Αποτέλεσμα αυτών είναι η ταχύτερη και η αποτελεσματικότερη ανταπόκριση σε μεταγενέστερη εισβολή του ίδιου αντιγόνου. Τα Β και τα Τ λεμφοκύτταρα προέρχονται από κοινό βλαστικό κύτταρο και αποτελούν το κυτταρικό σκέλος της ειδικής ανοσίας (**κυτταρική ανοσία**), ενώ τα αντισώματα που παράγονται από τα Β λεμφοκύτταρα και τα πλασματοκύτταρα αποτελούν το χυμικό σκέλος της (**χυμική ανοσία**).

Στην **κυτταρική ανοσία** τα Τ λεμφοκύτταρα παράγονται στο μυελό των οστών και μεταναστεύουν στο θύμο αδένα μέχρι και την ωρίμανση τους. Αποτελούν κύρια πηγή παραγωγής κυτταροκινών. Έχουν την ιδιότητα να μην αναγνωρίζουν διαλυτά αντιγόνα, αλλά μόνο ειδικά αντιγονικά πεπτίδια που παρουσιάζονται στην επιφάνεια αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων (antigen presenting cells, APC), συνδεδεμένα με πρωτεΐνες του συστήματος μείζονος ιστοσυμβατότητας (major histocompatibility complex, MHC). Τα Τ λεμφοκύτταρα χωρίζονται σε δύο βασικές κατηγορίες αναλόγως της παρουσίας συγκεκριμένων μορίων στην επιφάνεια των κυττάρων, τα CD4⁺ Τ λεμφοκύτταρα παρουσιάζουν MHC-II και τα CD8⁺ παρουσιάζουν MHC-I. Τα CD4⁺ είναι γνωστά και ως Τ βοηθητικά κύτταρα (T helper, Th) είναι μια ετερογενής ομάδα κυττάρων και χωρίζονται περαιτέρω αναλόγως των κυτταροκινών που παράγουν σε τουλάχιστον 4 υποτύπους: **Th1, Th2, Th17** και τα Τ ρυθμιστικά (**T regulatory**) κύτταρα (σχήμα 7).⁷¹ Τα Τ λεμφοκύτταρα που εκφράζουν CD8⁺ είναι τα κυτταροτοξικά Τ κύτταρα. Στη φυσιολογική ανοσοαπόκριση, τα κύτταρα Th1 είναι σημαντικά για την καταπολέμηση των ενδοκυτταρικών παθογόνων, τα κύτταρα Th2 για τις λοιμώξεις από έλμινθες και τα κύτταρα Th17 για εξωκυτάρια παθογόνα και μύκητες. Από την άλλη πλευρά, τα Tregs προκαλούν ανοσολογική ανοχή έναντι αυτοαντιγόνων και ακίνδυνων ξένων

αντιγόνων όπως η τροφή και το εντερικό μικροβιακό. Επιπλέον, ελέγχουν την ανοσοαπόκριση μέσω διαφόρων μηχανισμών, συμπεριλαμβανομένης της έκκρισης αντιφλεγμονωδών μεσολαβητών, όπως IL-10 και TGF-β. Ωστόσο, σε αυτοάνοσα νοσήματα, τα T κύτταρα διαμεσολαβούν σε ανοσοαπόκριση έναντι του ίδιου του σώματος, υποδηλώνοντας είτε υπερενεργοποίηση των προ-φλεγμονωδών T κυττάρων είτε ανεπαρκή έλεγχο από Treg κύτταρα ή αμφότερα.

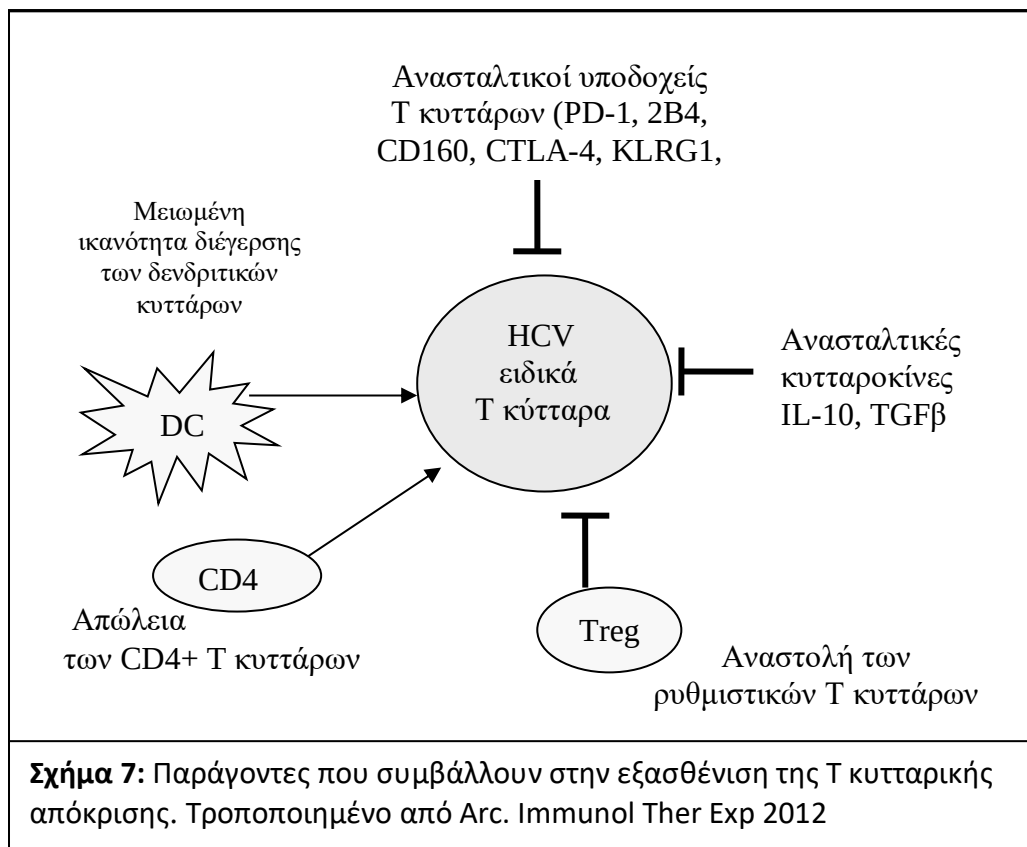
Η διαίρεση της απόκρισης των T βοηθητικών κυττάρων σε Th1 και Th2 αποτέλεσε τον κορμό πολλών ερευνών και συνετέλεσε στην κατανόηση πολύπλοκων ανοσολογικών μηχανισμών. Όσο όμως η έρευνα οδηγεί σε νέες κατευθύνσεις είναι φανερό ότι αυτοί οι δύο τύποι αποτελούν μόνο την κορυφή του παγόβουνου. Μετά την ανακάλυψη τους οι ερευνητές αφιερώθηκαν στην κατανόηση των κυτταροκινών που τις χαρακτηρίζουν καθώς και των σημάτων που απαιτούνται για την Th1/Th2 διαφοροποίηση. Εν συνεχεία το ενδιαφέρον στράφηκε στο ρόλο των υποτύπων των DC και στη ρύθμιση της ανοσιακής απόκρισης από τα Treg και τα προσφάτως ανακαλυφθέντα Th17 κύτταρα. Ο τελευταίος σταθμός των ερευνητών αφορά τώρα τόσο την κατανόηση της ρύθμισης των Th υποτύπων, αλλά και της πιθανής θεραπευτικής προσέγγισης που μπορεί να έχουν.

Ένα από τα χαρακτηριστικά της HCV λοίμωξης είναι η καθυστερημένη ανοσιακή απόκριση παρά το γεγονός ότι από νωρίς αυξάνεται ο τίτλος του ιού και τα ISGs διεγείρονται. Τα ειδικά T λεμφοκύτταρα μπορούν να ανιχνευτούν στο ορό του ασθενούς 4-8 εβδομάδες μετά την αρχική έκθεση στον ιό και συνδυάζονται με παράλληλη αύξηση της ALT.⁷² Τη στιγμή της κλινικής παρουσίασης και της αύξησης των επιπέδων ALT, ανιχνεύεται στο αίμα των ασθενών έντονος πολλαπλασιασμός των CD4+ T κυττάρων,⁷³ με επακόλουθη παραγωγή IL-2 και IFN-γ.⁷⁴ Η αυτόματη κάθαρση του HCV υπολογίζεται ότι είναι 20-25%, σχεδόν αποκλειστικά τον πρώτο χρόνο και σχετίζεται με ισχυρή, και παρατεταμένη ειδική CD4+ αλλά και CD8+ T κυτταρική απόκριση.⁷⁵ Η αποτυχία της απόκρισης των CD4 κυττάρων κατά τη διάρκεια οξείας

μόλυνσης με HCV μπορεί να προκληθεί από μείωση των κυττάρων Th17 που παράγουν IL-21 και αύξηση των CD4 ρυθμιστικών Foxp3+.⁷⁶ Η μείωση των επιπέδων του ιού συμπίπτει επακριβώς με την εμφάνιση των ειδικών T κυττάρων και με την παραγωγή της IFN-γ,³³ υποδεικνύοντας ότι η κάθαρση από τον ιό καθορίζεται από τα T κύτταρα. Δεν έχει όμως διευκρινιστεί εάν η IFN-γ σχετίζεται άμεσα ή είναι απλώς ένας δείκτης για άλλες λειτουργίες των T κυττάρων.

Η ενεργοποίηση των T ειδικών κυττάρων παρατηρείται επίσης και στη χρόνια HCV λοίμωξη. Η συνεχής όμως έκθεση των T κυττάρων στα αντιγόνα του ιού οδηγεί σε χρόνια ενεργοποίηση με αποτέλεσμα την εξασθένηση των T κυττάρων και τη δυσλειτουργία των ειδικών αποκρίσεων. Σημαντικές λογαριθμικές αλλαγές του τίτλου του ιού και της ALT, καθώς και η αυτόματη ιική κάθαρση συμβαίνουν εξαιρετικά σπάνια και συνηγορούν στην συνύπαρξη ιού και ανοσιακής απόκρισης του ξενιστή. Στη CHC λειτουργίες όπως η παραγωγή IL-2 και η ικανότητα πολλαπλασιασμού χάνονται πρώτες. Ακολουθεί η σταδιακή εξασθένηση της παραγωγής TNF-α και εν συνεχεία της παραγωγής IFN-γ.⁷² Όταν η λοίμωξη γίνει χρόνια παρατηρείται μια ασθενής CD4+ T ειδική αντίδραση με μικρή ειδικότητα και σπάνια παραγωγή κυτταροκινών.⁷⁷ Επιπλέον η απώλεια της αρχικώς ισχυρής απόκρισης των CD4+ T κυττάρων έχει συσχετιστεί με υποτροπιάζουσα ιαιμία ακόμη και μήνες μετά τον φαινομενικό έλεγχο του ιού.⁷⁸

Τα CD8+ κυτταροτοξικά λεμφοκύτταρα επιδρούν στους ιούς με τη χρήση κυτταρολυτικών μηχανισμών απόπτωσης και μηχανισμών που ρυθμίζονται από τις κυτταροκίνες όπως οι IFN-α και TNF-α. Στην CHC, όπως συμβαίνει και με τα CD4+ κύτταρα που παρουσιάζουν εξασθενημένη λειτουργία, έτσι και τα CD8+ T κύτταρα φαίνεται ότι έχουν ελαττωμένη ικανότητα πολλαπλασιασμού, κυτταροτοξικότητας και παραγωγής της IFN-γ, ενώ παρουσιάζουν αυξημένα τα επίπεδα προγραμματισμένου θανάτου-1.⁷⁹



Ένα ερώτημα που τίθεται από πολλούς ερευνητές αφορά στην αναζήτηση των παραγόντων και του βαθμού της συμμετοχής τους στην εξασθένηση των T ειδικών κυττάρων. Οι κυτταροκίνες διαδραματίζουν κεντρικό ρόλο στην απενεργοποίηση των αντιικών T κυττάρων. Ειδικά οι IL-10 και TGF-β έχουν συσχετισθεί με την εξασθένηση των T λεμφοκυττάρων. Στη CHC τα Treg μπορούν να ελευθερώσουν IL-10 και TGF-β και να αναστείλουν τον πολλαπλασιασμό και την σύνθεση κυτταροκινών στα T λεμφοκύτταρα, είτε άμεσα είτε μέσω άλλων κυτταροκινών.⁸⁰ Άλλοι παράγοντες που συμβάλλουν φαίνονται στο σχήμα 7.

Είναι ευρέως αποδεκτό ότι στην κυτταρική ανοσία οι υπότυποι Th1, Th2, Th17 και Treg χαρακτηρίζονται από το προφίλ των κυτταροκινών που εκκρίνουν και τις λειτουργίες τους. Η διαφοροποίησή τους ρυθμίζεται από παράγοντες που περιλαμβάνουν το αντιγόνο, τις κυτταροκίνες, τα DC, τα Treg, φάρμακα όπως τα κορτικοστεροειδή και τέλος το περιβάλλον. Παρακάτω περιγράφονται οι κυτταροκίνες της κυτταρικής ανοσίας (IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IFN-γ, TNF-β, TGF-β) και η σχέση τους με την ηπατίτιδα C.

Η **ιντερλευκίνη 2** (IL-2), αν και νούμερο 2, είναι το πρώτο μόριο ιντερλευκίνης που ανακαλύφθηκε και περιγράφηκε. Αποτελεί Th1 κυτταροκίνη και συμμετέχει στον πολλαπλασιασμό και την ενεργοποίηση των T λεμφοκυττάρων, των NK κυττάρων και των B λεμφοκυττάρων. Σε αρκετές μελέτες βρέθηκαν αυξημένα τα επίπεδα της IL-2 στον ορό ασθενών με CHC. Φαίνεται ότι η έκφραση της σχετίζεται με προχωρημένα στάδια της νόσου.⁸¹ Επιπλέον, οι Saadoun et al, περιέγραψαν τις ευεργετικές επιδράσεις της θεραπείας χαμηλών δόσεων IL-2 σε ασθενείς με αυτοάνοση αγγειίτιδα και κρουσφαιριναιμία από CHC. Η θεραπευτική επίδραση πιθανώς να οφείλεται στην κατασταλτική ρύθμιση της IL-2 στα T λεμφοκύτταρα και την αποκατάσταση των επιπέδων των Treg.⁸²

Η **IL-4** αποτελεί μία ιδιαίτερα πλειοτροπική κυτταροκίνη που παράγεται από τα CD4+ T λεμφοκύτταρα, τα ιστιοκύτταρα και τα βασεόφιλα. Έχει αξιοσημείωτες ανασταλτικές επιδράσεις στην έκφραση και την απελευθέρωση των προ-φλεγμονωδών κυτταροκινών. Αρκετοί είναι οι ερευνητές που έχουν διαπιστώσει στη CHC έντονη Th2 τύπου απάντηση, η οποία εκφράζεται από την αύξηση της IL-4.⁵¹ Τα αυξημένα αυτά επίπεδα τα συσχετίζουν με συστηματική απόκριση παρά με τοπική παραγωγή στο ήπαρ και με σκοπό πιθανώς να περιορίσουν την Th1 απάντηση στο ήπαρ, ώστε να αποφευχθούν συστηματικές αντιδράσεις. Η Th2 τύπου στροφή της ανοσιακής απάντησης που παρατηρείται, αδυνατεί να εξαλείψει τον ιό και πιθανώς συμβάλλει στη χρονιότητα της νόσου.

Η **IL-6**, γνωστή και ως ρυθμιστικός παράγων 2 των B κυττάρων (BSF-2) ή ιντερφερόνη β2, θεωρείται βασικός ρυθμιστής της φλεγμονής και των αποκρίσεων οξείας φάσης στο ήπαρ. Εμποδίζει την κυτταρική απόπτωση και προωθεί τη διαφοροποίηση των T λεμφοκυττάρων σε Th1. Παράγεται από τα μακροφάγα, τα ενδοθηλιακά κύτταρα, τους ινοβλάστες και από άλλα κύτταρα ως απάντηση στα αντιγόνα των μικροβίων ή στις κυτταροκίνες IL-1 και TNF. Θεωρείται ότι παίζει ρόλο στην ανοσιακή απόκριση που μπορεί να οδηγήσει στην κάθαρση από τον

HCV.⁸³ Τα επίπεδα της στον ορό ασθενών με CHC βρέθηκαν αυξημένα, αλλά είναι αμφιλεγόμενη η σχέση της με την εξέλιξη της νόσου και τις ιστολογικές μεταβολές στο ήπαρ.⁸⁴ Η **IL-10**, γνωστή και ως “ανασταλτικός παράγοντας της έκκρισης κυτταροκινών”, είναι ίσως η πιο σημαντική κυτταροκίνη με ισχυρή αντιφλεγμονώδη και ανοσοκατασταλτική δράση. Αποτελεί πρωτεΐνη 160 αμινοξέων που παράγεται από τα Treg, τα Th2, τα DC τα μακροφάγα και τα NK κύτταρα. Ο κύριος ρόλος της έγκειται στην αναστολή της δράσης των APC και την παραγωγή προφλεγμονωδών κυτταροκινών από τα μακροφάγα και τα DC, οδηγώντας έτσι σε αναστολή της Th1 απόκρισης.⁸⁵ Η IL-10 αποτελεί σημαντικό ρυθμιστή των CD4+ κυττάρων.⁸⁶ Φαίνεται ότι αποκλείοντας με αντίσωμα τον υποδοχέα της IL-10 είναι δυνατή η αναστολή της καταστολής των CD4+ κυττάρων.⁸⁷

Η IL-10 είναι εύκολα μετρήσιμη στην κυκλοφορία σε ασθενείς με συστηματικές ασθένειες και μια ποικιλία φλεγμονωδών καταστάσεων.⁸⁸ Τυπικά τα επίπεδα της στον ορό ασθενών με CHC είναι αυξημένα.⁸⁹ Τα T λεμφοκύτταρα που παράγουν την IL-10 ανευρίσκονται σε τμήματα του ήπατος με χαμηλή ηπατοκυτταρική απόπτωση και χαμηλή έκφραση της λαμινίνης, ενώ αυτά που παράγουν IFN-α βρίσκονται σε τμήματα του ήπατος με ισχυρή απόπτωση και λαμινίνη.⁹⁰ Σε ασθενείς που έλαβαν θεραπεία με pegIFN/RBV, η IL-10 αξιολογήθηκε ως αρνητικός προγνωστικός παράγοντας της ανταπόκρισης στη θεραπεία.⁹¹

Η **IFN-γ** αποτελεί το μοναδικό μέλος της κατηγορίας των ιντερφερονών τύπου II (σχήμα 6) και εμφανίζεται μετά από έκθεση λεμφοκυττάρων σε ειδικά αντιγόνα. Περιγράφηκε για πρώτη φορά το 1970 και έγινε γνωστή ως η ιντερφερόνη της ανοσίας. Η IFN-γ κωδικοποιείται από το γονίδιο IFNG. Τα Th1 κύτταρα, τα CTL και τα NK κύτταρα είναι η κύρια ενδογενής πηγή της, σε αντίθεση με τις ιντερφερόνες α και β που παράγονται από όλα τα κύτταρα.

Σήμερα είναι αποδεκτό ότι η IFN-γ αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό του HCV in vitro και αποτελεί το βασικό ρυθμιστή των T ειδικών ανοσιακών αποκρίσεων έναντι του HCV. Παρόλο που σε αρκετές μελέτες ασθενών με λοίμωξη από HCV παρατηρήθηκε Th1 ανοσιακή απόκριση

με υπερπαραγωγή της IFN-γ, σε άλλες τα επίπεδα της IFN-γ βρέθηκαν χαμηλά. Επίσης σε ασθενείς που έλαβαν θεραπεία με peg IFN/RBV παρατηρήθηκε μείωση των επιπέδων της μόλις από τη 12η εβδομάδα θεραπείας.⁹²

Ο **TNF-β** (ή λεμφοτοξίνη) παράγεται από τα Th1 λεμφοκύτταρα και αναστέλλει τη δράση των B λεμφοκυττάρων. Αποτελεί μεσολαβητή της φλεγμονώδους αντίδρασης και των σηπτικών φαινομένων, ενεργοποιώντας τα πολυμορφοπύρηνα και την παραγωγή NO από τα μακροφάγα. Τα επίπεδα του βρέθηκαν σημαντικά αυξημένα σε χρόνια HCV λοίμωξη και σχετίστηκαν με το βαθμό της φλεγμονής και της ηπατικής ίνωσης.⁵¹

Ο **TGF-β** παράγεται από Treg κύτταρα και έχει τόσο αντιφλεγμονώδεις όσο και προφλεγμονώδεις ιδιότητες. Λειτουργεί ως βιολογικός διακόπτης που ανταγωνίζεται ή τροποποιεί τη δράση άλλων.

Η **χυμική ανοσία** αναφέρεται στην παραγωγή αντισωμάτων και στις διεργασίες που τη συνοδεύουν όπως η Th2 ενεργοποίηση, η παραγωγή κυτταροκινών και οι λειτουργίες των αντισωμάτων (σχήμα 5). Στη CHC ειδικά αντισώματα ανιχνεύονται 7-31 εβδομάδες μετά την αρχική μόλυνση.⁹³ Η παρουσία τους όμως δεν έχει αποδειχθεί ότι επηρεάζει την πορεία της, σε αντίθεση με τη χρόνια ηπατίτιδα Β που έχει διαλευκανθεί ο ρόλος τους.⁹⁴ Άλλωστε η κάθαρση από τον HCV φαίνεται ότι επιτυγχάνεται και σε ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς (π.χ. υπογαμμασφαιριναιμία) που δε διαθέτουν χυμική ανοσιακή απόκριση.⁹⁵

Εντούτοις είναι σαφές ότι μόλις εγκατασταθεί η λοίμωξη τα αντισώματα αυξάνουν και παρουσιάζουν διασταυρούμενη αντίδραση κατά διαφόρων γονοτύπων του HCV.⁹⁶ Αν και δεν πετυχαίνουν κάθαρση σε αυτό το στάδιο, συνεχίζουν να ασκούν επιλεκτικά πίεση σε ιικές παραλλαγές και έτσι συμβάλουν στην εξέλιξη των αλληλουχιών του HCV κατά την διάρκεια της λοίμωξης.⁹⁷ Η συγκέντρωση αντισωμάτων IgG και η συχνότητα των B λεμφοκυττάρων που εκκρίνουν IgG επίσης αυξάνουν στη CHC. Παρά την αύξηση όμως τα περισσότερα IgG δεν είναι ειδικά. Έτσι προτάθηκε ότι ο HCV ρυθμίζει τα B κύτταρα με έναν τρόπο ανεξάρτητο του

υποδοχέα των Β κυττάρων. Αυτό συνάδει με την *in vitro* επίδειξη του ότι τα CD27+ Β λεμφοκύτταρα ασθενών με HCV εμφανίζουν ενισχυμένη μετατροπή σε κύτταρα που εκκρίνουν IgG, παράλληλα με τη μείωση του πολλαπλασιασμού και τη ταχεία απόπτωση τους.⁹⁸ Η μονο και η πολυκλωνική επέκταση των Β κυττάρων έχει επίσης παρατηρηθεί και, όπως αναλύεται παρακάτω, μπορεί να εξελιχθεί σε μικτή κρυοσφαιριναιμία (ΜΚ) τύπου ΙΙ ή ακόμη και σε Β κυτταρικές κακοήθειες, όπως το non-Hodgkin λέμφωμα (nHL).⁹⁹

2.2. ΣΤΗ ΜΙΚΤΗ ΚΡΥΟΣΦΑΙΡΙΝΑΙΜΙΑ

Η MC θεωρείται καλοήθης Β κυτταρική λεμφοϋπερπλαστική νόσος επειδή η υποκείμενη διαταραχή της είναι η ανάπτυξη των Β κυττάρων που παράγουν RF.¹⁰⁰ Υπάρχουν αρκετά στοιχεία που υποδεικνύουν ότι η χρόνια ρύθμιση των Β κυττάρων από ιογενείς επιτόπους μπορεί να παίζει σημαντικό ρόλο. Επιπλέον πολλοί μελετητές υποστηρίζουν ότι η παθογένεση βασίζεται στην αναστολή της απόπτωσης των Β κυττάρων, που οδηγεί σε προοδευτική συσσώρευση τους. Αυτό συνάδει με τα ιστοπαθολογικά χαρακτηριστικά της λεμφοκυτταρικής εναπόθεσης στο ήπαρ και το μυελό των οστών, όπως επίσης και από τον υψηλό επιπολασμό της αναδιάταξης bcl-2 σε ασθενείς με MC. Άλλωστε η εξάλειψη των Β κυττάρων αποτελεί μια ορθολογιστική θεραπευτική λύση. Λόγω αυτού επιχειρείται και η χορήγηση της ριτουξιμάμπης, ενός χημειοκινικού αντισώματος anti-CD20, είτε μόνη της είτε σε συνδυασμό με αντιιική αγωγή.¹⁰¹¹⁰² Σε πρόσφατη μελέτη με αντιιική θεραπεία με DAAs φάνηκε ότι παρά την επίτευξη SVR οι κρυοσφαιρίνες παρέμειναν θετικές στο 55% των ασθενών με κρυοσφαιριναιμία.¹⁰³

Οι χημειοκίνες μπορούν να οδηγήσουν στη δημιουργία μικροπεριβάλλοντος επαρκούς για την ενεργοποίηση και την ανάπτυξη των Β λεμφοκυττάρων. Η χημειοκίνη CXCL13 (μοτίβο CXC και ligand 13), γνωστή και ως BCA-1 (B cell-attracting chemokine-1), αποτελεί κύριο ρυθμιστή των Β κυττάρων. Τα υψηλά επίπεδά της στον ορό ασθενών με κρυοσφαιριναιμία παραλληλίστηκαν με αυτά της ειδικής mRNA έκφρασης στο ήπαρ και στο δέρμα, προτείνοντας ότι αποτελεί βασικό παράγοντα στην παθογένεση της βλάβης που προκαλούνται από τις κρυοσφαιρίνες.¹⁰⁴ Επιπλέον τα επίπεδα του **ενεργοποιητικού παράγοντα των Β-λεμφοκυττάρων (B-cell activating factor, BAFF)**, όπως θα περιγραφεί παρακάτω, σχετίζονται με τον πολλαπλασιασμό των Β κυττάρων.

Σε αρκετές μελέτες φάνηκε η αύξηση της IFN-γ και των χημειοκινών που επάγει η IFN-γ, κυρίως της CXCL10, στα ηπατοκύτταρα και τα λεμφοκύτταρα ασθενών με HCV, καθώς και άμεσης σχέσης του βαθμού της ηπατικής φλεγμονής με τα αυξημένα στην κυκλοφορία επίπεδα

των IFN-γ και CXCL10.¹⁰⁵ Επίσης, πολλές είναι οι μελέτες που έχουν δείξει την ισχυρή σχέση μεταξύ της IFN-γ και της χημειοκίνης CXCL11, υποστηρίζοντας το ρόλο της Th1 ανοσιακής απόκρισης στην παθογένεση της κρυοσφαιριναιμίας σε ασθενείς που πάσχουν από τον HCV.¹⁰⁶ Οι προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες IL-1b, IL-6 και TNF-α έχουν επίσης αξιολογηθεί σε ασθενείς με CHC και MC, και βρέθηκε υψηλότερη μέση τιμή των κυτταροκινών αυτών όταν συγκρίθηκαν με άτομα που δεν είχαν MC.

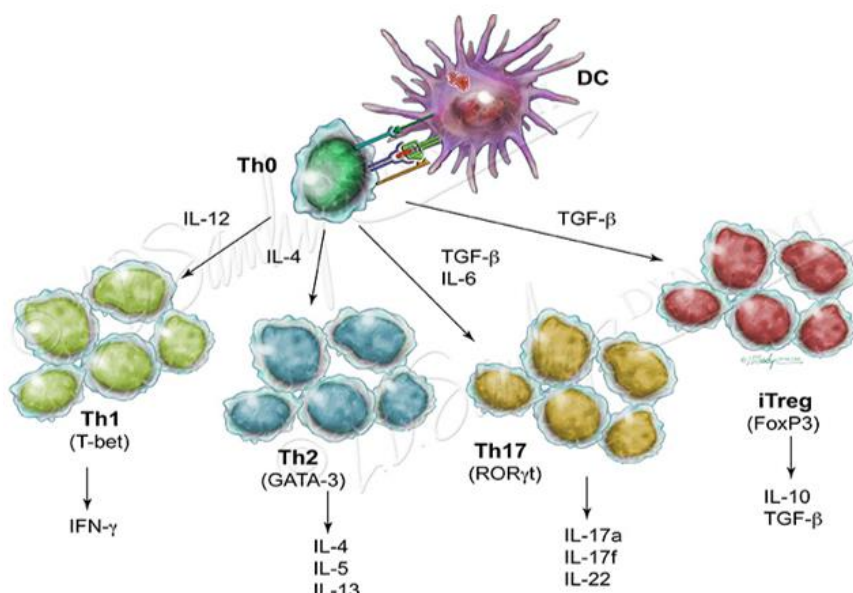
Τα παραπάνω δεδομένα υπογραμμίζουν τη σημασία της ενεργοποίησης της κυτταρικής ανοσίας (ειδικά της Th1) στην ανοσοπαθογένεση της MC σε ασθενείς με HCV λοίμωξη. Επιπλέον δείχνουν μια σύνθετη δυσλειτουργία του δικτύου κυτταροκίνης/χημειοκίνης, που περιλαμβάνει και τις προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες.

3. ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΕΣ

3.1. Η ΙΝΤΕΡΛΕΥΚΙΝΗ 17Α

Από την ανακάλυψη της το 1993,¹⁰⁷ η προφλεγμονώδης κυτταροκίνη ιντερλευκίνη 17 (IL-17A) αποτελεί διεθνώς αντικείμενο έρευνας. Ο όρος προφλεγμονώδης είναι μετάφραση από το λατινικό *proinflammatory*, όπου το *pro-* σημαίνει *promote* (προάγω) ή *proliferative* (πολλαπλασιασμός, συσσώρευση) και δε δίνει την έννοια αυτού που προηγείται (προ), όπως μπορεί να θεωρηθεί εσφαλμένα μεταφράζοντας στα ελληνικά, αλλά αυτού που προάγει τη φλεγμονή.

Ενώ για πολλά χρόνια θεωρήθηκε ότι στα πλαίσια της κυτταρικής ανοσίας τα CD4⁺ T βοηθητικά κύτταρα διαχωρίζονταν σε τρεις σειρές, τις TH1, TH2 και Treg (σχήμα 8), πρόσφατες αναλύσεις αποκάλυψαν την ύπαρξη ενός νέου υποσυνόλου στον πληθυσμό των T κυττάρων.¹⁰⁸



Σχήμα 8: Η διαφοροποίηση των T κυττάρων

Τα **Th17 κύτταρα** αποτελούν ένα νέο πληθυσμό που χαρακτηρίζεται από την ικανότητα να εκκρίνει τις κυτταροκίνες της οικογένειας της IL-17, που είναι οι **IL-17A**, IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17E, IL-17F, καθώς και οι IL-21, IL-22, IL-25, IL-26, TNFα, GM-CSF και του παράγοντα μεταγραφής RORC2 (RORγt σε ποντικούς).¹⁰⁹ Όλα τα μέλη έχουν παρόμοια δομή πρωτεϊνών. Οι πρωτεϊνικές αλληλουχίες τους περιέχουν τέσσερα εξαιρετικά διατηρημένα τμήματα κυστεΐνης. Η IL-17 (A) είναι μία πρωτεΐνη 155 αμινοξέων με μοριακή μάζα 35 kDa.¹¹⁰ Μεταξύ των μελών της οικογένειας της IL-17, οι ισόμορφες της IL-17F 1 και 2 (ML-1) έχουν την υψηλότερη ομολογία αλληλουχίας με την IL-17A (55 και 40%, αντίστοιχα). Ακολουθούνται από την IL-17B, η οποία έχει 29% ομοιότητα με IL-17A, η IL-17D (25%), η IL-17C (23%) και η IL-17E (17%).

Η διαφοροποίηση τους ρυθμίζεται από έναν παράγοντα μεταγραφής, τον RORγt, ο οποίος κατευθύνει προς ένα συγκεκριμένο κληρονομικό προφίλ κυτταροκινών. Η έλλειψη του RORγt έχει ως αποτέλεσμα τη μειωμένη δραστηριότητα των Th17 κυττάρων και τη σοβαρή μείωση των επιπέδων της IL-17.¹¹¹ Έχει αποδειχθεί επίσης ότι τα Th17 κύτταρα καταστέλλονται από τον TGFβ, ο οποίος μαζί με τις IL-23 και IL-6 ρυθμίζουν τη διαφοροποίηση των Th17 κυττάρων με επακόλουθη παραγωγή της IL-17.¹¹² Τέλος, η IL-21 φαίνεται ότι ενισχύει την δράση των Th17 κυττάρων.¹¹³

Η IL-17 έχει πέντε υποδοχείς, τον IL-17RA, τον IL-17RB, τον IL-17RC, τον IL-17RD και τον IL-17RE. Η πανταχού παρουσία των υποδοχέων της σημαίνει ότι έχει τη δυνατότητα να ενεργεί σε ένα ευρύ φάσμα κυτταρικών στόχων. Είναι γνωστό ότι και άλλα κύτταρα της ανοσιακής απόκρισης μπορούν να εκφράσουν την IL-17, εκτός από τα CD4+ κύτταρα. Έτσι, οι IL-17 και IL-17F εκκρίνονται εκτός από τα ενεργοποιημένα CD4+ και από τα CD8+ T λεμφοκύτταρα, τα CD3+CD4-CD8- T κύτταρα, τα γδ T κύτταρα και τα πολυμορφοπύρρηνα. Πρωταρχικός λειτουργούν ως προφλεγμονώδεις ρυθμιστές, επάγοντας την τοπική παραγωγή της IL-6, της

προσταγκλανδίνης E2 και του NO, και κυρίως “επανδρώνοντας” με μονοκύτταρα και ουδετερόφιλα την περιοχή της φλεγμονής.¹¹⁴

Σε πολλές αυτοάνοσες παθήσεις, τα Th17 κύτταρα θεωρήθηκαν ότι αποτελούν σημαντικούς παράγοντες της παθογένειας της νόσου. Για παράδειγμα στη ρευματοειδή αρθρίτιδα (ΡΑ) και στο συστηματικό ερυθηματώδη λύκος (ΣΕΛ) τα επίπεδα των Th17 κυττάρων βρέθηκαν σημαντικά αυξημένα στο περιφερικό αίμα και το αρθρικό υγρό των ασθενών και σχετίστηκαν με τη δραστηριότητα της νόσου.¹¹⁵ Άλλες μελέτες επίσης περιγράφουν την IL-17 ως ισχυρό ρυθμιστή τόσο της αυτοάνοσης παθογένεσης, της ίνωσης όσο και διαφόρων φλεγμονωδών νοσημάτων.^{116 117} Ο σημαντικός ρόλος των Th17 κυττάρων έχει περιγραφεί και σε πολλά νοσήματα του ήπατος, όπως σε περιπτώσεις οξείας ηπατικής βλάβης,¹¹⁸ σε αλκοολική ηπατοπάθεια,¹¹⁹ σε χρόνια ηπατίτιδα Β και C,^{120 121} σε αυτοάνοση ηπατίτιδα¹²² και σε ΗΚΚ,¹²⁰ συμβάλλοντας έτσι στην καταστροφή του ήπατος και στην εξέλιξη της νόσου.^{123 124}

Σχετικά με την λοίμωξη από HCV, οι Jimenez-Sousa et al. στη μελέτη τους το 2010 παρατηρήσαν ότι η αύξηση της IL-17 αντικατοπτρίζει την κινητοποίηση και τον πολλαπλασιασμό των Τ λεμφοκυττάρων ως απάντηση στη λοίμωξη από HCV και έτσι συγκροτείται αντιική απάντηση.¹²⁵ Το 2011 οι Zhao et al επιβεβαίωσαν τα ευρήματα αυτά και εξήγησαν ότι η αυξημένη ηπατική έκφραση της IL-17 και άλλων κυτταροκινών σχετίζονται με αυξημένη φλεγμονή και ίνωση.¹²² Την ίδια χρονιά οι Fathy et al. έδειξαν ότι τα επίπεδα της IL-17 αυξήθηκαν σημαντικά σε HCV ασθενείς με ή χωρίς κίρρωση.⁹² Το 2012 περιγράφηκε για πρώτη φορά ότι τα Th17 κύτταρα σχετίζονται σημαντικά με τη βαρύτητα της ηπατικής βλάβης σε ασθενείς με HCV λοίμωξη,¹²¹ ενώ σε άλλη μελέτη τα υψηλά επίπεδα της IL-17F σχετίστηκαν με τις αυξημένες τιμές AST.¹²⁶

Οι κυτταροκίνες των Th17 κυττάρων μελετήθηκαν και κατά την διάρκεια αντιικής θεραπείας ασθενών με CHC. Σε πρόσφατη μελέτη τα επίπεδα της IL-17A βρέθηκαν αυξημένα στον ορό ασθενών με HCV, αλλά οι τιμές δε σχετίστηκαν με το ιικό φορτίο 12 εβδομάδες μετά την

χορήγηση pegIFN/RBV.⁶¹ Σε αντίθεση σε μια άλλη μελέτη τα επίπεδα των κυτταροκινών Th17 μειώθηκαν μετά από 12 εβδομάδες θεραπείας, ενισχύοντας την άποψη ότι η ανοσορρυθμιστική επίδραση των Th17 κυττάρων δε συνοδεύεται απαραίτητως από έλεγχο του ιικού φορτίου.¹²⁶ Οι Hassan et al το 2014 έδειξαν επίσης ότι τα επίπεδα της IL-17A σχετίζονται με τη βαρύτητα της νόσου καθώς και τη χρονιότητα (σημαντικά αυξημένα επίπεδα IL-17A σε ηπατική ίνωση και ΗΚΚ).¹²⁷ Γενικά βιβλιογραφικά οι μεταβολές των κυτταροκινών από τα Th17 κύτταρα παρουσιάζουν ποικίλες μεταβολές με την επίδραση αντιιικών θεραπειών.¹²⁸ Σε μια πιο πρόσφατη μελέτη το 2017 τα επίπεδα της IL-17A βρέθηκαν αυξημένα στους κίρρωτικούς ασθενείς που είχαν θετικά αντινισιδιακά αντισώματα (ICA) έναντι αυτών με αρνητικά, καθώς και στους ασθενείς με ΣΔ τύπου II έναντι των μη διαβητικών ασθενών.¹²⁹ Στη μοναδική επί του παρόντος μελέτη των επιπέδων της IL-17A κατά τη θεραπεία με DAAs φάνηκε ότι μειώνονται τα επίπεδα της IL-17A σε σημαντικό βαθμό 12 εβδομάδες μετά το τέλος της θεραπείας.¹³⁰ Αν και σε αρκετές περιπτώσεις που μελετήθηκε η IL-17A στην CHC τα συμπεράσματα είναι αντιφατικά, φαίνεται ότι μπορεί να αποτελέσει ένα σημαντικό βιολογικό δείκτη της ανοσοπαθογένεσης της CHC, της ηπατικής ίνωσης και πιθανώς του ΗΚΚ. Έτσι, ο αποκλεισμός της έκφρασης της IL-17, με βιολογικούς παράγοντες, μπορεί εν συνεχεία να αποτελέσει πιθανό στόχο για τον έλεγχο της φλεγμονώδους απόκρισης στη χρόνια ηπατίτιδα και την ίνωση του ήπατος, καθώς και για την ανάπτυξη κίρρωσης και ΗΚΚ.

Επί του παρόντος βιβλιογραφικά η IL-17A περιγράφεται ελάχιστα σε ασθενείς με λοίμωξη από HCV, που πάσχουν από την πιο συχνή εξωηπατική εκδήλωση της νόσου τη MC. Εξαίρεση αποτελεί ίσως το 2015 η μελέτη του Kong που έδειξε συσχέτιση της IL-17A με τη λοίμωξη από HCV, αλλά δεν απέδειξε συσχέτιση στους ασθενείς με ασυμπτωματική MC.¹³¹ ασθενείς με CHC και MC αποτελούν μια «δύσκολη» θεραπευτικά ομάδα ασθενών. Πληροφορίες από μελέτες που διερευνούν την IL-17 στην MC πιθανώς να βοηθήσουν θεραπευτικά ακόμη και στην εποχή των DAAs.

3.2. Ο ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΤΙΚΟΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ ΤΩΝ Β ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΝ

Για την ομαλή ανάπτυξη των Β κυττάρων απαιτείται η παρουσία του ενεργοποιητικού παράγοντα των Β-λεμφοκυττάρων (*B-cell activating factor*, BAFF), γνωστού και ως διεγέρτη των Β-λεμφοκυττάρων (*B-lymphocyte stimulator*, BLyS) ή TALL-1 (*Apo-L related leucocyte expressed ligand-1*), ο οποίος ανήκει στην οικογένεια των κυτταροκινών TNF (TNFSF13B).¹³²

Ο ανθρώπινος BAFF είναι μια πρωτεΐνη 285 αμινοξέων που κωδικοποιείται στο χρωμόσωμα 13q32-34 και παράγεται κυρίως από μυελοειδή, αλλά και από μη λεμφοειδή κύτταρα. Φαίνεται ότι ο BAFF αρχικά εκφράζεται στα μακροφάγα και τα DC και εξελικτικά διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο στην ωρίμανση και στην επιβίωση των Β λεμφοκυττάρων.¹³³ Η παραγωγή του ρυθμίζεται από την IFN-γ και την IL-10 κατά τη διάρκεια καταστάσεων φλεγμονής ή/και χρόνιων λοιμώξεων.¹³⁴

Πολλές μελέτες ανέδειξαν ότι η υπερέκφραση του BAFF σχετίζεται με αυτοάνοσες παθήσεις, όπως το σύνδρομο Sjogren και ο ΣΕΛ. Το γεγονός αυτό οδήγησε στη δημιουργία ενός μονοκλωνικού αντισώματος που αναγνωρίζει και αναστέλλει τον BAFF και το οποίο βρίσκεται ήδη σε κλινικές δοκιμές που περιλαμβάνουν ασθενείς με αυτοάνοσες παθήσεις.

Ως ανοσορρυθμιστικό, ο BAFF διαδραματίζει ρόλο στη διατήρηση της φυσιολογικής ανοσίας. Σε περίπτωση ανεπάρκειας του, τα Β κύτταρα δεν παράγουν ικανή ποσότητα ανοσοσφαιρίνης με αποτέλεσμα την ανοσοανεπάρκεια. Από τη άλλη, τα αυξημένα επίπεδα του BAFF προκαλούν υπερβολικά υψηλή παραγωγή αντισωμάτων, που οδηγεί σε παθήσεις όπως ο ΣΕΛ, η ΡΑ και άλλα αυτοάνοσα νοσήματα.¹³⁵ Η υπερέκφραση του BAFF συσχετίζεται επίσης με αυξημένη χυμική ανοσία, όπως φάνηκε σε μελέτες κατά της λοίμωξης από ελονοσία.¹³⁶

Στην περίπτωση της CHC, περιγράφηκε σημαντική αύξηση των επιπέδων του BAFF και ιδιαίτερα στις περιπτώσεις που συνοδεύεται από εξωηπατικές εκδηλώσεις (αρθραλγίες, αγγειίτιδα, επίπεδα κρυοσφαιρινών και αντικαρδιολιπινικών αντισωμάτων).^{137 138} Επιπλέον, σε ασθενείς με αυτοάνοση ηπατίτιδα βρέθηκαν υψηλότερα επίπεδα του BAFF σε σύγκριση με

ασθενείς που έπασχαν από οξεία ηπατίτιδα ή CHC.^{132 139} Τα αυξημένα επίπεδα σε HCV λοίμωξη θεωρείται ότι ρυθμίζουν την ευαισθησία των B κυττάρων για απόπτωση, παρατείνοντας την επιβίωση και αντιπροσωπεύοντας έτσι έναν επιπλέον πιθανό παράγοντα στην κλωνική επέκταση των B κυττάρων.

Σημαντική βρέθηκε η σχέση του BAFF με την ηπατική ίνωση, αν και τα επίπεδα του BAFF δε σχετίστηκαν με το ιικό φορτίο, με το γονότυπο ή με το βαθμό της ιστολογικής φλεγμονής.¹³³ Επίσης, παρατηρήθηκε αύξηση του BAFF κατά τη θεραπεία με pegIFN/RBV. Η επίδραση αυτή ήταν ανεξάρτητη από την επιτυχή κατάληξη της θεραπείας με κάθαρση του ιού.¹³² Φαίνεται επίσης ότι η pegIFN-α παρά η RBV μπορεί να οδηγήσει σε αύξηση του BAFF.¹⁴⁰ Τέλος, χαρακτηριστική είναι η παρατήρηση ότι ασθενείς με HCV με MC ή και NHL είχαν διπλάσιες και τριπλάσιες τιμές αντίστοιχα, σε σχέση με ασθενείς χωρίς MC ή NHL.¹⁴¹

3.3. ΗΠΑΤΙΚΗ ΒΛΑΒΗ

Στο ήπαρ ανευρίσκεται ένας ασυνήθιστος πληθυσμός από λεμφοκύτταρα, όπου τα CD8+ υπερσχύουν σε αριθμό των CD4+ λεμφοκυττάρων, ενώ τα NK και τα NKT κύτταρα ανευρίσκονται σε μεγαλύτερη αναλογία απ' ό,τι σε άλλα λεμφοειδή όργανα. Με την αναγνώριση του αντιγόνου ενεργοποιούνται τα T-λεμφοκύτταρα και διαφοροποιούνται σε CD4+ και CD8+ κύτταρα, τα οποία πλέον αναγνωρίζουν τα μολυσμένα ηπατοκύτταρα και με την παράγωγή κυτταροκινών συμβάλουν στη λύση των ηπατοκυττάρων.

Όταν το ανοσιακό σύστημα αποτύχει να ελέγξει την αντιγραφή του ιού, τα μολυσμένα ηπατοκύτταρα εκκρίνουν IFN-γ, η οποία επάγει χημειοκίνες όπως οι CXCL9, CXCL10 και CXCL11. Τα μόρια αυτά συμβάλλουν στη μετανάστευση μη ειδικών μονοπύρηνων κυττάρων στο ήπαρ, τα οποία αδυνατούν να ελέγξουν την λοίμωξη με αποτέλεσμα τη βλάβη του ήπατος.¹⁴² Η αναστολή των χημειοκινών αυτών περιορίζει τη μετανάστευση, οπότε μειώνεται η φλεγμονή στο ήπαρ.¹⁴³ Τελικά, εξαιτίας της χρόνιας φλεγμονής δημιουργούνται μηχανισμοί

αναγέννησης του ηπατικού παρεγχύματος. Πολλοί παράγοντες διευκολύνουν τη διαδικασία της αναγέννησης, μεταξύ των οποίων οι κυτταροκίνες IL-6, TNF- α , TGF- β και EGF. Επιπλέον ενεργοποιούνται και άλλοι παράγοντες μεταγραφής όπως ο πυρηνικός παράγων κB.

Οι IFNs τύπου I προάγουν επίσης την παραγωγή χημειοκινών από τα κύτταρα Kupffer και κυτταροκινών από τα NK κύτταρα (IL-12, IL-18, IFN- γ), τα οποία επιτείνουν την ενεργοποίηση των CD4⁺ κυττάρων. Τα ενεργοποιημένα T κύτταρα παράγουν επίσης τις IL-10 και IL-4, που ενισχύουν την αντιφλεγμονώδη δράση. Η παρατεταμένη φλεγμονή ενεργοποιεί περαιτέρω τα ηπατικά αστεροειδή κύτταρα και τους ινοβλάστες, που ευνοούν την ηπατική ίνωση. Η ενεργοποίηση αυτών των κυττάρων ρυθμίζεται από προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες, όπως οι TGF- β , IL-6, TNF- α , PDGF και τη χημειοκίνη CCL21 (μοτίβο CC και Ligand 21).¹⁴⁴

4. Η ΒΙΤΑΜΙΝΗ D

4.1. ΣΤΗ ΧΡΟΝΙΑ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ C

Η βιταμίνη D (vitD) θεωρείται μία από τις παλαιότερες ουσίες που υπάρχουν στη γη και αποτελεί τη βασική ορμόνη που ρυθμίζει την ομοιοστασία του ασβεστίου. Το ήπαρ διαδραματίζει κεντρικό ρόλο στο μεταβολισμό της.¹⁴⁵

Η ενδογενής vitD (που προέρχεται από την έκθεση του δέρματος στην υπεριώδη ακτινοβολία B) ή η από του στόματος vitD μετατρέπονται σε 25-υδροξυβιταμίνη D [25(OH)D] από τις υδροξυλάσες της μικροσωματικής vitD του ήπατος. Στη συνέχεια η πλειονότητα της 25(OH)D μετατρέπεται στην ενεργό της μορφή, την καλσιτριόλη, 1,25 διυδροξυβιταμίνη D [1,25 (OH) 2D], στα νεφρά και σε μικρότερο βαθμό σε διάφορους άλλους ιστούς, συμπεριλαμβανομένων του ήπατος, του λιπώδους ιστού, των μακροφάγων και των δενδριτικών κύτταρα.¹⁴⁶ Λόγω της σχετικά μεγάλης ημίσειας ζωής (2-3 εβδομάδες), τα επίπεδα της 25(OH)D αποτελούν το καλύτερο μέτρο αποθήκευσης. Ωστόσο, δεν υπάρχει σαφής οδηγία για το ποιο θεωρείται το βέλτιστο επίπεδο της vitD. Επί του παρόντος, οι κατευθυντήριες γραμμές της ενδοκρινολογικής εταιρείας ορίζουν τα επίπεδα ορού **<30 ng/mL ως ανεπάρκεια** και τα επίπεδα **<20 ng/mL ως έλλειψη**.¹⁴⁷

Τις τελευταίες 3 δεκαετίες κατέστη σαφές ότι ο ρόλος της vitD υπερβαίνει τη ρύθμιση της ομοιοστασίας του ασβεστίου και της υγείας των οστών. Η vitD αποτελεί κρίσιμο ρυθμιστή της ανοσίας, επηρεάζοντας τη φυσική και την επίκτητη ανοσιακή απόκριση, και έτσι εμπλέκεται στη ρύθμιση της φλεγμονώδους ανταπόκρισης και της ινογένεσης.¹⁴⁸ Έχει φανεί ότι η vitD **καταστέλλει τις προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες** (την παραγωγή κυτταροκινών Th1 ανοσιακής απόκρισης, όπως IFN-γ και IL-2) **και αυξάνει τις αντιφλεγμονώδεις κυτταροκίνες** (παραγωγή των κυτταροκινών Th2, όπως η IL-4 και IL-5). Επίσης, επιδρά στη φυσική ανοσία με την άμεση επαγωγή του γονιδίου που εκφράζει τα αντιμικροβιακά πεπτιδία (καθελιδίνη και β-αμυντοσίνη 2) σε διάφορους τύπους ανθρώπινων κυττάρων.¹⁴⁹

Τα κύτταρα που συμμετέχουν στη φυσική και την επίκτητη ανοσιακή απόκριση, όπως τα μακροφάγα, τα δενδριτικά, τα Τ κύτταρα και τα Β κύτταρα, εκφράζουν τον **υποδοχέα της vitD** (VDR).¹⁵⁰ Επιπλέον, εκφράζεται ευρέως στο ήπαρ και στα φλεγμονώδη κύτταρα ασθενών με χρόνια ηπατική νόσο και η έκφρασή του συνδέεται αρνητικά με τη σοβαρότητα της ηπατικής ιστολογίας στους ασθενείς με CHC, αλλά και με NASH.¹⁵¹

Η έλλειψη της vitD είναι πολύ συχνή στους ασθενείς με χρόνια ηπατική νόσο και τουλάχιστον **το 1/3 αυτών πάσχουν από ανεπάρκεια** (<30 ng/mL).¹⁵² Οι αιτίες αυτής της ανεπάρκειας δεν έχουν ακόμη καθοριστεί. Στη CHC η ανεπάρκεια παρατηρείται συχνά, ακόμη και σε απουσία προχωρημένης ηπατικής ίνωσης.¹⁵³ Η ίδια η ανεπάρκεια της vitD φαίνεται να αποτελεί παράγοντα κινδύνου για ίνωση και για αποτυχία της θεραπείας.¹⁵⁴ Η vitD μειώνει την έκφραση του κολλαγόνου και τους προ-ινωτικούς παράγοντες και έτσι οδηγεί σε μειωμένη ίνωση.¹⁵⁵ Σε μια πρόσφατη μετανάλυση, τα χαμηλά επίπεδα vitD συσχετίστηκαν με σημαντικές πιθανότητες προχωρημένης ίνωσης. Έχει περιγράψει σαφώς ότι η εξέλιξη της ηπατικής ίνωσης σχετίζεται σημαντικά και είναι ανεξάρτητος παράγοντας με τα χαμηλά επίπεδα της vitD στο πλάσμα. Γι' αυτό και έχει προταθεί η χορήγηση της vitD στους ασθενείς με ανεπάρκεια,^{156 157} αν και δεν έχει επιβεβαιωθεί ακόμη η αναγκαιότητα της και η αποτελεσματικότητα αυτής της πράξης.

Αυτό που αποκτά επιπλέον ενδιαφέρον αλλά παραμένει ασαφές είναι η επίδραση της αντιιικής θεραπείας στη vitD και η σχέση της με την ανταπόκριση στη θεραπεία.^{156 158} Μια μελέτη από τους Kitson et al αξιολόγησε 274 ασθενείς με γονότυπο 1 της ηπατίτιδας C που υποβλήθηκαν σε θεραπεία με pegIFN/RBV για 48 εβδομάδες και διαπίστωσε ότι τα άτομα που δεν πέτυχαν SVR είχαν χαμηλότερα επίπεδα vitD προ-θεραπείας (30,7 vs. 33,9 ng / mL, p=0,03) και μεγαλύτερη συχνότητα χαμηλών επιπέδων vitD<30 ng / mL (53% έναντι 40%, p=0,03). Ωστόσο, σε πολυπαραγοντική ανάλυση δεν βρέθηκε σημαντική συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων vitD και SVR.¹⁵⁹ Σε μια μετανάλυση παρακολούθησης, δεν υπήρξε σημαντική συσχέτιση ούτε μεταξύ των βασικών επιπέδων 25(OH)D και SVR σε ασθενείς που έλαβαν

θεραπεία με pegIFN/RBV.¹⁶⁰ Αντίθετα, μια μετανάλυση από τον Garcia-Alvarez διαπίστωσε ότι τα χαμηλά επίπεδα vitD συσχετίστηκαν με χαμηλότερες πιθανότητες επίτευξης SVR.¹⁵⁷

4.2. Η ΣΧΕΣΗ ΜΕ ΤΑ Τ ΚΥΤΤΑΡΑ ΚΑΙ ΤΗΝ INTERLEUKINΗ 17

Ιστορικά, θεωρήθηκε ότι τα DCs ήταν ο κύριος στόχος της vitD και ότι οι επιδράσεις που παρατηρήθηκαν στα Τ κύτταρα μεσολαβούσαν μέσω των DCs. Ωστόσο, είναι πλέον σαφές ότι διάφοροι πληθυσμοί Τ κυττάρων εκφράζουν τον VDR, περιλαμβανομένων των Th βοηθητικών κυττάρων CD4+, των κυτταροτοξικών CD8 + Τ κυττάρων και των κυττάρων TCRγδ.¹⁶¹ Αυτό κάνει το Τ κύτταρο άλλον έναν άμεσο ανοσολογικό στόχο της 1,25(OH)2D3. Οι επιδράσεις της 1,25(OH)2D3 επί των Τ κυττάρων περιλαμβάνουν τη διαμόρφωση της έκκρισης και διαφοροποίησης των κυτταροκινών, αλλά απαιτείται επίσης η VDR για την ενεργοποίηση του Τ κυττάρου.¹⁶²

Συνδυάζοντας το σημαντικό ρόλο των κυττάρων Th17 στους ανοσιακούς μηχανισμούς και την ευεργετική επίδραση της 1,25(OH)2D3 σε αυτοάνοσες παθήσεις, έγινε η υπόθεση ότι **η 1,25(OH)2D3 καταστέλλει τους ανοσιακούς μηχανισμούς μέσω της αναστολής της δραστηριότητας Th17**. Φαίνεται δε ότι η 1,25(OH)2D3 όχι μόνο αναστέλλει τη δραστηριότητα των Th17 κυττάρων αλλά και τη διαφοροποίησή της. Όταν in vitro τα naïve CD4+ Τ κύτταρα διαφοροποιούνται προς Th17 κύτταρα, η παρουσία 1,25(OH)2D3 αναστέλλει τις κυτταροκίνες που σχετίζονται με την Th17 και τους παράγοντες μεταγραφής όπως οι IL-17A, IL-17F, RORC και CCR6.^{163 164}

Αν και η ανασταλτική επίδραση στη δραστηριότητα της Th17 έχει καλά περιγραφεί, οι μηχανισμοί που εμπλέκονται είναι λιγότερο σαφείς. Οι Joshi et al. έδειξαν ότι η ρύθμιση της IL-17A μπορεί να μεσολαβεί μέσω της άμεσης σύνδεσης του VDR με την IL-17A.¹⁶⁵

Η επίδραση της vitD σχετικά με τα Th17 κύτταρα έχει ερευνηθεί σε διάφορες νόσους όπου φάνηκε ότι καταστέλλει την έκφραση της IL-17.^{166 167} Σε ποικίλα αυτοάνοσα και

αντιφλεγμονώδη νοσήματα, όπως η σκλήρυνση κατά πλάκας, ο ΣΔ τύπου 1 και οι φλεγμονώδεις νόσοι του εντέρου, **η vitD ασκεί προστατευτική δράση, μέσω των ανασταλτικών δράσεων στα Th17 κύτταρα.** Επίσης, έχει φανεί αυξημένη η έκφραση των VDR στα διαφοροποιημένα Th17 κύτταρα, και η θεραπεία με αγωνιστές των VDR αναστέλλουν την παραγωγή της IL-17.¹⁶⁸

Σε ασθενείς με CHC γονότυπου 4, η μελέτη του El Husseiny NM et al έδειξε σημαντική αρνητική συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων της IL-17 και της vitD.¹⁶⁹ In vitro, η vitD αυξάνει την έκφραση γονιδίων που διεγείρονται από την ιντερφερόνη (ISGs), και αυξάνουν τη φυσική και την επίκτητη ανοσιακή απόκριση έναντι του HCV.¹⁷⁰ Περαιτέρω in vitro μελέτες αναγνώρισαν ένα συνεργικό αποτέλεσμα της καλσιτριόλης ως συμπλήρωμα με την IFN-α για την καταστολή της αντιγραφής του ιού HCV σε κύτταρα Huh-7.5.¹⁷¹ Σε αντίθεση με τις παραπάνω αναφορές, μετανάλυση διαπίστωσε ότι τα χαμηλά επίπεδα vitD συσχετίστηκαν με χαμηλότερες πιθανότητες επίτευξης SVR.¹⁵⁶

Η γνώση μας γύρω από τη σχέση της vitD και της αντιιικής θεραπείας της CHC προς το παρόν περιορίζεται κατά βάση στα πλαίσια των θεραπειών με pegIFN/RBV. Επί του παρόντος, βιβλιογραφικά, υπάρχει μια μελέτη με DAAs όπου φάνηκε ότι δε μεταβάλλεται σημαντικά με τη θεραπεία και δεν υπάρχει συσχέτιση με το SVR.¹⁵⁴

4.3. Η ΣΧΕΣΗ ΜΕ ΤΑ Β ΚΥΤΤΑΡΑ ΚΑΙ ΤΟΝ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΤΙΚΟ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ ΤΩΝ Β ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΝ

Η vitD φαίνεται να εμπλέκεται στη ρύθμιση της φυσικής ανοσίας και πιθανώς να αναστέλλει τη διαφοροποίηση και την ωρίμανση των Β κυττάρων. Ωστόσο, μέχρι στιγμής, τα Β κύτταρα φαίνεται εν μέρει να “παραμελούνται”. Την τελευταία 20ετία το ενδιαφέρον είχε επικεντρωθεί κυρίως στην επίδραση της vitD στα δένδριτικά κύτταρα και στα Τ κύτταρα, ενώ τα τελευταία χρόνια φαίνεται να διερευνάται και η σχέσή της με τα Β κύτταρα σε διάφορα αυτοάνοσα νοσήματα. Η σχέση μεταξύ της vitD και του BAFF στη CHC δεν έχει διερευνηθεί.

Πριν τα Β κύτταρα γίνουν πλασματοκύτταρα που εκκρίνουν αντισώματα υψηλής συγγένειας, περνούν από διάφορα στάδια διαφοροποίησης. Διάφορες μελέτες αποδεικνύουν ότι η 1,25(OH)2D3 μειώνει τον πολλαπλασιασμό των Β κυττάρων, και επάγει την απόπτωσή τους.¹⁷² Από την άλλη, η 1,25(OH)2D3 όταν προστίθεται στα τελικά διαφοροποιούμενα Β κύτταρα διεγείρει την ανάπτυξη των πλασματοκυττάρων. Επιπλέον, επάγει τον υποδοχέα της χημειοκίνης CCR10 στα πλασματοκύτταρα, προωθώντας τη μετανάστευσή τους προς θέσεις φλεγμονής. Επομένως, φαίνεται ότι η επίδραση της 1,25(OH)2D3 εξαρτάται από την κατάσταση ενεργοποίησης και διαφοροποίησης των Β κυττάρων.¹⁷³

Ανεξάρτητα από την επίδραση του 1,25(OH)2D3 στη διαφοροποίηση των κυττάρων Β, υπάρχουν πολλές ενδείξεις ότι μειώνει την παραγωγή αντισωμάτων.¹⁷³ Επιπλέον της παραγωγής αντισωμάτων, τα Β κύτταρα εκκρίνουν κυτταροκίνες που επηρεάζουν το φλεγμονώδες περιβάλλον. Είναι ενδιαφέρον ότι ο VDR συνδέεται κατευθείαν προς την περιοχή της IL-10 στα Β κύτταρα, επάγοντας έτσι την έκφραση της IL-10.¹⁷⁴

Συνολικά, η επίδραση της 1,25(OH)2D3 στα Β κύτταρα εξακολουθεί να μην είναι απολύτως σαφής. Επί του παρόντος, υπάρχει η υπόθεση ότι η 1,25(OH)2D3 αναστέλλει την παθολογική λειτουργία των Β-λεμφοκυττάρων εμποδίζοντας τη διαφοροποίηση των πλασματοκυττάρων και συνεπώς την παραγωγή αυτοαντισωμάτων, διεγείροντας την παραγωγή IL-10 και

αναστέλλοντας τις δυνατότητες παρουσίασης αντιγόνου. Ωστόσο, ο περιορισμένος αριθμός μελετών δικαιολογεί περαιτέρω έρευνα για να υποστηρίξει αυτήν την υπόθεση και τον ρόλο αυτών των επιδράσεων της 1,25(OH)2D3.

Ο ρόλος του BAFF έχει περιγράψει σε ασθενείς με σύνδρομο Sjögren, όπου σε μια μελέτη το 2016 δε φάνηκε σημαντική συσχέτιση των επιπέδων της vitD με τον BAFF.¹⁷⁵ Τέλος σε ασθενείς με σκλήρυνση κατά πλάκας που δόθηκε συμπλήρωμα αποκατάστασης με vitD δε φάνηκε σημαντική διαφορά στα επίπεδα του BAFF. ¹⁷⁶

5. ΕΛΑΣΤΟΓΡΑΦΙΑ ΤΟΥ ΗΠΑΤΟΣ

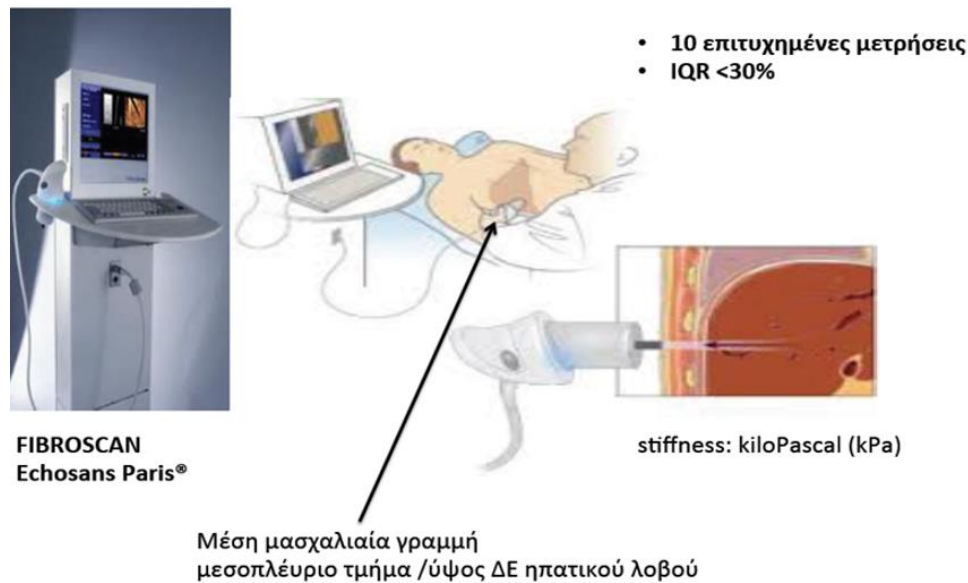
Η ελαστογραφία του ήπατος (Fibroscan® ή Transient Elastography, TE) αποτελεί μία μη επεμβατική μέθοδο εκτίμησης της ελαστικότητας του ήπατος. Η κύρια εφαρμογή της είναι για την ποσοτικοποίηση της ηπατικής ίνωσης.

Αν και η βιοψία του ήπατος αποτελεί τη μέθοδο εκλογής για την αξιολόγηση του βαθμού της ίνωσης του ήπατος, στη σύγχρονη αντιμετώπιση της CHC δεν απαιτείται η διενέργειά της. Η βιοψία έχει αρκετούς περιορισμούς με κυριότερο ότι αποτελεί επεμβατική μέθοδο με βασικό κίνδυνο την αιμορραγία, αλλά και οδηγώντας τους ασθενείς σε ψυχική και σωματική ταλαιπωρία.¹⁷⁷ Εξαιτίας αυτού πολύ ασθενείς αρνούνται τη διεξαγωγή της εξέτασης, αλλά και σε επίπεδο κλινικών μελετών είναι πολύ δύσκολη η επανεκτίμηση του ασθενούς με μια νέα βιοψία. Επιπλέον, λόγω του περιορισμένου μεγέθους των δειγμάτων της ηπατικής βιοψίας, η ακρίβεια και η επαναληψιμότητα της ιστολογικής ταξινόμησης έχει αμφισβητηθεί.¹⁷⁸

Η TE έχει αξιολογηθεί εκτενώς ως εναλλακτική της βιοψίας. Σε αντίθεση με τη βιοψία αποτελεί γρήγορη και ανώδυνη μέθοδο. Ως εκ τούτου, είναι εύκολη η επανάληψή της για την επανεκτίμηση των ασθενών. Επιπλέον, στην περίπτωση της TE, το τμήμα του ήπατος που μελετάται είναι τουλάχιστον 100 φορές μεγαλύτερο από το αντίστοιχο της βιοψίας ήπατος και ως εκ τούτου εκφράζει πιο αντιπροσωπευτικό δείγμα του ηπατικού παρεγχύματος.

Η μέθοδος λειτουργεί με ένα ανιχνευτή-μετατροπέα υπερήχων (3,5 MHz), που τοποθετείται στον άξονα μιας συσκευής παραγωγής δονήσεων ήπιας έντασης και χαμηλής συχνότητας (50 Hz). Οι δονήσεις μεταδίδονται στους ιστούς μέσω του αισθητήρα. Ο υπέρηχος επιτρέπει την παρακολούθηση της διάδοσης του κύματος δόνησης, του οποίου υπολογίζεται η ταχύτητα. Η ταχύτητα αυτή συνδέεται άμεσα με την ελαστικότητα των ιστών. Όσο πιο άκαμπτος είναι ο ιστός, τόσο γρηγορότερα μεταδίδεται το ελαστικό κύμα και τόσο μεγαλύτερη θεωρείται η ίνωση του ήπατος. Όσο πιο αργά μεταδίδεται το κύμα τόσο πιο υγιές είναι το ήπαρ.

Σχήμα 9: Η ελαστογραφία του ήπατος



Η αξιοπιστία των αποτελεσμάτων της TE ορίστηκε από 2 παραμέτρους: το διατεταρτημοριακό εύρος (IQR), που αντικατοπτρίζει την αξιοπιστία των έγκυρων μετρήσεων και το ποσοστό επιτυχίας που ορίζεται ως ο αριθμός επιτυχών μετρήσεων δια του συνόλου των προσπαθειών. Το ποσοστό επιτυχίας θα πρέπει να είναι $\geq 60\%$ και οι έγκυρες τιμές τουλάχιστον 10. Η εγκυρότητα των μετρήσεων περιορίζεται σε περιπτώσεις παχυσαρκίας (ποσότητα λίπους στο κοιλιακό τοίχωμα), στενών μεσοπλευρίων διαστημάτων καθώς και ασκίτη. Επίσης εκτός από την ηπατική ίνωση οι τιμές της TE μπορεί να επηρεαστούν σε περιπτώσεις ηπατικής φλεγμονής, χολόστασης ή ηπατικής στάσης από καρδιακή ανεπάρκεια.

Σε ασθενείς με CHC η TE μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως πρώτης γραμμής εξέταση για την εκτίμηση της ηπατικής ίνωσης και ως δείκτης ανταπόκρισης στην αντιιική θεραπεία και την πρόγνωση.¹⁷⁹ Πιο αξιόπιστη θεωρήθηκε η TE στην ανεύρεση ασθενών με ή χωρίς ελάχιστη ίνωση (στάδια κατά METAVIR F0 και F1) και σε αυτούς με σοβαρή ίνωση ή κίρρωση (METAVIR στάδια F3 and F4).¹⁸⁰

Ειδικό μέρος

1. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Οι κύριοι στόχοι της παρούσας μελέτης ήταν ο προσδιορισμός των επιπέδων των κυτταροκινών BAFF και IL-17A σε ασθενείς που πάσχουν από CHC με ή χωρίς MC, και η διερεύνηση της κινητικής τους κατά τη διάρκεια της αντιιικής θεραπείας με pegIFN/RBV και 6 μήνες μετά το τέλος αυτής. Επιπρόσθετα, θέλαμε να αξιολογήσουμε τη σχέση των κυτταροκινών με τα επίπεδα της vitD, το βαθμό της ηπατικής ίνωσης και την ανταπόκριση στην αντιιική θεραπεία. Παράλληλα, έγινε συσχέτιση των αποτελεσμάτων με δημογραφικά και εργαστηριακά στοιχεία των υπό μελέτη ασθενών.

2. ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 ΧΩΡΟΣ ΚΑΙ ΧΡΟΝΟΣ ΔΙΕΞΑΓΩΓΗΣ

Στην παρούσα προοπτική μελέτη συμμετείχαν ασθενείς με CHC που κρίθηκαν ικανοί να λάβουν αντιιική θεραπεία από έξι μήνες έως και ένα χρόνο, αναλόγως του γονότυπου τους. Η παρακολούθηση τους πραγματοποιήθηκε στα τακτικά εξωτερικά ιατρεία της Β΄ Πανεπιστημιακής Παθολογικής κλινικής στο Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών Ιπποκράτειο. Η ένταξη των πρώτων ασθενών ξεκίνησε το Μάρτιο του 2011 και η αντιιική θεραπεία των τελευταίων ασθενών που έλαβαν μέρος στη μελέτη ολοκληρώθηκε 3 χρόνια μετά τον Μάρτιο του 2014. Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν στο ομώνυμο εργαστήριο της κλινικής. Το πρωτόκολλο της μελέτης εγκρίθηκε από την Επιτροπή Δεοντολογίας του Γενικού Νοσοκομείου Αθηνών “Ιπποκράτειο” και το τμήμα διδακτορικών διατριβών της Ιατρικής Σχολής Αθηνών.

2.2 ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΕΝΤΑΞΗΣ ΚΑΙ ΑΠΟΚΛΕΙΣΜΟΥ

Στην μελέτη αρχικά συμπεριλήφθηκαν 46 άτομα που πληρούσαν τα κριτήρια ένταξης και αποκλεισμού. Τα κριτήρια ένταξης συμπεριλαμβανομένης της απόφασης χορήγησης αντιιικής θεραπείας με pegIFN/RBV ήταν:

- Η ηλικία (άνω των 18 ετών χωρίς ανώτατο όριο)
- Η χρόνια λοίμωξη από HCV (ανιχνεύσιμο HCV RNA στον ορό και έλεγχος γονοτύπου)
- Αποδεκτές αιματολογικές και βιοχημικές παράμετροι
- Αποδεκτό ψυχιατρικό προφίλ (όπου απαιτείται με έγκριση από ψυχίατρο)
- Επιθυμία και γραπτή συγκατάθεση των ασθενών να υποβληθούν σε θεραπεία και να λάβουν μέρος στη μελέτη
- Χωρίς αντενδείξεις στην θεραπεία

Τα κριτήρια αποκλεισμού ήταν:

- Μη αντιρροπούμενη κίρρωση

- Συλλοίμωξη με HBV ή HIV
- Τρέχοντες χρήστες ενδοφλεβίων ναρκωτικών
- Μεταμόσχευση ήπατος
- Υποκείμενη νεοπλασματική νόσος

2.3 ΟΜΑΔΕΣ ΕΛΕΓΧΟΥ

Από τους 46 ασθενείς (intention to treat population, ITT) που αρχικά πληρούσαν τα κριτήρια ένταξης και αποκλεισμού επιλέχθηκαν οι 34 ασθενείς (per protocol population, PP) για περαιτέρω διερεύνηση και μελέτη. Οι 12 αποκλείστηκαν λόγω ελλιπών στοιχείων, απουσία παρακολούθησης ή διακοπής της θεραπείας. Η ομάδα μαρτύρων αποτελούνταν από 12 υγιή άτομα που ταιριάζαμε με την ηλικία και το φύλο και αποτελούσαν την ομάδα των υγιών μαρτύρων (YM). Οι 34 ασθενείς με CHC χωρίστηκαν σε ομάδες με βάση:

- Την παρουσία ή μη κρυοσφαιριναιμίας στις αρχικές μετρήσεις (MC+ και MC-)
- Την ανταπόκριση στη θεραπεία (επίτευξη ή μη SVR)
- Την παρουσία ηπατικής ίνωσης βάσει της ελαστογραφίας
- Το γονότυπο (Ομάδα με γονότυπους 1 + 4 και με γονότυπους 2 + 3)
- Το βαθμό ιαιμίας - ιικό φορτίο χαμηλό ή υψηλό πριν την έναρξη θεραπείας (μετά την αξιολόγηση των δεδομένων μας χρησιμοποιήσαμε σαν όριο τις 400.000 iu/ml, παρόμοια με άλλες μελέτες που παρουσίασαν καλύτερη διάκριση μεταξύ υψηλής και χαμηλής πιθανότητας για επίτευξη SVR)¹⁸¹

2.4 ΚΑΤΑΓΡΑΦΗ ΚΑΙ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ ΑΣΘΕΝΩΝ

Κατά τη διαδικασία ένταξης ενός ασθενούς στη μελέτη πραγματοποιήθηκε έλεγχος για την καταλληλότητα με βάση τα κριτήρια ένταξης και αποκλεισμού, και έγινε καταγραφή των εργαστηριακών μετρήσεων και του δημογραφικού ιστορικού. Την εβδομάδα πριν από την

έναρξη της θεραπείας ελήφθησαν δείγματα αίματος (**baseline, BSL**). Ένα δείγμα χρησιμοποιήθηκε για την άμεση καταμέτρηση των κρυοσφαιρινών και ένα άλλο φυλάχθηκε στη βαθιά κατάψυξη στους -80°C για τις μετέπειτα καταμετρήσεις των κυτταροκινών και της vitD. Οι ασθενείς έλαβαν θεραπεία αναλόγως του γονότυπου που ανήκαν. Η ομάδα με γονότυπο 1 ή 4 έλαβε για 12 μήνες αντιική θεραπεία, ενώ η ομάδα με γονότυπο 2 και 3 έλαβε για 6 μήνες θεραπεία. Η παρακολούθηση των ασθενών γινόταν βάσει του πρωτοκόλλου τουλάχιστον ανά μήνα, με καταγραφή εργαστηριακών μετρήσεων, ελαστογραφίας και ανεπιθύμητων ενεργειών. Τρεις μήνες μετά την έναρξη της θεραπείας (3 months after baseline, **3Mo-BSL**), στο τέλος της θεραπείας (end of treatment, **EOT**) και 6 μήνες μετά το τέλος της θεραπείας (**6Mo-EOT**) πραγματοποιήθηκαν νέες λήψεις αίματος και αποθήκευσης των δειγμάτων αυτών στη βαθιά κατάψυξη μετά την ολοκλήρωση των άμεσα απαραίτητων εξετάσεων.

Στα περισσότερα των δειγμάτων με θετικές κρυοσφαιρίνες στο BSL, πραγματοποιήθηκε επανάληψη της μέτρησης μετά το τέλος της θεραπείας. Επιπλέον στις περισσότερες των περιπτώσεων ηπατικής ίνωσης στο BSL (σύμφωνα με την ελαστογραφίας) πραγματοποιήθηκαν επαναληπτικές μετρήσεις, όπου αυτό κατέστη δυνατόν (εξαιτίας μη αποζημίωσης της τιμής της εξέτασης από τα ασφαλιστικά ταμεία).

Οι παρακάτω παράμετροι καταγράφηκαν από κάθε ασθενή:

- HCV ιικό φορτίο, με ποσοτική πραγματικού χρόνου HCV αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (real-time HCV PCR) και κατώτερο όριο 13 IU/mL (Versant kPCR, Siemens, Tarrytown, NY, USA)
- Γονότυπος HCV (line probe assay, VERSANT HCV Genotype 2.0, Siemens, Tarrytown, NY, USA)
- Κρυοσφαιρίνες (περιγράφεται παρακάτω η μέθοδος)
- Δείκτες Ηπατικής ίνωσης (Fibroscan® - περιγράφεται παρακάτω)
- Πλήρης αιματολογικός έλεγχος και βιοχημικό προφίλ

- 25-OH vitD, με τη χρήση κιτ ανοσοδοκιμασίας (immunoassay kit)
- Υπερηχογράφημα κοιλίας (ήπατος - χοληφόρων – παγκρέατος -σπληνός)
- Χρόνοι προθρομβίνης (PT), χρόνος ενεργοποιημένης μερικής θρομβοπλαστίνης (aPTT), διεθνές κανονικοποιημένο πηλίκο (INR)
- Ιολογικός έλεγχος για ηπατίτιδα Α (HAV), HBV και HIV
- Έλεγχος θυρεοειδικής λειτουργίας και αντισώματα θυρεοειδικά – σε περιορισμένο αριθμό ασθενών
- Ινσουλίνη ορού - σε περιορισμένο αριθμό ασθενών
- Ρευματοειδής παράγοντας (RF), αντιπυρηνικά αντισώματα (ANA), αντιμιτοχονδριακά αντισώματα (AMA), αντισώματα κατά των λείων μυϊκών ινών (ASMA) - σε περιορισμένο αριθμό ασθενών
- Ανοσοσφαιρίνες IgA, IgM και IgG - σε περιορισμένο αριθμό ασθενών
- Ηλεκτροφόρηση πρωτεϊνών - σε περιορισμένο αριθμό ασθενών

2.5 ΚΑΘΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΚΡΥΟΣΦΑΙΡΙΝΑΙΜΙΑΣ

Δείγματα αίματος πάρθηκαν με φλεβοκέντηση υπό άσηπτες συνθήκες. Περίπου 20ml από φλεβικό αίμα, συλλέχθηκαν σε προ-θερμασμένα σωληνάρια χωρίς αντιπηκτικό και επωάστηκαν στους 37°C για πάνω από μία ώρα. Εν συνεχεία διαχωρίστηκε ο ορός από το πύγμα με φυγοκέντρηση στις 3000 στροφές (rpm) για 20 λεπτά και επωάστηκε στους 4°C για 7 ημέρες. Η παρουσία κρυοσφαιρίνης αρχικά εκτιμήθηκε με επισκόπηση του ιζήματος και μετά επιβεβαιώθηκε με τη διάλυση στους 37°C. Η συγκέντρωση της κρυοσφαιρίνης υπολογίστηκε μετά από φυγοκέντρηση ως κρυοκρίτης.

Σε κάθε ασθενή την εβδομάδα πριν από την έναρξη της αντιιικής αγωγής υπολογίστηκε ο κρυοκρίτης. Ως θετικός κρυοκρίτης ορίστηκε το >5% (**ομάδα MC**) και ως αρνητικό το <5%

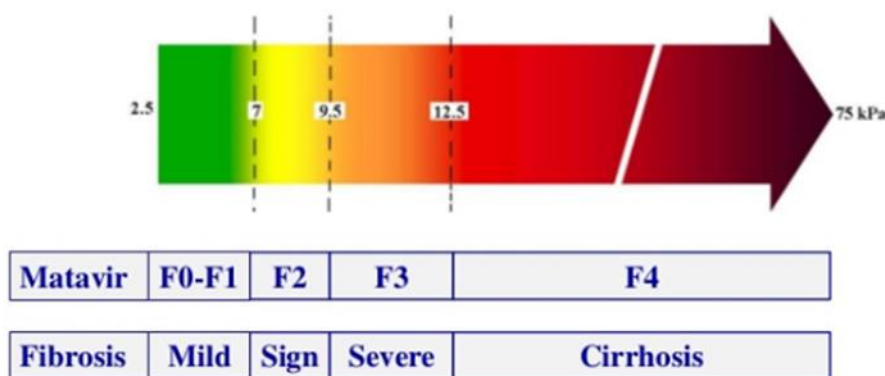
(ομάδα non MC). Στους ασθενείς που βρέθηκε θετικός ο κρυοκρίτης πραγματοποιήθηκε επανάληψη και μετά το τέλος της θεραπείας.

2.6 ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΚΗΣ ΙΝΩΣΗΣ

Η εκτίμηση της ηπατικής ίνωσης πραγματοποιήθηκε με την τεχνική της παροδικής ελαστογραφίας του ήπατος (Fibroscan® or Transient Elastography, TE), που περιγράφηκε στο γενικό μέρος του συγγράμματος. Η εξέταση πραγματοποιήθηκε από έμπειρο προσωπικό στο τμήμα ελαστογραφίας του Γενικού Νοσοκομείου Αθηνών Ιπποκράτειο.

Τα αποτελέσματα της TE εκφράστηκαν σε kilopascal (kPa), με τιμές από 2,5 έως 25 kPa. Στην εικόνα 1 παρακάτω παρουσιάζονται οι αντιστοιχίες μεταξύ METAVIR score και TE. Στη παρούσα μελέτη οι ασθενείς με TE >12,5kPa ταξινομήθηκαν ως **κίρρωτικοί** (METAVIR στάδιο F4 and μερικώς F3) και με TE <12,5kPa ταξινομήθηκαν ως **μη κίρρωτικοί** (METAVIR στάδια F0-F1). Σε κανέναν ασθενή δεν υπήρξε ανάγκη για διενέργεια βιοψίας.

Εικόνα 1: Τα όρια της ηπατικής ακαμψίας (stiffness) στις χρόνιες ηπατοπάθειες. Προσαρμοσμένο από Castera L et al. J Epatol 2008;48:835-847



2.7 ΜΕΤΡΗΣΗ ΤΗΣ ΒΙΤΑΜΙΝΗΣ D

Ο προσδιορισμός των επιπέδων της vitD πραγματοποιήθηκε στους ασθενείς με CHC, με ή χωρίς MC, και στους YM. Χρησιμοποιήθηκε αποθηκευμένος ορός και καθορίστηκαν τα επίπεδα της 25-OH-vitD με την ανοσοδοκιμασία ηλεκτροχημειοφωταύγειας (Electrochemiluminescence, ECLIA). Η ολική διάρκεια της δοκιμασίας είναι 27 λεπτά. Οι αρχές της μεθοδολογίας είναι:

- Πρώτη επώαση: Με την επώαση του δείγματος (15μL) στους καθορισμένους παράγοντες διθειοθρεϊτόλη (dithiothreitol) g/L (4ml) και υδροξειδίου του νατρίου (sodium hydroxide) 55g/L (4ml) απελευθερώνεται η 25-OH-vitD από τη συνδεδεμένη με vitD πρωτεΐνη.
- Δεύτερη επώαση: Με την επώαση του προεπεξεργασμένου δείγματος στη σημασμένη με ρουθίνιο (ruthenium) συνδεδεμένη με vit D πρωτεΐνη σχηματίζεται σύμπλεγμα μεταξύ της 25-OH-vit D και της ρουθινυλιωμένης συνδεδεμένης με vit D πρωτεΐνης.
- Τρίτη Επώαση: Μετά την προσθήκη μικροσωματιδίων επικαλυμμένων με στρεπταβιδίνη (streptavidin coated microparticles) και 25-OH-vit D συνδεδεμένης με βιοτίνη (biotin), θα καταληφθούν οι ελεύθερες θέσεις της σημασμένης με ρουθίνιο συνδεδεμένης με vitD πρωτεΐνης, και έτσι σχηματίζεται ένα σύμπλεγμα που αποτελείται από τη σημασμένη με ρουθίνιο συνδεδεμένης με vitD πρωτεΐνη και τη βιοτινυλιωμένη 25-OH-vitD. Ολόκληρο το σύμπλεγμα δεσμεύεται στη στερεά φάση μέσω της αλληλεπίδρασης βιοτίνης και στρεπταβιδίνης.
- Το μίγμα αντίδρασης αναρροφάται στο φρεάτιο μέτρησης όπου τα μικροσωματίδια δεσμεύονται μαγνητικά πάνω στην επιφάνεια του ηλεκτροδίου. Στη συνέχεια οι μη δεσμευμένες ουσίες αφαιρούνται. Εφαρμόζεται τάση στο ηλεκτρόδιο που προκαλεί μετάδοση χημειοφωταύγειας, η οποία μετράτε με φωτοπολλαπλασιαστή.

- Τα αποτελέσματα προσδιορίζονται μέσω μιας καμπύλης βαθμονόμησης η οποία παράγεται ειδικά με όργανα από μία βαθμονόμηση 2 σημείων και μία κύρια καμπύλη που παρέχεται μέσω του γραμμικού κώδικα του αντιδραστηρίου

Εύρος μετρήσεων: 3.00-70.0 ng/ml (καθορίστηκε από το όριο ανίχνευσης και το μέγιστο της κύριας καμπύλης). Τιμές κάτω από το όριο ανίχνευσης αναφέρονται ως <3.00ng/ml. Τιμές πάνω από το όριο μέτρησης αναφέρονται ως >70.0 ng/ml.

2.8 ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΩΝ ΜΕ ΤΗΝ ΑΝΟΣΟΕΝΖΥΜΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟ ELISA (ELISA, ENZYME-LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY)

Η μέτρηση των επιπέδων των κυτταροκινών BAFF και IL-17A πραγματοποιήθηκε στον αποθηκευμένο ορό των ασθενών και των υγιών μαρτύρων μέσω της ανοσοενζυμικής μεθόδου ανίχνευσης ELISA. Χρησιμοποιήθηκαν τυποποιημένες συσκευασίες (kit) της εταιρείας eBioscience, η άμεση ELISA ανθρώπινου BAFF (human BAFF, instant ELISA, BMS2007INST) και η ELISA ανθρώπινης IL-17A (human IL-17A platinum ELISA, BMS2017TEN). Η μέθοδος βασίζεται στην αρχή της sandwich ELISA. Η τεχνική της ποσοτικής 'σάντουιτς' ELISA (sandwich ELISA) αποτελεί μία μη ανταγωνιστική μέθοδο όπου χρησιμοποιείται ένα ειδικό αντίσωμα, μονοκλωνικό ή πολυκλωνικό, για κάθε παράγοντα που θέλουμε να μετρήσουμε.

Τα kit της άμεσης ELISA για τον ανθρώπινο BAFF και το ELISA για την ανθρώπινη IL-17A χρησιμοποιούνται για την ποσοτική ανίχνευση με ανοσοενζυμική μέθοδο BAFF και IL-17A αντίστοιχα σε ανθρώπινο ορό ή πλάσμα αίματος. Οι συγκεκριμένες συσκευασίες (kits) χρησιμοποιούνται μόνο για ερευνητικούς σκοπούς και όχι για διαγνωστικούς ή θεραπευτικούς. Σύμφωνα με τις αρχές της δοκιμασίας κατά την πρώτη επώαση (incubation) το αντίσωμα anti-BAFF ή anti-IL-17A τοποθετείται στα φρεάτια. Στη συνέχεια επί παρουσίας BAFF ή IL-17A αντίστοιχα στο δείγμα ορού ή το βαθμονομητή δείγμα BAFF ή IL-17A, γίνεται σύνδεση με το

αντίσωμα. Έπειτα συνδέεται με βιοτίνη (biotin conjugate) και τέλος συνδέεται και η στρεπταβιδίνη - HRP (streptavidin) στο αντίσωμα.

Μετά την πρώτη επώαση ακολουθεί το στάδιο πλυσίματος, όπου αποδεσμεύονται η βιοτίνη και η στρεπταβιδίνη και προστίθεται στο φρεάτιο ένα υπόστρωμα με ενεργό διάλυμα που αντιδρά με την HRP. Σχηματίζεται ένα έγχρωμο προϊόν ανάλογο με την ποσότητα του BAFF στο δείγμα. Η αντίδραση τερματίζει με την προσθήκη οξέος και η απορρόφηση μετράτε στα 450nm. Μια πρότυπη καμπύλη προετοιμάζεται με 7 βαθμονομητές με διάφορες συγκεντρώσεις ανθρώπινου BAFF και με βάση αυτή καθορίζεται η συγκέντρωση δείγματος προς εξέταση.

Αναλυτικά τα βήματα του πρωτοκόλλου ανίχνευσης BAFF σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή:

1. Καθορίστηκε ο αριθμός των φρεατίων που απαιτείται για την εξέταση των δειγμάτων ορών, των κενών και των στάνταρντ. Κάθε δείγμα εξετάζεται εις διπλούν.
2. Προστίθεται αποσταγμένο νερό στα φρεάτια των κενών και των στάνταρντ.
3. Προστίθενται 100 μl αποσταγμένου νερού στα φρεάτια των δειγμάτων.
4. Προστίθενται 50 μl κάθε δείγματος στα καθορισμένα φρεάτια και πραγματοποιείται μίξη.
5. Ακολουθεί επώαση σε θερμοκρασία δωματίου (18°C με 25°C) για 3 ώρες
6. Ακολουθεί αναρρόφηση και 6 εκπλύσεις των φρεατίων με 400ml διαλύματος έκπλυσης (wash buffer).
7. Τοποθετούμε 100 μl διαλύματος υποστρώματος χρωμογόνου (tetramethylbenzidine, TMB) σε όλα τα φρεάτια (και στα κενά).
8. Ακολουθεί επώαση σε θερμοκρασία δωματίου για 10 λεπτά. Αποφεύγουμε την άμεση έκθεση στο έντονο φως.

9. Γίνεται διακοπή της αντίδρασης με τη ταχεία πρόσθεση 100μl διαλύματος για διακοπή σε κάθε φρεάτιο, περιλαμβανομένων και των κενών. Είναι σημαντικό η διάδοση του διαλύματος να γίνει γρήγορα για να διακοπεί η αντίδραση ομοιόμορφα στα φρεάτια.
10. Η ανάγνωση των αποτελεσμάτων πραγματοποιείται άμεσα.
11. Ακολουθεί ανάγνωση της απορρόφησης του κάθε φρεατίου σε μήκος κύματος 450nm σε φωτόμετρο.

Σε κάθε δείγμα ορού ασθενούς ή μάρτυρα η ανάγνωση γίνεται σε 2 διαφορετικά φρεάτια και λαμβάνεται υπόψιν η μέση τιμή. Η πρότυπη καμπύλη προετοιμάζεται με βάση τις τιμές απορρόφησης των προτύπων δειγμάτων (στάνταρτς).

Τα βήματα του πρωτοκόλλου ανίχνευσης της IL-17A σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή περιγράφονται αναλυτικά παρακάτω:

1. Καθορίζονται τα φρεάτια που απαιτούνται για τον έλεγχο των επιθυμητών δειγμάτων, των κενών και των πρότυπων διαλυμάτων. Κάθε δείγμα εξετάζεται εις διπλούν.
2. Ξεπλένονται δύο φορές τα φρεάτια πριν την χρήση με 400ml ρυθμιστικού διαλύματος.
3. Προσθέτουμε 100μl από το ρυθμιστικό διάλυμα της δοκιμασίας σε όλα τα βοθρία με τα πρότυπα διαλύματα.
4. Κάθε πρότυπο διάλυμα καθορισμένης περιεκτικότητας κυτταροκίνης αραιώνεται σε υποδιπλάσιες αραιώσεις επί 6 συνεχείς φορές και τοποθετούνται 100μl εξ αυτών στα αντίστοιχα φρεάτια.
5. Τοποθετούνται 50μl από το διάλυμα δοκιμασίας στα φρεάτια που θα τοποθετούνται τα δείγματα.
6. Ακολουθεί προσθήκη 50μl ορού από κάθε δείγμα και 50μl συμπλέγματος βιοτίνης.
7. Μετά από δίωρη επώαση σε θερμοκρασία δωματίου και έκπλυση με το κατάλληλο ρυθμιστικό διάλυμα ακολουθεί η προσθήκη της στρεπταβιδίνης συζευγμένης με το ένζυμο (HRP) σε όλα τα φρεάτια.

8. Ακολουθεί επώαση για μία ώρα σε θερμοκρασία δωματίου, έκπλυση των μη συζευχθέντων αντιδραστηρίων και προσθήκη 100μl του υποστρώματος του ενζύμου TMB με αποτέλεσμα την κυανή χροιά.
9. Γίνεται διακοπή της αντίδρασης με τη ταχεία πρόσθεση 100μl διαλύματος για διακοπή σε κάθε φρεάτιο, περιλαμβανομένων και των κενών. Είναι σημαντικό η διάδοση του διαλύματος να γίνει γρήγορα για να διακοπεί η αντίδραση ομοιόμορφα στα φρεάτια.
10. Η ανάγνωση των αποτελεσμάτων πραγματοποιείται άμεσα.
11. Ακολουθεί ανάγνωση της απορρόφησης του κάθε φρεατίου σε μήκος κύματος 450nm σε φωτόμετρο.

Υπολογισμός των δειγμάτων

Η συγκέντρωση της κυτταροκίνης στο υπό εξέταση δείγμα είναι ανάλογη της έντασης του χρώματος που έχει αναπτυχθεί. Η συγκέντρωση αυτή, εκφραζόμενη σε pg/ml, υπολογίζεται με βάση την πρότυπο καμπύλη. Αυτή η καμπύλη αναφοράς σχηματίζεται μέσω υπολογιστή σημειώνοντας σε μια γραφική παράσταση στο κάθετο άξονα τις τιμές της οπτικής πυκνότητας των αραιώσεων κάθε πρότυπου διαλύματος και στον οριζόντιο άξονα τις συγκεντρώσεις της ιντερλευκίνης

2.9 ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Όλοι οι ασθενείς έλαβαν συνδυασμό pegIFN/RBV. Ασθενείς με γονότυπο 1 και 4 έλαβαν θεραπεία για 48 εβδομάδες ενώ με γονότυπο 2 και 3 για 24 εβδομάδες. Η θεραπεία διακόπηκε στους ασθενείς που δεν πέτυχαν μείωση του HCV-RNA για ≥ 2 logs την 12^η εβδομάδα (NVR). Μακροχρόνια ιολογική ανταπόκριση (sustained virological response-SVR) καθορίστηκε ως το μη ανιχνεύσιμο HCV-RNA στις 24 εβδομάδες μετά το τέλος της θεραπείας. Μερική ανταπόκριση είχαν οι ασθενείς με ελάττωση HCV-RNA ≥ 2 logIU σε σχέση με την αρχή στις 12

εβδομάδες θεραπείας αλλά ανιχνεύσιμο HCV-RNA. Ασθενείς χωρίς ανταπόκριση (non-responders) θεωρούνται οι ασθενείς με ανιχνεύσιμο HCV-RNA στο τέλος θεραπείας. Ασθενείς με υποτροπή (relapsers) ορίστηκαν όσοι αρνητικοποίησαν το HCV-RNA στο τέλος της θεραπείας αλλά είχαν ανιχνεύσιμο 24 εβδομάδες μετά.

2.10 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Όλες οι συνεχείς μεταβλητές παρουσιάζονται ως μέση τιμή (mean) με σταθερή απόκλιση (standard deviation, SD). Οι ποσοτικές μεταβλητές παρουσιάζονται με απόλυτες και σχετικές συχνότητες. Οι συντελεστές συσχετισμού του Spearman χρησιμοποιήθηκαν για να διερευνήσουν τη συσχέτιση δύο συνεχών μεταβλητών. Για τη σύγκριση των αναλογιών χρησιμοποιήθηκε η δοκιμασία chi-square (κατηγορικές μεταβλητές). Οι διαφορές στις μεταβολές των μεταβλητών της μελέτης κατά τη διάρκεια της περιόδου παρακολούθησης μεταξύ διαφορετικών ομάδων αξιολογήθηκαν χρησιμοποιώντας επαναλαμβανόμενες μετρήσεις διακύμανσης (ANOVA). Η διόρθωση Bonferroni χρησιμοποιήθηκε σε περίπτωση πολλαπλών εξετάσεων. Η IL-17A και ο BAFF είχαν ασύμμετρη κατανομή (skewed distribution) και μετασχηματίστηκαν για την ανάλυση. Για την εκτίμηση (longitudinally assess) της συσχέτισης των μεταβολών των BAFF, IL-17A και vitD κατά τη διάρκεια της παρακολούθησης, τοποθετήθηκαν μοντέλα μικτής γραμμικής παλινδρόμησης (mixed linear regression models), τα οποία αντιστοιχούν σε πολλαπλές μετρήσεις ανά άτομο που ελήφθησαν σε διαφορετικά χρονικά σημεία. Οι συντελεστές παλινδρόμησης (regression coefficients) (β) με τα τυπικά σφάλματα (standard errors, SE) υπολογίστηκαν από τα αποτελέσματα των μικτών μοντέλων. Όλες οι τιμές p που αναφέρονται είναι αμφίπλευρες (two-tailed). Η στατιστική σημασία καθορίστηκε σε 0,05 και οι αναλύσεις διεξήχθησαν χρησιμοποιώντας στατιστικό λογισμικό SPSS (έκδοση 22,0).

2.11 ΕΜΠΙΣΤΕΥΤΙΚΟΤΗΤΑ

Τα προσωπικά στοιχεία των ασθενών με CHC που εντάχθηκαν στη μελέτη καθώς και όσων αποτελούσαν τις ομάδες ελέγχου ήταν αυστηρά απόρρητα. Απαραίτητη προϋπόθεση συμμετοχής και ένταξης στη μελέτη και στις τρεις ομάδες αποτελούσε η συμπλήρωση εντύπου συγκατάθεσης. Η μελέτη είχε λάβει έγκριση για τη διεξαγωγή της από την επιτροπή ηθικής και δεοντολογίας του Νοσοκομείου που πραγματοποιήθηκε.

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1 ΔΗΜΟΓΡΑΦΙΚΑ ΚΑΙ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

Στη μελέτη συμπεριλήφθηκαν 20 άνδρες και 14 γυναίκες, με μέση ηλικία 40,7 ετών (SD=9,2). Τα δημογραφικά, κλινικά και εργαστηριακά χαρακτηριστικά των ασθενών και των υγιών μαρτύρων παρουσιάζονται στους πίνακες 1, 2 και 3. Δώδεκα περιπτώσεις ασθενών με CHC είχαν γονότυπο 1 ή 4 και 22 γονότυπο 2 ή 3. Οι κρυοσφαιρίνες ανιχνεύθηκαν στο 52,9% των περιπτώσεων και κίρρωση (TE > 12,5 kPa) βρέθηκε σε 14 ασθενείς.

3.2 ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ IL-17A, BAFF ΚΑΙ ΒΙΤΑΜΙΝΗΣ D

Οι τιμές στο BSL και οι μεταβολές κατά τη διάρκεια της μελέτης των κυτταροκινών IL17A και BAFF, καθώς και της vitD απεικονίζονται στον πίνακα 4. Η IL-17A παρέμεινε αμετάβλητη σε όλη τη διάρκεια της θεραπείας, ενώ ο BAFF αυξήθηκε σημαντικά στο EOT και η vitD μειώθηκε σημαντικά στους 6Mo-EOT. Ωστόσο, δε βρέθηκε σημαντική μεταβολή της vitD μεταξύ των τιμών BSL και 6Mo-EOT.

Οι συγκεντρώσεις της vitD βρέθηκαν χαμηλές στους ασθενείς με CHC (μέσος όρος: 22,21 ng/ml, SD: 8,87). Ανεπάρκεια vitD (< 20ng/ml) ή έλλειψη (20-29 ng/ml) παρατηρήθηκε στο 55% και 17% των ασθενών στο BSL, αντίστοιχα (διάγραμμα 1). Στους ασθενείς με γονότυπο 3, από το BSL έως το EOT, η vitD παρέμεινε σταθερή (21,03 ng/ml & 22,09 ng/ml αντίστοιχα, $p=0,37$), ενώ μέχρι τους 6MoEOT παρουσίασε μείωση (17 ng/ml, $p<0,05$), που ήταν μεγαλύτερη για το γονότυπο 3 σε σχέση με τους υπόλοιπους γονότυπους ($p=0,05$). Η IL-17A και ο BAFF δεν παρουσίασαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των γονοτύπων της νόσου.

3.3 ΟΜΑΔΕΣ ΕΛΕΓΧΟΥ

3.3.1 ΥΓΙΕΙΣ ΜΑΡΤΥΡΕΣ (YM)

Οι μέσες τιμές της IL17A στο BSL σε ασθενείς με CHC ήταν υψηλότερες σε σύγκριση με τους YM, $p=0,020$ (διάγραμμα 2). Οι μέσες τιμές του BAFF είχαν την τάση να είναι υψηλότερες σε ασθενείς με CHC σε σύγκριση με τους YM ($p=0,076$). Η ομάδα των YM σε σύγκριση με τους ασθενείς με CHC παρουσίασε σημαντικά υψηλότερες τιμές vitD: 36,6 ng/ml (SD: 11,3 και $p<0,01$).

Όταν συγκρίθηκε η ομάδα των ασθενών με γονότυπο 3 ($n=21$) έναντι των YM παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά στα επίπεδα της IL-17A. Αντίστοιχα δεν βρέθηκαν σημαντικές διαφορές για τον BAFF.

3.3.2 ΜΙΚΤΗ ΚΡΥΟΣΦΑΙΡΙΝΑΙΜΙΑ (MC)

Οι ασθενείς με MC ($N=18$) είχαν σημαντικά υψηλότερα επίπεδα IL17A και BAFF συγκριτικά με την ομάδα των ασθενών χωρίς MC (διαγράμματα 3 και 4). Δεν παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά στους ασθενείς με κρυοσφαιριναιμία που πέτυχαν SVR έναντι των ασθενών χωρίς κρυοσφαιριναιμία που πέτυχαν SVR (62,5% έναντι 66,7%, $p=0,8$).

Μετά το τέλος της θεραπείας από τους 18 ασθενείς με θετικές κρυοσφαιρίνες στο BSL, οι 15 αρνητικοποίησαν τις κρυοσφαιρίνες τους (12 από αυτούς είχαν πετύχει SVR). Οι υπόλοιποι 3 παρέμειναν με θετικές κρυοσφαιρίνες (2 PVR).

Οι τιμές και οι μεταβολές των επιπέδων IL-17A, BAFF και vitD σε σχέση με την παρουσία MC ή μη παρουσιάζονται παρακάτω στον πίνακα 5. Δεν παρουσιάστηκαν σημαντικές μεταβολές των τριών παραμέτρων στη συνολική περίοδο θεραπείας και παρακολούθησης μεταξύ της ομάδας MC και της ομάδας χωρίς MC.

3.3.3 ΠΑΡΑΤΕΤΑΜΕΝΗ ΙΟΛΟΓΙΚΗ ΑΝΤΑΠΟΚΡΙΣΗ (SVR)

Είκοσι δύο ασθενείς (64,7%) πέτυχαν SVR και ο ρυθμός ήταν υψηλότερος στους HCV γονότυπους 2 και 3 (77,3%) σε σύγκριση με τους γονότυπους 1 και 4 (41,7%) ($p=0,003$) (διάγραμμα 5 και πίνακας 6). Επιπρόσθετα, το ποσοστό των ασθενών που πέτυχαν SVR ήταν ανεξάρτητο της παρουσίας MC ($p=0,8$). Η ομάδα των μη ανταποκριθέντων (non SVR) αποτελούνταν από 12 ασθενείς (7 EVR και 3 PVR που δεν πέτυχαν SVR, 2 NVR). Κανένας ασθενής δεν παρουσίασε σοβαρή ανεπιθύμητη ενέργεια ώστε να διακόψει τη θεραπεία.

Στον πίνακα 7 φαίνονται οι μεταβολές των επιπέδων IL-17A, BAFF και vitD κατά την διάρκεια της μελέτης, σε σχέση με το SVR. Στο BSL, οι ασθενείς που πέτυχαν SVR είχαν σημαντικά υψηλότερα επίπεδα IL-17A ($p=0,040$) και χαμηλότερα επίπεδα BAFF ($p=0,045$) σε σύγκριση με εκείνα των ασθενών που δεν πέτυχαν SVR. Η IL-17A μειώθηκε σημαντικά από το BSL στο EOT στην ομάδα SVR και η μείωση αυτή επέμεινε και στη συνέχεια. Αντίθετα, η IL-17A αυξήθηκε σημαντικά από BSL στο EOT στους ασθενείς χωρίς SVR ($p=0,022$). Η κινητική της IL-17A κατά τη διάρκεια της παρακολούθησης διέφερε σημαντικά ($p=0,001$) μεταξύ των ομάδων SVR έναντι της ομάδας που δεν πέτυχαν SVR (διάγραμμα 6).

Τα επίπεδα του BAFF ήταν σημαντικά αυξημένα στο BSL στους ανταποκριθέντες (ομάδα SVR) σε σύγκριση με τους μη ανταποκριθέντες (ομάδα χωρίς SVR) και αυτή η αύξηση παρέμεινε μετά τη διακοπή της θεραπείας μόνο στους ανταποκριθέντες, αλλά δεν έφθασε την στατιστική σημαντικότητα ($p=0,089$). Η κινητική των επιπέδων του BAFF διέφερε σημαντικά ($p=0,01$) κατά τη διάρκεια της περιόδου μελέτης μεταξύ ασθενών με SVR και χωρίς SVR (διάγραμμα 7). Η vitD μειώθηκε σημαντικά μόνο από το EOT στους 6Mo-EOT στην ομάδα SVR.

3.3.4 ΚΙΡΡΩΣΗ

Από τα αποτελέσματα της ελαστογραφίας προέκυψαν ότι το 41,2% των ασθενών είχαν $TE > 12,5$ kPa (ομάδα ασθενών με κίρρωση), 14 ασθενείς είχαν $TE < 7$ kPa και 6 ασθενείς είχαν TE μεταξύ 7 και 12,5 kPa (διάγραμμα 6). Οι 20 ασθενείς με $TE < 12,5$ kPa κατηγοριοποιήθηκαν στην ομάδα των ασθενών χωρίς κίρρωση.

Δε βρέθηκαν σημαντικές διαφορές στα επίπεδα IL-17A, BAFF και vitD σε κανέναν χρόνο ανάμεσα στους ασθενείς με κίρρωση και χωρίς κίρρωση (πίνακας 8). Επιπλέον όταν οι μεταβολές των επιπέδων της IL-17A ($p=0.388$), του BAFF ($p=0.758$) και της vitD ($p=0.367$) συγκρίθηκαν αναλόγως κίρρωσης και μη επίσης δε βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές. Επίσης δε βρέθηκαν σημαντικές διαφορές όταν συγκρίθηκαν η ομάδα των κίρρωτικών ασθενών έναντι των ασθενών που είχαν $TE < 7$ kPa, όπως παρουσιάζεται στον πίνακα 9.

3.3.5 ΙΪΚΟ ΦΟΡΤΙΟ

Σχετικά με το ιϊκό φορτίο δε βρέθηκαν σημαντικές διαφορές στα επίπεδα της IL-17A, του BAFF και της vitD στο BSL ανάμεσα στους ασθενείς με υψηλό και χαμηλό HCV-RNA (πίνακας 10). Επιπλέον δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές μεταβολές των IL-17A, BAFF και vitD κατά τη διάρκεια της παρακολούθησης σε σχέση με τα επίπεδα του HCV RNA ($p=0,318$, $p=0,191$ και $p=0,656$ αντίστοιχα).

3.4 ΜΙΚΤΑ ΓΡΑΜΜΙΚΑ ΜΟΝΤΕΛΑ ΚΑΙ ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΕΣ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗΣ

Τα αποτελέσματα από τα μικτά γραμμικά μοντέλα έδειξαν ότι οι μεταβολές στα επίπεδα του BAFF δε σχετίστηκαν σημαντικά με τις αντίστοιχες μεταβολές της IL-17A ($\beta = -0,23$, $SE = 0,44$, $\rho = 0,601$). Επιπλέον, δεν παρατηρήθηκε σημαντική συσχέτιση των μεταβολών της vitD με τις αντίστοιχες αλλαγές του BAFF κατά τη διάρκεια της παρακολούθησης ($\beta = 0,82$, $SE = 2,59$, $\rho=0,751$). Αντιθέτως, βρέθηκε ότι οι μεταβολές της **IL-17A** συσχετίστηκαν σημαντικά με τις μεταβολές της **vitD** ($\beta = -0.04$, $SE = 0.02$, $\rho=0.046$).

Στον πίνακα 11 φαίνονται οι συντελεστές συσχέτισης μεταξύ της IL-17A, του BAFF και της vitD στα διαφορετικά χρονικά σημεία, όπου τα επίπεδα της vitD στο BSL συσχετίζονταν αρνητικά με τον BAFF στο EOT ($\rho=0,017$) και στο 6MoA-EOT ($\rho=0,03$). Επιπρόσθετα, τα επίπεδα vitD στους 6Mo-EOT συσχετίστηκαν σημαντικά και αρνητικά με το BAFF στο BSL και το BAFF στο EOT.

Δε βρέθηκε καμία συσχέτιση μεταξύ της vitD και της BAFF στο BSL ή μεταξύ της vitD και της IL-17A σε όλα τα χρονικά σημεία. Τέλος, δε βρέθηκαν σημαντικές διαφορές στην IL17A, τον BAFF και την vitD μεταξύ των ομάδων με ή χωρίς κίρρωση ($\rho=0,363$, $\rho=0,567$ και $\rho=0,956$ αντίστοιχα) και εκείνες με χαμηλά ή υψηλά επίπεδα HCV RNA ($\rho=0,3$ και $\rho=0,317$ αντίστοιχα).

3.5 ΣΥΣΧΕΤΙΣΕΙΣ ΜΕ ΤΙΣ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΕΣ ΤΙΜΕΣ

Οι συσχετίσεις των βιοχημικών τιμών στο BSL με τις IL-17A, BAFF και vitD φαίνονται στον παρακάτω πίνακα. Ο BAFF στο BSL σχετίστηκε αρνητικά με την αιμοσφαιρίνη (Hb) και την κρεατινίνη (Cr), ενώ σχετίστηκε θετικά με τα λεμφοκύτταρα (Lymph). Η IL-17A και η vitD δε συσχετίστηκαν σημαντικά με τις εργαστηριακές τιμές (πίνακας 12).

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στους ασθενείς με CHC οι κυτταροκίνες διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο στην παθογένεση, την εξέλιξη και την έκβαση της θεραπείας. Οι ανοσολογικές αποκρίσεις που λαμβάνουν χώρα είναι εξαιρετικά πολύπλοκες και δεν είναι καλά καθορισμένες. Ιδιαίτερα στις εξωηπατικές εκδηλώσεις της CHC, με κύριο εκφραστή την κρυοσφαιριναιμία, παρατηρούνται παθολογικές ανοσιακές αποκρίσεις που επάγονται από τα T και από τα B λεμφοκύτταρα, και χρήζουν περαιτέρω διερεύνησης.^{182 183}

Τα κύτταρα Th17 αποτελούν έναν υποπληθυσμό των CD4+ T κυττάρων, που εμπλέκονται στην εξέλιξη πολλών αυτοάνοσων και φλεγμονωδών διαταραχών.¹⁸⁴ Όμως, ο ρόλος τους στην MC της HCV λοίμωξης δεν είναι σαφής. Αντίθετα για τον BAFF την τελευταία δεκαετία υπάρχουν λίγες βιβλιογραφικές διεθνείς αναφορές σχετικά με την παρουσία και το ρόλο του στην κρυοσφαιριναιμία της CHC.¹³⁴

Στην παρούσα μελέτη, μελετήσαμε τα επίπεδα της IL-17A και του BAFF σε ασθενείς με CHC με ή χωρίς ασυμπτωματική MC. Οι δύο κυτταροκίνες βρέθηκαν σημαντικά αυξημένες στους ασθενείς με MC έναντι των ασθενών χωρίς MC. Προηγούμενες μελέτες που διερεύνησαν την ανοσιακή απόκριση και τα B κύτταρα σε ασθενείς με CHC και MC ανέφεραν επίσης αυξημένα επίπεδα του BAFF.^{185 138} Από τα μέχρι στιγμής δεδομένα δεν υπάρχει άλλη μελέτη που να δείχνει αυξημένα επίπεδα της IL-17A σε MC, υποδηλώνοντας ότι η IL-17A μπορεί να συμμετέχει στις εξωηπατικές εκδηλώσεις που σχετίζονται με τον HCV, όπως αυτή εκφράζεται από τους ασθενείς που πάσχουν από MC. Σε μία μελέτη που διερεύνησε την IL-17 σε CHC, η αυξημένη έκφραση της IL-17 συσχετίστηκε με την HCV λοίμωξη αλλά όχι με την ασυμπτωματική MC.¹³¹

Επιβεβαιώνοντας πρόσφατες μελέτες,^{121 186} παρατηρήσαμε σημαντική αύξηση των επιπέδων της IL-17A στους ασθενείς με CHC έναντι των YM. Ξεχωριστό ενδιαφέρον παρουσιάζουν τα αποτελέσματα από τις ομάδες σύγκρισης. Για παράδειγμα, βρέθηκαν αυξημένα τα επίπεδα της

IL-17A στους ασθενείς που ανταποκρίθηκαν στην αντιική θεραπεία έναντι αυτών που δεν ανταποκρίθηκαν (ομάδα SVR έναντι non SVR). Έτσι, τα υψηλά επίπεδα της IL-17A στο BSL θα μπορούσαν να εκτιμηθούν ως δείκτης ανταπόκρισης της αντιικής θεραπείας με pegIFN/RBV. Είναι δύσκολο να προτείνουμε το όριο της IL-17A που διαχωρίζει την ανταπόκριση από τη μη ανταπόκριση, και περαιτέρω μελέτες απαιτούνται για την εκτίμηση αυτού του ευρήματος. Αντίθετα, σε μελέτη του Meng et al (μελετώντας όμως το RVR στους ασθενείς), δε φάνηκε ότι υπήρχε διαφορά μεταξύ των ασθενών που πέτυχαν RVR έναντι αυτών που δεν πέτυχαν RVR.¹⁸⁷

Όταν αναλύσαμε την κινητική της IL-17A κατά τη διάρκεια της θεραπείας και της παρακολούθησης, φάνηκε ότι η αντιική θεραπεία μειώνει σημαντικά (downregulation) τα επίπεδα της IL-17A στους ανταποκριθέντες ασθενείς (ομάδα SVR), όπως περιγράφηκε και στο διάγραμμα 7. Αυτό το εύρημα επέμεινε στους ανταποκριθέντες και μετά την διακοπή της θεραπείας υποδεικνύοντας ότι η καταστολή της απελευθέρωσης της κυτταροκίνης μπορεί να αποδοθεί στην ιική κάθαρση και όχι στην αντιική θεραπεία. Παρόμοια, οι Sousa et al, πρότειναν ότι η θεραπεία με pegIFN/RBV είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση των επιπέδων της IL-17A την 12^η εβδομάδα.¹²⁶

Αξιοσημείωτο είναι το εύρημα ότι η IL-17A αυξήθηκε στην ομάδα που δεν πέτυχε SVR, υποδηλώνοντας ότι η επιδείνωση της προφλεγμονώδους κατάστασης (όπως αυτή εκφράζεται από την αυξημένη IL-17A) κατά τη διάρκεια της αντιικής αγωγής μπορεί να έχει επιβλαβή δράση και να οδηγήσει σε αποτυχία της θεραπείας. Σε πολύ μικρό αριθμό ασθενών και για μικρό χρονικό διάστημα περιγράφεται ομαλοποιημένη ανοσοαπόκριση κατά τη διάρκεια της θεραπείας σχετικά με την IL-17A,⁹² ενώ σε άλλη μελέτη φάνηκε μια μη σημαντική μείωση των επιπέδων στην ομάδα που δεν πέτυχαν EVR.¹²⁶ Τέλος, σημειώθηκε ότι οι ασθενείς με SVR εμφανίζουν χαμηλότερα επίπεδα της IL-17 σε σύγκριση με τους μη ανταποκρινόμενους.¹⁸⁸

Η φυσική και η επίκτητη ανοσία σχετίζονται με την πρόγνωση της λοίμωξης από τον HCV και την ανταπόκριση στην αντιική θεραπεία. Η κατεσταλμένη κυτταρική ανοσία έναντι του HCV φαίνεται ότι μπορεί να συμβάλει στην ανάπτυξη χρόνιας λοίμωξης.^{189 190} Παρόμοια με αυτά που περιέγραψαν οι Lake-Bakaar et al,¹⁹¹ στην παρούσα μελέτη φάνηκε επίσης ότι και στην περίπτωση του BAFF οι μεταβολές κατά τη διάρκεια της αντιικής θεραπείας διέφεραν μεταξύ των ανταποκριθέντων και μη. Από την άλλη πλευρά, σε αντίθεση με την προηγούμενη μελέτη, συμπεριλάβαμε ασυμπτωματικούς ασθενείς με MC και επεκτείναμε το χρόνο παρακολούθησης σε 6 μήνες μετά το τέλος της αντιικής αγωγής. Η θεραπεία με IFN στους ανταποκριθέντες προκάλεσε μια ενισχυμένη ανοσιακή απόκριση, όπως υποδεικνύεται από την αύξηση των επιπέδων BAFF, με αποτέλεσμα την κάθαρση του ιού. Προηγούμενοι ερευνητές έχουν επίσης παρατηρήσει ότι η αντιική θεραπεία επάγει την αύξηση του BAFF στον ορό αίματος, ανεξάρτητα από την ανταπόκριση της θεραπείας.¹³⁴

Είναι καλά τεκμηριωμένο από προηγούμενες μελέτες ότι τα επίπεδα του BAFF είναι υψηλότερα στους ασθενείς με MC, ειδικά όταν συνυπάρχει αγγειίτιδα. Η παρούσα μελέτη διαφέρει στο γεγονός ότι περιλαμβάνει ασυμπτωματικούς ασθενείς με ή χωρίς MC, και φάνηκε ότι τα επίπεδα του BAFF ήταν υψηλότερα στην ομάδα MC, αλλά ήταν συγκρίσιμα μεταξύ των ασθενών και των YM. Άλλες μελέτες έχουν δείξει επίσης ότι ασθενείς με HCV χωρίς αγγειίτιδα είχαν επίπεδα παρόμοια με αυτά των YM.^{192 193} Υψηλότερα επίπεδα του BAFF σε σύγκριση με τους YM έχουν αναφερθεί προηγουμένως σε ασθενείς με MC.¹⁹¹

Ως ανοσορρυθμιστής η vitD μειώνει τη φλεγμονή και ενισχύει τις προστατευτικές ανοσολογικές αντιδράσεις. Η σοβαρή έλλειψη vitD (επίπεδα ορού 25-OH-vit.D <20 ng/mL) αποτελεί συχνό χαρακτηριστικό των ασθενών με CHC, ακόμη και όταν δεν υπάρχει προηγμένη ηπατική ίνωση.¹⁵⁴ Στην παρούσα μελέτη οι περισσότεροι ασθενείς είχαν έλλειψη vitD (<20 ng/mL) ή ανεπάρκεια (20-29 ng/mL). Αυξημένες τιμές της IL-17A ήταν εμφανείς στους ασθενείς με MC σε σύγκριση με αυτούς χωρίς, αλλά δεν παρατηρήθηκε καμία διαφορά στα επίπεδα της vitD

στο BSL μεταξύ αυτών των ομάδων. Ωστόσο, χρησιμοποιώντας μεικτά γραμμικά μοντέλα διαπιστώσαμε ότι οι αλλαγές στην IL-17A σχετίζονταν σημαντικά με αλλαγές στα επίπεδα vitD ($\beta = -0.04$, $SE = 0.02$, $P = 0.046$), υποδεικνύοντας αλληλεπίδραση μεταξύ της vitD και της IL-17.¹⁹⁴ Η σχέση μπορεί να αποδοθεί στο γεγονός ότι η vitD καταστέλλει τις προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες και ενισχύει τις αντιφλεγμονώδεις.¹⁴⁹

Στους πίνακες 13 και 14 συνοψίζονται τα κεντρικά νοήματα, τόσο με στοιχεία που γνωρίζουμε από τη διεθνή βιβλιογραφία σχετικά με το θέμα, καθώς και με αυτά που προσθέτει η παρούσα μελέτη.

Η παρούσα μελέτη παρουσιάζει κάποιους περιορισμούς. Πρώτον, το μικρό μέγεθος του δείγματος και της ομάδας των YM μπορεί να έχουν αποτρέψει κάποια αποτελέσματα από την επίτευξη στατιστικής σημαντικότητας. Από την άλλη πλευρά, τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης μπορούν να χρησιμεύσουν ως προκαταρκτικά δεδομένα για περαιτέρω διερεύνηση αυτού του ζητήματος. Δεύτερον, στην εποχή των DAAs, η επίδραση της αντιιικής θεραπείας με regIFN/RBV μπορεί να φαίνεται παρωχημένη. Ωστόσο, οι μεταβλητές που μετρήθηκαν στο BSL είναι ανεξάρτητες της επικείμενης θεραπείας και οι μεταβλητές που μετρήθηκαν στο EOT επέμειναν για μεγάλο χρονικό διάστημα μετά τη θεραπεία, υποδεικνύοντας μια ομαλοποίηση της ανοσολογικής απόκρισης που επιτεύχθηκε με την ιική κάθαρση. Τέλος, περιορισμένα είναι τα δεδομένα για την αποτελεσματικότητα της αντιιικής θεραπείας στην κρυοσφαιριναιμία της HCV λοίμωξης, ακόμη και στην εποχή των DAAs.¹⁹⁵

5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στους ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C, με ή χωρίς μικτή κρυοσφαιριναιμία, παρατηρείται έντονη δραστηριότητα των κυτταροκινών, που σχετίζεται με την ίδια την νόσο (όπως εκφράστηκε από τα επίπεδα των αρχικών τιμών των κυτταροκινών - BSL), με την επίδραση της αντιιικής θεραπείας (όπως εκφράστηκε από τα επίπεδα των κυτταροκινών στο τέλος της θεραπείας - EOT), καθώς και με την ιική κάθαρση (όπως εκφράστηκε από τα επίπεδα των κυτταροκινών 6 μήνες μετά το τέλος της θεραπείας - 6MoEOT).

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης υποστηρίζουν ότι η επιδεινούμενη προφλεγμονώδης κατάσταση (επίπεδα IL-17a) κατά τη διάρκεια της θεραπείας μπορεί να έχει επιβλαβή επίδραση και να οδηγήσει σε αποτυχία της θεραπείας. Παράλληλα, επιβεβαιώνεται ότι η ανοσιακή απόκριση όπως εκφράστηκε από την αύξηση του BAFF, ενισχύθηκε από τη θεραπεία με IFN-α και στις δυο ομάδες, αλλά μόνο η σημαντικά ενισχυμένη απόκριση οδήγησε σε παρατεταμένη ιολογική ανταπόκριση (SVR).

Σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C, προ της θεραπείας παρατηρήθηκαν μειωμένες τιμές της βιταμίνης D και αύξηση της IL-17A χωρίς συσχέτιση μεταξύ τους, αλλά ούτε και με τα επίπεδα της ίνωσης, όπως αυτά εκτιμήθηκαν από την ελαστογραφία του ήπατος. Αναλύοντας όμως με τα μικτά γραμμικά μοντέλα, φάνηκε μια αλληλεπίδραση μεταξύ των συγκεντρώσεων της IL-17A και της βιταμίνης D κατά τη διάρκεια της θεραπείας, ένα εύρημα που μπορεί να εξηγήσει και τα χαμηλά επίπεδα της βιταμίνης D στην ομάδα των ασθενών.

Τέλος, η υπερέκφραση τόσο του BAFF όσο και της IL-17A που σχετίστηκε με την παρουσία μικτής κρυοσφαιριναιμίας, υποδεικνύει τη στενή σχέση των κυτταροκινών με τη συχνότερη εξωηπατική εκδήλωση της χρόνιας ηπατίτιδας C. Η μικτή κρυοσφαιριναιμία θέτει θεραπευτικές προκλήσεις ακόμα και στην εποχή των άμεσα δρώντων αντιιικών παραγόντων (DAAs). Από την άποψη αυτή, πρόσθετες πληροφορίες σχετικά με το θέμα αυτό ενισχύουν την προσπάθεια

μας να κατανοήσουμε τους πολύπλοκους μηχανισμούς που εμπλέκονται στους ασθενείς με λοίμωξη από τον ιό της ηπατίτιδα C.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Εισαγωγή: Αρκετές μελέτες παρουσίασαν αντικρουόμενα αποτελέσματα σχετικά με τις ανοσολογικές αντιδράσεις σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C (CHC) και μικτή κρυοσφαιριναιμία (MC). Η σημασία του ενεργοποιητικού παράγοντα των B λεμφοκυττάρων (BAFF) στη MC έχει περιγραφεί προηγουμένως, αλλά ο ρόλος της ιντερλευκίνης (IL)-17A είναι λιγότερο σαφής.

Σκοπός: Οι κύριοι στόχοι της παρούσας μελέτης ήταν ο προσδιορισμός των επιπέδων των κυτταροκινών BAFF και IL-17A σε ασθενείς που πάσχουν από CHC με ή χωρίς MC, και η διερεύνηση της κινητικής τους κατά τη διάρκεια της αντιιικής θεραπείας με pegIFN/RBV και 6 μήνες μετά το τέλος αυτής. Επιπρόσθετα, θέλαμε να αξιολογήσουμε τη σχέση των κυτταροκινών με τα επίπεδα της vitD, το βαθμό της ηπατικής ίνωσης και την ανταπόκριση στην αντιιική θεραπεία. Παράλληλα, έγινε συσχέτιση των αποτελεσμάτων με δημογραφικά και εργαστηριακά στοιχεία των υπό μελέτη ασθενών.

Μέθοδοι: Μετρήθηκαν οι συγκεντρώσεις της IL-17A, του BAFF και της 25-OH βιταμίνης D στον ορό 34 ασθενών με CHC κατά την έναρξη, το τέλος της θεραπείας και 6 μήνες μετά το τέλος της θεραπείας με πεγκυλιωμένη ιντερφερόνη-α και ριμπαβιρίνη, έναντι 12 υγιών μαρτύρων.

Αποτελέσματα: Μελετήσαμε τριάντα τέσσερις ασθενείς (20 άνδρες με μέση ηλικία $40,7 \pm 9,2$ έτη, 12 με γονότυπο 1 ή 4 και 22 με γονότυπο 2 ή 3), εκ των οποίων το 64,7% πέτυχε παρατεταμένη ιολογική ανταπόκριση (SVR). Η MC ανιχνεύθηκε στο 52,9% των ασθενών. Υψηλότερα επίπεδα και των δύο κυτταροκινών βρέθηκαν στους ασθενείς με MC σε σύγκριση με εκείνους χωρίς MC. Οι ασθενείς που πέτυχαν SVR είχαν υψηλότερα επίπεδα IL-17A και χαμηλότερα επίπεδα BAFF προ της θεραπείας, σε σύγκριση με εκείνους χωρίς SVR. Η IL-17A παρουσίασε μείωση κατά τη διάρκεια και μετά τη θεραπεία στους ασθενείς που ανταποκρίθηκαν στη θεραπεία, ενώ παρατηρήθηκε αύξηση στους μη ανταποκρινόμενους. Οι ασθενείς με CHC εμφάνισαν χαμηλά επίπεδα βιταμίνης D σε σύγκριση με τους HC. Επιπλέον,

οι αλλαγές στην IL-17A κατά την περίοδο θεραπείας συσχετίστηκαν σημαντικά με τις μεταβολές της βιταμίνης D ($\beta = -0.04$, $SE = 0.02$, $P = 0.046$). Δεν παρατηρήθηκε διαφορά στις τιμές των IL-17A, BAFF και βιταμίνης D μεταξύ των ασθενών με κίρρωση ($n=14$) και των ασθενών χωρίς κίρρωση.

Συμπεράσματα: Οι ασθενείς με CHC με ασυμπτωματική MC είχαν αυξημένα επίπεδα IL-17A και BAFF. Σε άτομα που ανταποκρίνονται, τα επίπεδα της IL-17A μειώνονται σημαντικά, ενώ ο BAFF αυξάνεται κατά τη διάρκεια της θεραπείας. Αλληλεπίδραση μεταξύ των συγκεντρώσεων της IL-17A και της βιταμίνης D αποκαλύφθηκε κατά τη διάρκεια της αντιιικής θεραπείας.

Λέξεις κλειδιά: ιντερλευκίνη 17A, ενεργοποιητικός παράγοντας των B λεμφοκυττάρων, βιταμίνη D, χρόνια ηπατίτιδα C, μικτή κρυοσφαιριναιμία

ABSTRACT

Background: Several studies have provided conflicting results regarding the immune responses in chronic hepatitis C (CHC) patients with mixed cryoglobulinemia (MC). The importance of B-cell activating factor (BAFF) in MC has been described, but the role of interleukin (IL)-17A is less clear.

Aim of the Study: The main objectives were to determine the levels of BAFF and IL-17A cytokines in patients with CHC with or without MC, and to investigate their kinetics during antiviral treatment with pegylated interferon- α /ribavirin and 6 months after the end of it. In addition, the aim was to evaluate the possible correlation of cytokines with vitD levels, the degree of hepatic fibrosis and the response to antiviral therapy. Furthermore, the results were correlated with demographic and laboratory data of the patients under study.

Methods: Serum concentrations of IL-17A, BAFF and 25-OH vitamin D were measured in 34 CHC patients at baseline, end of treatment, and 6 months post-treatment with pegylated interferon- α and ribavirin, versus 12 healthy controls.

Results: Thirty-four patients (20 male, mean age 40.7 ± 9.2 years, 12 of genotype 1 or 4, 22 of genotype 2 or 3) were included, of whom 64.7% achieved a sustained virological response (SVR). MC was detected in 52.9% of the patients. Higher levels of both cytokines were found in patients with MC compared to those without. Patients who achieved SVR had higher pretreatment IL-17A and lower BAFF levels compared to those without SVR. IL-17A was downregulated during and following treatment in responders, whereas upregulation was observed in non-responders. CHC patients demonstrated low vitamin D levels compared to HC. Moreover, the changes in IL-17A over the treatment period were significantly associated with vitamin D changes ($\beta = -0.04$, $SE = 0.02$, $P = 0.046$). No difference in IL-17A, BAFF and vitamin D values was seen between patients with cirrhosis ($n = 14$) and those without.

Conclusions: CHC patients with asymptomatic MC have increased levels of IL-17A and BAFF. IL-17A levels decline significantly while BAFF increases during treatment in responders. An interplay between IL-17A and vitamin D concentrations was revealed during the antiviral treatment.

Keywords: Interleukin 17A, B-cell activating factor, vitamin D, chronic hepatitis C, mixed cryoglobulinemia

ΠΙΝΑΚΕΣ ΚΑΙ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΑ (από κεφάλαιο 3 αποτελέσματα/ειδικό μέρος)

Πίνακας 1: Δημογραφικά χαρακτηριστικά των υπό μελέτη ασθενών με χρόνια ηπατίτιδα C (CHC) και των υγιών μαρτύρων (YM)

	CHC	YM
	N (%)	N (%)
Φύλο		
Ανδρες	20 (58.8)	7 (58)
Γυναίκες	14 (41.2)	5 (42)
Ηλικία, μέση (SD)	40.7 (9.2)	40,4 (11,6)
Εθνικότητα		
Ελληνική	24 (70.6)	12 (100)
Άλλη	10 (29,4)	0 (0)
Αλβανία	2 (5,9)	
Αίγυπτος	2 (5.9)	
Γεωργία	2 (5.9)	
Πακιστάν	3 (8,8)	
Ρουμανία	1 (2,9)	
BMI, μέση (SD)	25.8 (4.4)	24,2 (3,6)
Καπνιστές νυν, μέση	23 (67,5)	3 (25)

Πίνακας 2: Πιθανοί τρόποι μετάδοσης του ιού της ηπατίτιδας C (HCV)

Οδός	HCV ασθενείς, n=34 (%)
Άγνωστη	17 (50%)
Ενδοφλέβια χρήση ουσιών	12 (35%)
Μετάγγιση	3 (9%)
Νοσηλεύτρια	1 (3%)
Δερματοστιξία	1 (3%)

Πίνακας 3: Εργαστηριακά χαρακτηριστικά των υπό μελέτη ασθενών με CHC

	N (%)
HCV-RNA (log10 IU/mL), Μέση (SD)	2.125.348 (2.507.660)
HCV-RNA iu/ml (αρχική τιμή)	
<400.000	11 (32.4)
>400.000	23 (67.6)
Γονότυπος	
1b	9 (26)
2	1 (3)
3a/c	21 (62)
4	3 (9)
Κρυοσφαιριναιμία (MC)	
Ναι	18 (52.9)
Όχι	16 (47.1)
Ελαστογραφία (TE)	
>12,5 kPa	14 (41)
<12,5 kPa	20 (58,9)

Αιμοσφαιρίνη μέση (g/dl) (SD)	14,2 (1,4)
Λευκοκύτταρα μέση/mm ³ (SD)	6910 (2023)
Λεμφοκύτταρα μέση/mm ³ (SD)	2451(506)
Αιμοπετάλια (x10 ³ /mm ³) (SD)	212 (62)
TKE	16 (13)
AST, μέση (IU/L) (SD)	55 (28,6)
ALT, μέση (IU/L) (SD)	85 (54)
ALP, μέση (IU/L) (SD)	83 (34)
γGT, μέση (IU/L) (SD)	47(32)
Χολερυθρίνη, μέση (mg/dl) (SD)	1 (0,3)
Αλβουμίνη μέση (g/dl) (SD)	4,3 (0,4)
Κρεατινίνη ορού μέση, mg/dl (SD)	0,8 (0,21)
Γλυκόζη νηστείας, mg/dl (SD)	94 (24)

MC: μικτή κυοσφαιριναιμία, SD: σταθερή απόκλιση, BMI: body mass index, AST: ασπαρτική αμινοτρανσφεράση, TKE: ταχύτητα καθίζησης ερυθρών, ALT: alanine aminotransferase, ALP: αλκαλική φωσφατάση, γGT: γ γλουταμινο-τρανσφεράση, HCV-RNA: hepatitis C virus ribonucleic acid

Πίνακας 4: Τα επίπεδα των IL-17A (pg/ml), BAFF (ng/ml) και της βιταμίνης D (ng/ml) σε όλους τους ασθενείς με HCV και οι μεταβολές κατά τη διάρκεια της θεραπείας

	BSL	EOT	6Mo-EOT	Μεταβ ολή BSL σε EOT	Μεταβ ολή EOT σε 6Mo- EOT				
	Mean (SD)	Mean (SD)	Mean (SD)	Mean (SD)	Mean (SD)	p ¹	p ²	p ³	p ⁴
IL17A⁺	16.6 (31.95)	9.66 (22.02)	8.67 (22.6)	-6.94 (18.35)	-0.99 (6.09)	1.000	0.700	1.000	0.392
BAFF⁺	0.11 (0.31)	0.3 (0.62)	0.34 (1.07)	0.19 (0.54)	0.04 (0.57)	0.043	0.991	0.366	0.004
VitD	22.21 (8.87)	22.93 (7.21)	18.01 (6.91)	0.72 (8.39)	-4.92 (5.87)	1.000	0.011	0.167	0.002

¹ p-value for time effect (baseline to end of therapy measurement); ² p-value for time effect (end of therapy to 6 months measurement); ³ p-value for time effect (baseline to 6 months measurement); ⁴ p-value for overall time effect; ⁺based on logarithmic transformations, BSL: baseline, EOT: end of therapy, 6ML-EOT: 6 months after the end of therapy, IL-17A: interleukin 17A, BAFF: B-cell activating factor, HCV: hepatitis C virus, VitD: βιταμίνη D

Πίνακας 5: Οι τιμές των IL-17A (pg/ml), BAFF (ng/ml) και βιταμίνης D (ng/ml) στους ασθενείς με ή χωρίς MC και οι μεταβολές κατά τη διάρκεια της θεραπείας

		BSL	EOT	6Mo-EOT	Μεταβ ολή BSL to EOT	Μεταβ ολή EOT to 6Mo EOT				
		Mean (SD)	Mean (SD)	Mean (SD)	Mean (SD)	Mean (SD)	P ²	P ³	P ⁴	P ⁵
IL17A ⁺										
MC	No	6.73 (10.85)	4.2 (4.42)	4.17 (8.02)	-2.52 (9.1)	-0.03 (6.42)	1.000 ⁺	0.730 ⁺	1.00 ⁺	0.855 ⁺
	Yes	25.38 (41.29)	14.51 (29.51)	12.67 (29.98)	-10.86 (23.36)	-1.85 (5.83)	1.000 ⁺	1.000 ⁺	1.00 ⁺	
P ¹		0.021⁺	0.180 ⁺	0.079 ⁺						
BAFF ⁺										
MC	No	0.02 (0.04)	0.11 (0.23)	0.06 (0.15)	0.09 (0.23)	-0.05 (0.18)	0.903	1.000	1.000	0.351
	Yes	0.18 (0.42)	0.47 (0.79)	0.58 (1.44)	0.29 (0.7)	0.1 (0.76)	0.047	1.000	0.243	
P ¹		0.047	0.071	0.093						
VitD										
MC	No	21.34 (10.44)	22.07 (8.69)	16.99 (7.91)	0.73 (7.64)	-5.08 (5.95)	1.000	0.005	0.072	0.909
	Yes	22.98 (7.44)	23.68 (5.75)	18.92 (5.98)	0.71 (9.23)	-4.76 (5.98)	1.000	0.006	0.076	
P ¹		0.599	0.524	0.426						

¹ p-value for group effect; ² p-value for time effect (baseline to end of therapy measurement); ³ p-value for time effect (end of therapy to 6 months measurement); ⁴ p-value for time effect (baseline to 6 months measurement); ⁵ Repeated measurements ANOVA. Effects reported include significant differences between the two groups in the degree of change in each particular variable during the study period; ⁺analysis was based on logarithmic transformations, BSL: baseline, EOT: end of therapy, 6ML-EOT: 6 months after the end of therapy, IL-17A: interleukin 17A, BAFF: B-cell activating factor, VitD: βιταμίνη D

Πίνακας 6: Ποσοστά παρατεταμένης ιολογικής ανταπόκρισης (SVR) με βάση τον γονότυπο

Γονότυπος	1b	2	3a/c	4	Όλοι
Ασθενείς (n)	9	1	21	3	34
SVR (%)	22,2	100	76,2	100	64,7

Πίνακας 7: Οι τιμές των IL-17A (pg/ml), BAFF (ng/ml) και βιταμίνης D (ng/ml) στους ασθενείς με ή χωρίς SVR και οι μεταβολές κατά τη διάρκεια της θεραπείας

		BSL	EOT	6MA-EOT	BSL to EOT	EOT to 6MA-EOT				
		Mean (SD)	Mean (SD)	Mean (SD)	Mean (SD)	Mean (SD)	P ²	P ³	P ⁴	P ⁵
IL17A ⁺										
SVR	No	4.58 (12.37)	7.42 (6.92)	7.17 (9.06)	2.84 (12.05)	-0.25 (7.36)	0.020	1.000	0.076	0.001
	Yes	23.15 (37.37)	10.88 (27.06)	9.48 (27.53)	-12.27 (19.2)	-1.4 (5.42)				
P ¹		0.040	0.799	0.489						
BAFF ⁺										
SVR	No	0.24 (0.5)	0.28 (0.5)	0.19 (0.43)	0.04 (0.21)	-0.09 (0.12)	1.000	0.453	1.000	0.010
	Yes	0.03 (0.07)	0.32 (0.68)	0.42 (1.3)	0.28 (0.64)	0.1 (0.69)				
P ¹		0.045	0.978	0.652						
VitD										
SVR	No	19.55 (6.57)	20.84 (4.02)	18.36 (4.02)	1.28 (6.14)	-2.48 (4.66)	1.000	0.419	1.000	0.029
	Yes	23.66 (9.74)	24.06 (8.33)	17.83 (8.16)	0.41 (9.52)	-6.24 (6.14)				
P ¹		0.202	0.218	0.834						

¹ p-value for group effect; ² p-value for time effect (baseline to end of therapy measurement); ³ p-value for time effect (end of therapy to 6 months measurement); ⁴ p-value for time effect (baseline to 6 months measurement); ⁵ Repeated measurements ANOVA. Effects reported include significant differences between the two groups in the degree of change in each particular variable during the study period; *analysis was based on logarithmic transformations, BSL: baseline, EOT: end of therapy, 6ML-EOT: 6 months after the end of therapy, IL-17A: interleukin 17A, BAFF: B-cell activating factor. VitD: βιταμίνη D

Πίνακας 8: Διαφορές ανάμεσα σε διαφορετικές παραμέτρους σε ασθενείς με κίρρωση και χωρίς κίρρωση

	Χωρίς Κίρρωση (N=20)		Κίρρωση (N=14)		P
	Mean	SD	Mean	SD	
IL-17A (BSL)	12,12	17,43	29,64	53,19	0,363
IL-17A (EOT)	5,7	6,27	22,55	43,55	0,436
IL-17A (6MoEOT)	4,93	7,12	20,81	44,8	0,363
BAFF (BSL)	0,126	0,354	0,039	0,07	0,567
BAFF (EOT)	0,319	0,695	0,254	0,268	0,428
BAFF (6MoEOT)	0,382	1,226	0,185	0,192	0,15
VitD (BSL)	22,26	8,95	22,05	9,24	0,956
VitD (EOT)	23	6,3	22,7	10,1	0,928
VitD (6MoEOT)	17,4	6,1	19,9	9,3	0,393
IL-17A: ιντερλευκίνη 17A, BAFF: B ενεργοποιητικός παράγοντας των λεμφοκυττάρων, vitD: βιταμίνη D, BSL: Αρχικές τιμές, EOT: τέλος θεραπείας, 6MoEOT: 6 μήνες μετά το τέλος της θεραπείας, Mean: Μέση τιμή, SD: σταθερή απόκλιση					

Πίνακας 9: Διαφορές στις IL-17A, BAFF και vitD ανάμεσα στους ασθενείς με κίρρωση και αυτούς με ελαστογραφία <7kPa

	Ελαστογραφία Ήπατος				
	<7kPa		>12,5kPa		P
	Mean	SD	Mean	SD	
IL-17A (BSL)	7,05	12,55	26,14	42,57	0,252
BAFF (BSL)	0,082	0,146	0,149	0,47	0,786
VitD (BSL)	22,83	10,54	21,39	8,38	0,693
IL-17A: ιντερλευκίνη 17A, BAFF: B ενεργοποιητικός παράγοντας των λεμφοκυττάρων, vitD: βιταμίνη D, BSL: αρχικές τιμές, Mean: μέση, SD: σταθερά απόκλισης					

Πίνακας 10: Διαφορές στις αρχικές τιμές των IL-17A, BAFF και vitD ανάμεσα στους ασθενείς με HCV RNA<400.000 iu/ml και >400.000 iu/ml

	HCV-RNA iu/ml (έναρξης)				
	<400.000		>400.000		P
	Mean	SD	Mean	SD	
IL17A (BSL)	18,28	22,86	15,27	33,02	0,737
BAFF (BSL)	0,07	0,161	0,122	0,366	0,300
vitD (BSL)	24,44	10,47	21,14	8,04	0,317

IL-17A: ιντερλευκίνη 17A, BAFF: B ενεργοποιητικός παράγοντας των λεμφοκυττάρων, vitD: βιταμίνη D, BSL: αρχικές τιμές, HCV RNA: Ριβονουκλεϊνικό οξύ του ιού της ηπατίτιδας C (ιικό φορτίο)

Πίνακας 11: Συντελεστές συσχέτισης μεταξύ ιντερλευκίνης 17A (IL-17A), ενεργοποιητικού παράγοντα των Β λεμφοκυττάρων (BAFF) και βιταμίνης D (vitD) στους διάφορους χρόνους της μελέτης (BSL, EOT και 6MoEOT)

		BAFF (BSL)	BAFF (EOT)	BAFF (6MoEOT)	VitD (BSL)	VitD (EOT)	VitD (6MoEOT)
IL17 (BSL)	r ⁺	-0.26	0.00	0.14	-0.05	0.22	0.32
	P	0.133	0.979	0.424	0.786	0.208	0.061
IL17 (EOT)	r ⁺	-0.02	0.15	0.14	-0.04	-0.14	0.22
	P	0.894	0.389	0.414	0.841	0.416	0.203
IL17 (6MoEOT)	r ⁺	0.00	0.21	0.19	-0.21	-0.11	0.18
	P	0.979	0.244	0.275	0.242	0.544	0.322
BAFF (BSL)	r ⁺				-0.16	0.03	-0.56
	P				0.358	0.852	0.005
BAFF (EOT)	r ⁺				-0.41	-0.08	-0.52
	P				0.017	0.663	0.009
BAFF (6MoEOT)	r ⁺				-0.37	-0.04	-0.01
	P				0.030	0.841	0.959

*Spearman's correlation coefficient

BSL: αρχικές τιμές, EOT: τέλος θεραπείας, 6MoEOT: 6 μήνες μετά το τέλος της θεραπείας, IL-17A: ιντερλευκίνη 17A, BAFF: B ενεργοποιητικός παράγοντας των λεμφοκυττάρων, vitD: βιταμίνη D

Πίνακας 12: Συσχετίσεις των αρχικών βιοχημικών τιμών με την ιντερλευκίνη 17A, τον ενεργοποιητικό παράγοντα των B λεμφοκυττάρων και τη βιταμίνη D

		IL-17A (BSL)	BAFF (BSL)	VitD (BSL)
Hb	r	-0.20	-0.40	-0.17
	P	0.261	0.018	0.322
WBC	r	0.13	-0.15	-0.18
	P	0.451	0.394	0.306
Lymph	r	-0.27	0.36	0.16
	P	0.122	0.036	0.359
AST	r	-0.19	0.20	0.02
	P	0.289	0.254	0.917
ALT	r	-0.07	0.17	0.05
	P	0.685	0.326	0.771
ALP	r	-0.13	-0.02	0.15
	P	0.467	0.901	0.398
γGT	r	-0.04	0.08	-0.05
	P	0.831	0.643	0.787
Ur	r	0.19	0.10	-0.25
	P	0.272	0.564	0.154
Cr	r	0.06	-0.47	0.02
	P	0.746	0.005	0.930
Bil	r	-0.26	0.22	0.23
	P	0.145	0.204	0.200
	r	0.06	-0.13	0.19

Alb	P	0.717	0.448	0.281
IgG	r	0.08	0.01	0.06
	P	0.641	0.940	0.749
IgA	r	-0.25	-0.08	-0.25
	P	0.159	0.634	0.146
IgM	r	0.14	0.33	-0.18
	P	0.430	0.059	0.314

Hb: Αιμοσφαιρίνη, WBC: Λευκά αιμοσφαίρα, Lymph: λεμφοκύτταρα, AST: ασπαρτική τρανσαμινάση, ALT: αμινοτρανσφεράση της αλανίνης, ALP: αλκαλική φωσφατάση, γGT: γλουταμινοτρανσφεράση, Ur: ουρία, Cr: κρεατινίνη, Bil: Χολερυθρίνη, Alb: αλβουμίνη, IgG: ανοσοσφαιρίνη G, IgA: ανοσοσφαιρίνη A, IgM: ανοσοσφαιρίνη M, IL-17A: ιντερλευκίνη 17A, BAFF: Β ενεργοποιητικός παράγοντας των λεμφοκυττάρων, vit.D: βιταμίνη D

Πίνακας 13: Σύνοψη βασικών συμπερασμάτων - Τι γνωρίζαμε ήδη

- Η MC της CHC σχετίζεται με παθολογικές ανοσιακές αποκρίσεις που μεσολαβούνται από τα T και τα B κύτταρα.
- Η IL-17A και ο BAFF είναι υψηλότερα στον ορό ασθενών με CHC έναντι υγιών ατόμων.
- Η θεραπεία με pegIFN/RBV προκαλεί μείωση των επιπέδων της IL-17A και αύξηση του BAFF.
- Αύξηση των επιπέδων της IL-17A σχετίζεται με σημαντική μείωση της vitD.

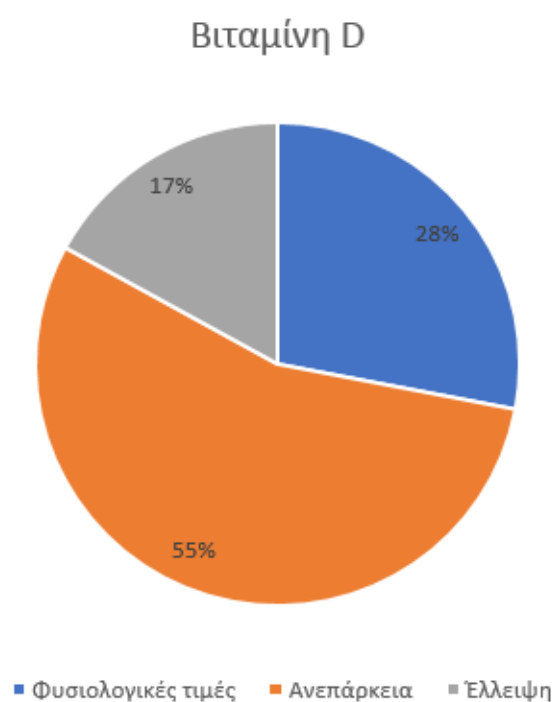
CHC: χρόνια ηπατίτιδα C, MC: μικτή κρυοσφαιριναιμία, IL-17A: ιντερλευκίνη 17A, BAFF: B ενεργοποιητικός παράγοντας των λεμφοκυττάρων, vit.D: βιταμίνη D, pegIFN/RBV: πεγκυλιωμένη ιντερφερόνη, ριμπαβιρίνη

Πίνακας 14: Σύνοψη βασικών συμπερασμάτων - Ποια είναι τα νέα ευρήματα

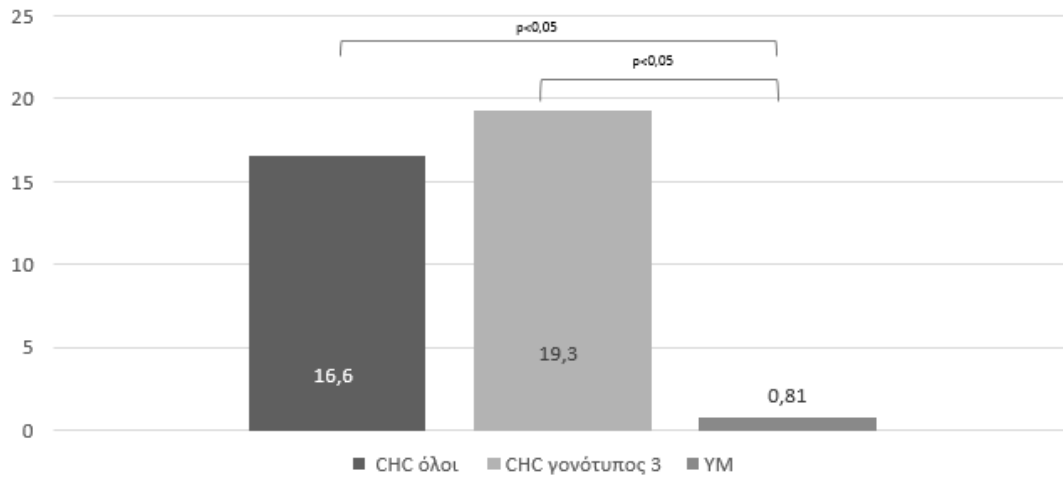
- Τα επίπεδα της IL-17A βρέθηκαν σημαντικά αυξημένα σε ασθενείς με CHC με MC.
- Τα υψηλότερα επίπεδα της IL-17A και τα χαμηλότερα επίπεδα του BAFF, θα μπορούσαν να σχετίζονται με παρατεταμένη ιολογική ανταπόκριση στην pegIFN/RBV και έτσι να αποτελέσουν δείκτη ανταπόκρισης στην αντιική θεραπεία.
- Παρατηρήθηκε μια αλληλεπίδραση μεταξύ των επιπέδων της IL-17A και της vitD που σχετίστηκε με την αντιική θεραπεία.
- Δεν παρατηρήθηκε σημαντική σχέση μεταξύ BAFF και vitD.

CHC: χρόνια ηπατίτιδα C, MC: μικτή κρυοσφαιριναιμία, IL-17A: ιντερλευκίνη 17A, BAFF: B ενεργοποιητικός παράγοντας των λεμφοκυττάρων, vit.D: βιταμίνη D, pegIFN/RBV: πεγκυλιωμένη ιντερφερόνη, ριμπαβιρίνη

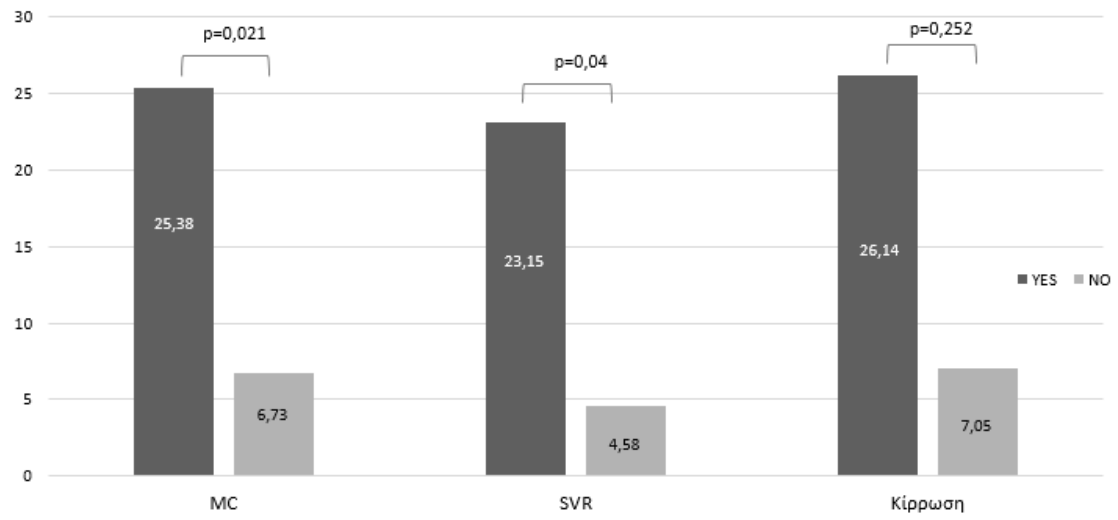
Διάγραμμα 1: Ποσοστά βιταμίνης D στους ασθενείς με χρόνια



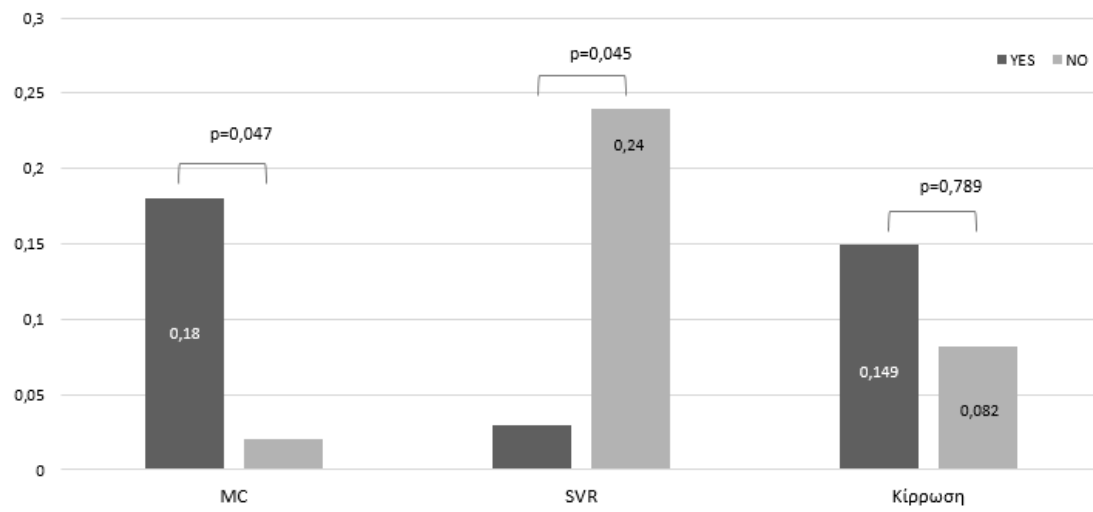
Διάγραμμα 2: Σύγκριση επιπέδων IL-17A (pg/ml) μεταξύ ασθενών με χρόνια ηπατίτιδα C (CHC) και υγιών μαρτύρων (ΥΜ)



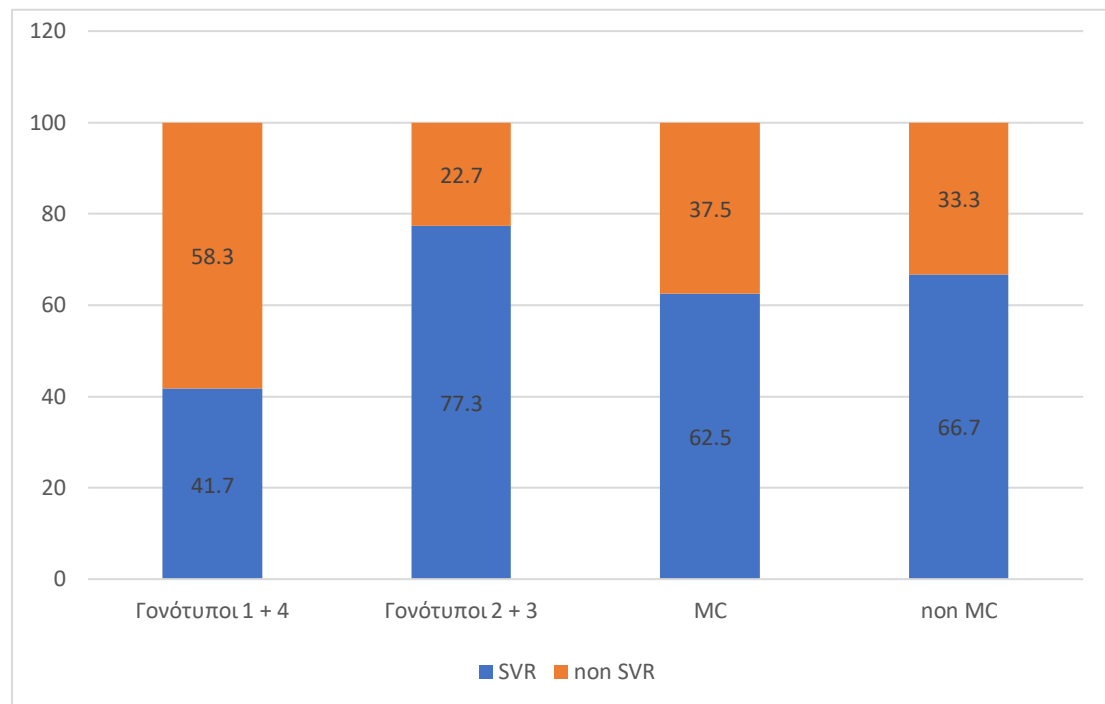
Διάγραμμα 3: Συγκρίσεις Επιπέδων IL-17A (pg/ml)



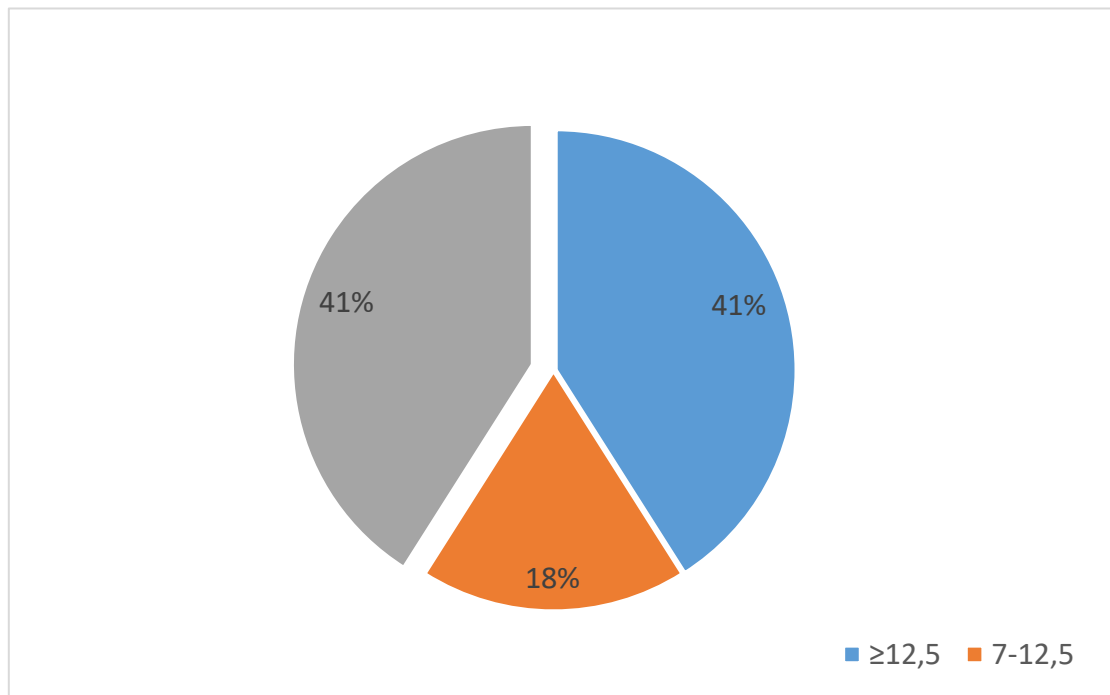
Διάγραμμα 4: Συγκρίσεις επιπέδων BAFF (ng/ml)



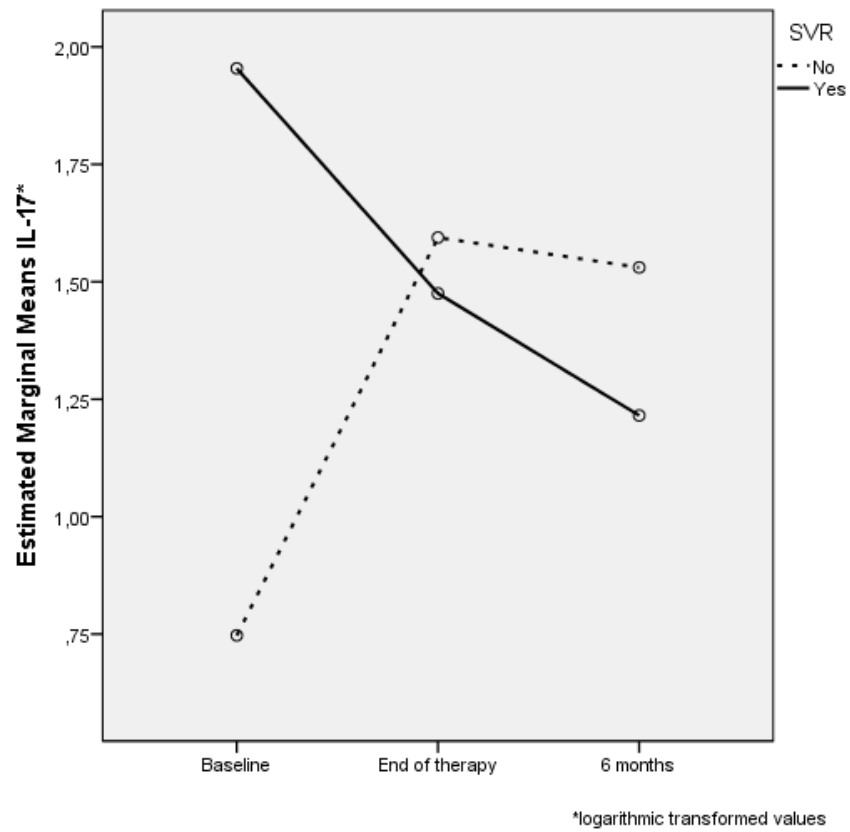
Διάγραμμα 5: Ποσοστά ιολογικής ανταπόκρισης (SVR)



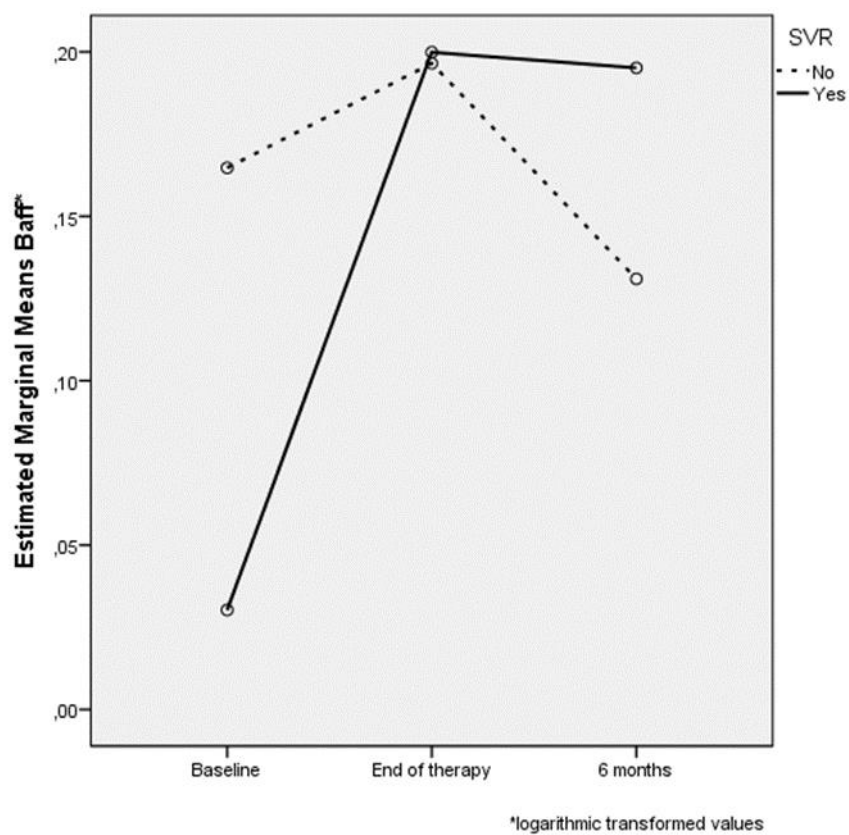
Διάγραμμα 6: Ποσοστά των ασθενών με χρόνια ηπατίτιδα C αναλόγως των αποτελεσμάτων της ελαστογραφίας (kPa)



Διάγραμμα 7: Μεταβολές των επιπέδων της ιντερλευκίνης 17A (IL-17A) αναλόγως της παρατεταμένης ιολογικής ανταπόκρισης (SVR)



Διάγραμμα 7: Μεταβολές του ενεργοποιητικού παράγοντα των Β λεμφοκυττάρων (BAFF) αναλόγως της παρατεταμένης ιολογικής ανταπόκρισης (SVR)



ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- 1 Alan Franciscus. A brief history of hepatitis C. HCSP – HCV Education and Support/Version 4.4/Feb 2017
- 2 Daw MA, El-Bouzedi AA, Ahmed MO, Dau AA, Agnan MM, Drah AM. Geographic integration of hepatitis C virus: A global threat. *World J Virol.* 2016 Nov 12; 5(4): 170–182
- 3 Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, Overby LR, Bradley DW, Houghton M. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science* 1989, 244:359-362
- 4 Mohamed AA, Elbedewy TA, El-Serafy M, El-Toukhy N, Ahmed W, and Din ZAE. Hepatitis C virus: A global view. *World J Hepatol.* 2015;18;7(26): 2676-2680
- 5 Cornberg M, Razavi H, Alberti A ET AL. A systematic review of hepatitis C virus epidemiology in Europe, Canada and Israel. *Liver Int.* 2011 Jul;31 Suppl 2:30-60. doi: 10.1111/j.1478-3231.2011.02539.x
- 6 Gountas I, Sypsa V, Papatheodoridis G, Souliotis K, Athanasakis K, Razavi H, ET AL Economic evaluation of the hepatitis C elimination strategy in Greece in the era of affordable direct-acting antivirals. *World J Gastroenterol.* 2019 Mar 21; 25(11): 1327–1340.
- 7 Raptopoulou M, Touloumi G, Tzourmakliotis D, Nikolopoulou G, Dimopoulou M, Giannoulis G, et al. Significant epidemiological changes in chronic hepatitis C infection: results of the nationwide HEPNET-GREECE cohort study. *Hippokratia.* 2011;15(1):26-31
- 8 Bode JG, Brenndorfer ED, Karthe J, Haussinger D. Interplay between host cell and hepatitis C virus in regulating viral replication. *BiolChem* 2009, 390:1013–1032
- 9 Simmonds P, Bukh J, Combet C, Deléage G, Enomoto N, Feinstone S, et al. Consensus proposals for a unified system of nomenclature of hepatitis C virus genotypes. *Hepatology.* 2005;42(4):962-73

-
- 10 Smith DB, Bukh J, Kuiken C, Muerhoff AS, Rice CM, Stapleton JT, Simmonds P. Expanded classification of hepatitis C virus into 7 genotypes and 67 subtypes: updated criteria and genotype assignment web resource. *Hepatology*. 2014;59(1):318-27
- 11 Perelson AS, Herrmann E, Micol F, Zeuzem S. New kinetics models for the hepatitis C virus. *Hepatology* 2005, 42:749-754
- 12 Maheshwari A, Ray S, Thuluvath PJ. Acute hepatitis C. *Lancet*. 2008; 372(9635):321-32
- 13 Ansaldi F, Orsi A, Sticchi L, ET AL. Hepatitis C virus in the new era: Perspectives in epidemiology, prevention, diagnostics and predictors of response to therapy. *World J Gastroenterol*. 2014 Aug 7; 20(29): 9633–9652.
- 14 Negro F, Forton D, Craxi A, Sulkowski MS, Feld JJ, Manns MP. Extrahepatic Morbidity and Mortality of Chronic Hepatitis C. *Gastroenterology*. 2015;149(6):1345-60
- 15 Firdaus R, Saha K, Biswas A, Sadhukhan PC. Current molecular methods for the detection of hepatitis C virus in high risk group population: A systematic review. *World J Virol*. 2015;4(1):25-32
- 16 Dibba P, Cholanckeril R, Li AA, Patel M, Fayek M, Dibble C, ET AL. Hepatitis C in Pregnancy Diseases. 2018;6(2): 31. doi: 10.3390/diseases6020031
- 17 Meltzer M, Franklin EC, Elias K, McCluskey RT, Cooper N. Cryoglobulinemia. A clinical and laboratory study. II. Cryoglobulins with rheumatoid factor activity. *Am J Med*. 1966;40:837–56.
- 18 Ferri C, Zignego AL, Pileri SA. Cryoglobulins (review) *J Clin Pathol*. 2002; 55: 4–13.
- 19 Kamal SM. Acute hepatitis C: a systematic review. *Am J Gastroenterol*. 2008; 103(5):1283-97; quiz 1298 (ISSN: 1572-0241)
- 20 McHutchison JG, Gordon SC, Schiff ER, Shiffman ML, Lee WM, Rustgi VK, Goodman ZD, Ling MH, Cort S, Albrecht JK. Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin as initial treatment for chronic hepatitis C. Hepatitis Interventional Therapy Group. *N Engl J Med*. 1998; 339(21):1485-92 (ISSN: 0028-4793)

-
- 21 Poynard T; Marcellin P; Lee SS; Niederau C; Minuk GS; Ideo G; Bain V; Heathcote J; Zeuzem S; Trepo C; Albrecht J. Randomised trial of interferon alpha2b plus ribavirin for 48 weeks or for 24 weeks versus interferon alpha2b plus placebo for 48 weeks for treatment of chronic infection with hepatitis C virus. International Hepatitis Interventional Therapy Group (IHIT). *Lancet*. 1998; 352(9138):1426-32 (ISSN: 0140-6736)
- 22 Manns MP; McHutchison JG; Gordon SC; Rustgi VK; Shiffman M; Reindollar R; Goodman ZD; Koury K; Ling M; Albrecht JK Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. *Lancet*. 2001; 358(9286):958-65 (ISSN: 0140-6736)
- 23 Fried MW; Shiffman ML; Reddy KR; Smith C; Marinos G; Gonçales FL; Häussinger D; Diago M; Carosi G; Dhumeaux D; Craxi A; Lin A; Hoffman J; Yu J Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med*. 2002; 347(13):975-82 (ISSN: 1533-4406)
- 24 Hadziyannis SJ; Sette H; Morgan TR; Balan V; Diago M; Marcellin P; Ramadori G; Bodenheimer H; Bernstein D; Rizzetto M; Zeuzem S; Pockros PJ; Lin A; Ackrill AM Peginterferon-alpha2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann Intern Med*. 2004; 140(5):346-55 (ISSN: 1539-3704);
- 25 Silva M, Poo J, Wagner F, Jackson M, Cutler D, Grace M, et al. A randomised trial to compare the pharmacokinetic, pharmacodynamic, and antiviral effects of peginterferon alfa-2b and peginterferon alfa-2a in patients with chronic hepatitis C (COMPARE). *J Hepatol*. 2006;45(2):204-13
- 26 NIH Consensus Statement on Management of Hepatitis C: 2002. NIH Consensus State Sci Statements. 2002; 19(3):1-46 (ISSN: 1553-0957)

-
- 27 Ge D; Fellay J; Thompson AJ; Simon JS; Shianna KV; Urban TJ; Heinzen EL; Qiu P; Bertelsen AH; Muir AJ; Sulkowski M; McHutchison JG; Goldstein DB. Genetic variation in IL28B predicts hepatitis C treatment-induced viral clearance. *Nature*. 2009; 461(7262):399-401 (ISSN: 1476-4687)
- 28 Qian XJ, Zhu YZ, Zhao P, Qi ZT. Entry inhibitors: New advances in HCV treatment. *Emerg Microbes Infect* 2016;5:e3.
- 29 European Association for the Study of the Liver. EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C 2018. *J Hepatol* 2018; 69:461-511
- 30 Roccatello D, Sciascia S, Rossi D, Solfietti L, Fenoglio R, Menegatti E, Baldovino S. The challenge of treating hepatitis C virus-associated cryoglobulinemic vasculitis in the era of anti-CD20 monoclonal antibodies and direct antiviral agents. *Oncotarget* 2017;8: 41764-41777
- 31 Bian DD, Zhou HY, Liu S, Duan C, Zhang JY, Jiang YY, Wang T, Chen Y, Wang Z, Zheng SJ, Duan ZP et al. Current treatment status and barriers for patients with chronic HCV infection in mainland China: A national multicenter cross-sectional survey in 56 hospitals. *Medicine (Baltimore)* 2017;96: e7885
- 32 Su AL, Pezacki JP, Wodicka L, Brideau AD, Superkova L, Thimme R, Wieland S, Bukh J, Purcell RH, Schultz PG, Chisari FV. Genomic analysis of the host response to hepatitis C virus infection. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002, 99:15669-15674
- 33 Shin EC, Seifert U, Kato T, Rice CM, Feinstone SM, Klotzel PM, Rehermann B. Virus-induced type I IFN stimulates generation of immunoproteasomes at the site of infection. *J Clin Invest* 2006, 116:3006–3014
- 34 Takahashi K, Asabe S, Wieland S, Garaigorta U, Gastaminza P, Isogawa M, Chisari FV. Plasmacytoid dendritic cells sense hepatitis C virus-infected cells, produce interferon, and inhibit infection. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; 107:7431–7436

-
- 35 Bode JG, Brenndorfe ED, Haussinger D. Hepatitis C virus (HCV) employs multiple strategies to subvert the host innate antiviral response. *Biol Chem* 2008, 389:1283–1298
- 36 Choo, Q.L., Richman, K.H., Han, J.H., Berger, K., Lee, C., Dong, C., Gallegos, C., Coit, D., Medina-Selby, R. and Barr, P.J. Genetic organization and diversity of the hepatitis C virus. *Proceedings of the national academy of sciences*, 1991, 88(6):2451-2455
- 37 Dahari H, Major M, Zhang X, Mihalik K, Rice, Perelson AS, Feinstone SM, Neumann AU. Mathematical modeling of primary hepatitis C infection: noncytolytic clearance and early blockage of virion production. *Gastroenterology* 2005, 128:1056-1066
- 38 Andoniou CE, Andrews DM, Degli-Esposti MA. Natural killer cells in viral infection: more than just killers. *Immunol Rev* 2006, 214:239–250
- 39 Moretta A. Natural Killer Cells and dendritic cells: rendezvous in abused tissues. *Nat Rev Immunol* 2002, 2:957-964
- 40 Thimme R, Wieland S, Steiger C, Ghayeb J, Reimann KA, Purcell RH, Chisari FV. CD8(+) T cells mediate viral clearance and disease pathogenesis during acute hepatitis B virus infection. *J Virol* 2003, 77:68-76
- 41 Tseng CT and Klimpel GR. Binding of the hepatitis C virus envelope protein E2 to CD81 inhibits natural killer cell functions. *J Exp Med* 2002, 195:43-9
- 42 Geissmann F, Cameron TO, Sidobre S, Manlongat N, Kronenberg M, Briskin MJ, Dustin ML, Littman DR. Intravascular immune surveillance by CXCR6+ NKT cells patrolling liver sinusoids. *PLoS Biol* 2005, 3:e113
- 43 Ymagiwa S, Matsuda Y, Ichida T, Honda Y, Takamura M, Sugahara S. Sustained response to interferon-alpha plus ribavirin therapy for chronic hepatitis C is closely associated with increased dynamism of intrahepatic natural killer and natural killer T cells. *Hepatol Res* 2008, 38:664–672

-
- 44 de Lalla C, Galli G, Aldrighetti L, Romeo R, Mariani M, Monno A, Nuti S, Colombo M, Callea F, Porcelli SA, Panina-Bordignon P, Abrignani S, Casorati G, Dellabona P. Production of profibrotic cytokines by invariant NKT cells characterizes cirrhosis progression in chronic viral hepatitis. *J Immunol* 2004, 173:1417–1425
- 45 Perella A, Atripaldi L, Bellopede P, Patarino T, Sbreglia C, Tarantino G, Sorrentino P, Conca P, Ruggiero L, and Perrella O. Flow cytometry assay of myeloid dendritic cells (mDCs) in peripheral blood during acute hepatitis C: possible pathogenetic mechanisms. *World J Gastroenterol* 2006, 12:1105–1109
- 46 Mengshol JA, Golden-Mason L, Castelblanco N, Im KA, Dillon SM, Wilson CC, Rosen HR. Impaired plasmacytoid dendritic cell maturation and differential chemotaxis in chronic hepatitis C virus: associations with antiviral treatment outcomes. *Gut* 2009, 58:964–973
- 47 Decalf J, Fernandes S, Longaman R, Ahloulay M, Audat F, Lefrerre F, Rice CM, Pol S, and Albert M. Plasmacytoid dendritic cells initiate a complex chemokine and cytokine network and are a viable drug target in chronic HCV patients. *J Exp Med* 2007, 204:2423-2437
- 48 Anthony DD, Yonkers NL, Post BA, Asaad R, Heinzl FO, Lederman MM, ET AL. Selective impairments in dendritic cell associated function distinguish HCV and HBV infection. *J Immunol* 2004, 172:4907-4916
- 49 Szabo G and Dolganiuc A. Subversion of plasmacytoid and myeloid dendritic cell functions in chronic HCV infection. *Immunobiology* 2005, 210:237-47
- 50 Bellecave P and Moradpour D. A fresh look at interferon-alpha signaling and treatment outcomes in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2008, 48:1330-1333
- 51 Neuman MG, Schmilovitz-Weiss H, Hilenrat N, Boutliere M, Marcellin P, Trepo C , ET AL. Markers of inflammation and fibrosis in Alcoholic Hepatitis and viral Hepatitis C. *International Journal of Hepatology* 2012, 2012:231210

-
- 52 Avramescu CS, Comanescu CS, Popescu SN, Turculeanu A, Balasoiu M, Popescu CF, ET AL. Correlations among the serum levels of some interleukins and the histopathological aspects in chronic viral hepatitis C. *Rom J Morphol Embryol* 2008, 49:57-62
- 53 Pompili M, Biolato M, Miele L, and Grieco A. Tumor necrosis factor- α inhibitors and chronic hepatitis C: A comprehensive literature review. *World J Gastroenterol*. 2013 Nov 28; 19(44): 7867–7873.
- 54 Ichikawa T, Nakao K, Nakata K, Yamashita M, Hamasaki K, Shigeno M, ET AL. Involvement of IL-1 β and IL-10 in IFN- α -mediated antiviral gene induction in human hepatoma cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2002, 294:414-422
- 55 Tawfik AK, Mustafa Amin AM, Yousef M, El-sayd NM, Elashry H, Elkadeem M, ET AL. IL-1 α correlates with severity of hepatitis C virus-related liver diseases *Dove press* 2018;11;289-295 DOI <https://doi.org/10.2147/JIR.S166564>
- 56 Mikadze I and Vashakidze E. The serum level of interleukin-12 among patients with HCV infection. *Georgian Med News* 2011, 201:40-5
- 57 Schmitz J, Owyang A, Oldham E, Song Y, Murphy E, McClanahan TK, ET AL. IL-33, an interleukin-1-like cytokine that signals via the IL-1 receptor-related protein ST2 and induces T helper type 2-associated cytokines. *Immunity*. 2005, 20:479-90
- 58 Sun Z, Chang B, Gao M, Zhang J, Zou Z. IL-33-ST2 Axis in Liver Disease: Progression and Challenge. *Mediators Inflamm*. 2017;2017:5314213. doi: 10.1155/2017/5314213. Epub 2017 Oct 18.
- 59 Wang J, Zhao P, Guo H, Sun X, Jiang Z, Xu L, ET AL. Serum IL-33 levels are associated with liver damage in patients with chronic hepatitis C. *Mediators Inflamm* 2012, doi:10.1155/2012/819636
- 60 Uze G and Monneron D. IL-28 and IL-29: newcomers to the interferon family. *Biochimie* 2007, 89:729–734

-
- 61 Dolganiuc A, Kodys K, Marshall C, Saha B, Zhang S, Bala S, ET AL. Type III Interferons, IL-28 and IL-29, Are Increased in Chronic HCV Infection and Induce Myeloid Dendritic Cell-Mediated FoxP3⁺ Regulatory T Cells. *PLoS One* 2012, 7: e44915
- 62 Marakian S, Andrus L, Sheahan T, Jones CT, Charles ED, Ploss A, ET AL. Hepatitis C virus induces interferon-lambda and interferon-stimulated genes in primary liver cultures. *Hepatology* 2011, 54:1913–1923
- 63 Kelly C, Klenerman P, Barnes E. Interferon lambdas: the next cytokine storm. *Gut* 2011, 60: 1284–1293
- 64 Fernandez EJ, Lolis E. Structure, function, and inhibition of chemokines. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2002, 42:469–499
- 65 Fahey S, Dempsey E, and Long A. The role of chemokines in acute and chronic hepatitis C infection. *Cell Mol Immunol*. 2014;11(1):25–40.
- 66 Horuk R. Chemokine receptors. *Cytokine Growth Factor Rev* 2001,12:313-335
- 67 Marra F, Tacke F. Roles for chemokines in liver disease. *Gastroenterology*. 2014 Sep;147(3):577-594.e1. doi: 10.1053/j.gastro.2014.06.043
- 68 Mazzi V, Ferrari SM, Giuggioli D, Antonelli A, Ferri C, Fallahi P. Role of CXCL10 in cryoglobulinemia. *Clin Exp Rheumatol*. 2015 May-Jun;33(3):433-6. Epub 2015 Jan 8.
- 69 Askarieh G, Alsio A, Pugnale P, Negro F, Ferrari C, Neumann AU, ET AL. Systemic and intrahepatic interferon-gamma-inducible protein 10 kDa predicts the first-phase decline in hepatitis C virus RNA and overall viral response to therapy in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2010 51, 1523–30
- 70 Helbig KJ, Ruszhiewicz A, Semendric L, Harley, HA, McColl SR, Beard MR. Expression of the CXCR3 ligand I-TAC by hepatocytes in chronic hepatitis C and its correlation with hepatic inflammation. *Hepatology* 2004, 39:1220-9
- 71 Zhu J and Paul WE. CD4 T cells: fates, functions, and faults. *Blood* 2008, 112:1557-69

-
- 72 Thimme R, Oldach D, Chang KM, Steiger C, Ray SC, Chisari FV. Determinants of viral clearance and persistence during acute hepatitis C virus infection. *J Exp Med* 2001, 194:1395-1406
- 73 Diepolder HM, Zachoval R, Hoffmann RM, Wierenga EA, Santantonio T, Jung MC, ET AL. Possible mechanism involving T lymphocyte response to non-structural protein 3 in viral clearance in acute hepatitis C virus infection. *Lancet* 1995, 346:1006-1007
- 74 Kaplan DE, Sugimoto K, Newton K, Valiga ME, Ikeda F, Aytaaman A, ET AL. Discordant role of CD4 T-cell response relative to neutralizing antibody and CD8 T-cell responses in acute hepatitis C. *Gastroenterology* 2007, 132:654-666
- 75 Lauren Holz and Barbara Rehmann. T Cell Responses in Hepatitis C Virus Infection: Historical Overview and Goals for Future Research *Antiviral Res.* 2015;114:96-105
- 76 Kared H, Fabre T, Bédard N, Bruneau J, Shoukry NH. Galectin-9 and IL-21 mediate cross-regulation between Th17 and Treg cells during acute hepatitis C. *PLoS Pathog.* 2013; 9(6):e1003422.
- 77 Rosen HR, Miner C, Sasaki AW, Lewinsohn DM, Conrad AJ, Bakke A, ET AL. Frequencies of HCV-specific effector CD4+ T cells by flow cytometry: correlation with clinical disease stages. *Hepatology* 2002, 35:190–198
- 78 Nascimbeni M, Mizukoshi E, Bosmann M, Major ME, Mihalik K, Rice CM, et al. Kinetics of CD4+ and CD8+ memory T cell responses during hepatitis C virus rechallenge of previously recovered chimpanzees. *J Virol* 2003 77:4781-4793
- 79 Wedemeyer H, He XS, Nascimbeni M, Davis AR, Greenberg HB, Hoofnagle JH, et al. Impaired effector function of hepatitis C virus-specific CD8+ T cells in chronic hepatitis C virus infection. *J Immunol* 2002, 169:3447-3458

-
- 80 Alatrckchi N, Graham CS, Van Dervliet HJ, Sherman KE, Exley MA, Koziel MJ. Hepatitis C virus (HCV)-specific CD8⁺ cells produce transforming growth factor beta that can suppress HCV-specific T-cell responses. *J Virol* 2007, 81:5882–5892
- 81 Gramenzi A, Andeone P, Loggi E, Foschi FG, Cursaro C, Margotti M, ET AL. Cytokine profile of peripheral blood mononuclear cells from patients with different outcomes of hepatitis C virus infection. *J Viral Hepat* 2005,12: 525-530
- 82 Saadoun D, Rosenzweig M, Joly F, Six A, Carrat F, Thibault V, ET AL. Regulatory T-cell responses to low-dose interleukin-2 in HCV-induced vasculitis. *N Engl J Med* 2011, 365:2067-2077
- 83 Li DH, Kumanogoh A, Cao TM, ParnesS JR, Cullen JM. Woodchuck interleukin-6 gene: structure, characterization and biologic activity. *Gene* 2004, 342:157-164
- 84 Falasca K, Ucciferre C, Dalessandro M, Zingariello P, Mancino P, Petrarca C, ET AL. Cytokine patterns correlate with liver damage in patients with chronic hepatitis B and C. *Ann Clin Lab Sci* 2006, 36: 144-150
- 85 Howard M and O'Garra A. Biological properties of interleukin-10. *Immunol Today* 1992, 13:198–200
- 86 Kanto T, Inoue M, Miyazaki M, Itose I, Miyatake H, Sakakibara M, ET AL. Impaired function of dendritic cells circulating in patients infected with hepatitis C virus who have persistently normal alanine aminotransferase levels. *Intervirology* 2006 49:58–63
- 87 Rigopoulou E, Abbott W, Haigh P, Naoumov NV. Blocking of interleukin-10 receptor—a novel approach to stimulate T-helper cell type 1 responses to hepatitis C virus. *Clin Immunol* 2005 117:57–64
- 88 Marchant A, Deviere J, Byl B, De Groote D, Vincent JL, Goldman M. Interleukin-10 production during septicaemia. *Lancet* 1994, 343:707–708

-
- 89 Piazzolla G, Torotorella C, Schiraldi O, Antonaci S. Relationship between interferon-gamma, interleukin-10, and interleukin-12 production in chronic hepatitis C & in vitro effects of interferon-alpha. *J Clin Immunol* 2000,20:54-61
- 90 Abel M, Sene D, Pol S, Bourleire M, Poynard, Charlotte F. Intrahepatic virus-specific IL-10-producing CD8 T cells prevent liver damage during chronic hepatitis C virus infection. *Hepatology* 2006, 44:1607-1616
- 91 Umemura T, Joshita S, Yoneda S, Ktsuyama Y, Ichijo T, Matsumoto A. Interleukin (IL)-10 and IL-12 levels and IL28B gene polymorphisms: pretreatment prediction of treatment failure in chronic hepatitis C. *Antivir Ther* 2011, 16:1073-80
- 92 Fathy A, Ahmed AS, Metwally L, Hassan A. T Helper Type 1/T Helper Type 17-Related Cytokines in Chronic Hepatitis C Patients before and after Interferon and Ribavirin Therapy *Med Princ Pract* 2011, 20:345–349
- 93 Logvinoff C, Major ME, Oldach D, Heywards S, Talala A, Balfe O, ET AL. Neutralizing antibody response during acute and chronic hepatitis C virus infection. *Proc Nat Acad Sci USA* 2004, 101:10149-10154
- 94 Chien DY, Choo QL, Tabizi A, Kuo C, McFarland J, Berger K, ET AL. Diagnosis of hepatitis C virus (HCV) infection using an immunodominant chimericpolyprotein to capture circulating antibody: reevaluation of the role of HCV in live disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992, 89:10011-10015
- 95 Semmo N, Lucas M, Krashias G, Kauer G, Chapel H, Klenerman P. Maintenance of HCV-specific T-cell responses in antibody-deficient patients a decade after early therapy. *Blood* 2006, 107:4570-4571
- 96 Logvinoff C, Major ME, Oldach D, Heyward S, Talal A, Balfes P, ET AL. Neutralizing antibody response during acute and chronic hepatitis C virus infection. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004, 101:10149-10154

-
- 97 Von Hagn T, Yoon JC, Alter H, Rice CM, Rehermann B, Balfe P, ET AL. Hepatitis C virus continuously escapes from neutralizing and T cell responses during chronic infection in vivo. *Gastroenterology* 2007, 132:667-678
- 98 Racanelli V, Frassanito MA, Leone P, Galiano M, De Re V, Sil Vestris F, ET AL. Antibody production and in vitro behavior of CD27-defined B-cell subsets: persistent hepatitis C virus infection changes the rules. *J Virol* 2006, 80:3923-3934
- 99 Dammacco F, Sanasonno D, Piccoli C, Racanelli V, D'Amore FP, Lauletta G. The lymphoid system in hepatitis C virus infection: autoimmunity, mixed cryoglobulinemia, and Overt B-cell malignancy. *Semin Liver Dis* 2000, 20:143-157
- 100 Zignego AL, Ferri C, Giannelli F, Giannini C, Caini P, Monti M, ET AL. Prevalence of bcl-2 rearrangement in patients with hepatitis C virus-related mixed cryoglobulinemia with or without B-cell lymphomas. *Ann Intern Med* 2002, 137:571–580
- 101 Charles ED, Brunetti C, Marukian S, Ritola KD, Talal AH, Mrks K, ET AL. Clonal B cells in patients with hepatitis C virus-associated mixed cryoglobulinemia contain an expanded anergic CD21low B-cell subset. *Blood* 2011, 117:5425–5437
- 102 Dammacco F, Lauletta G, Russi S, Leone P, Tucci M, Manno C, ET AL. Clinical practice: hepatitis C virus infection, cryoglobulinemia and cryoglobulinemic vasculitis. *Clin Exp Med*. 2019 Feb;19(1):1-21. doi: 10.1007/s10238-018-0536-z.
- 103 Bonacci M, Lens S, Londoño MC, Mariño Z, Cid MC, Ramos-Casals M, ET AL. Virologic, Clinical, and Immune Response Outcomes of Patients With Hepatitis C Virus Associated Cryoglobulinemia Treated With Direct-Acting Antivirals. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2017 Apr;15(4):575-583.e1. doi: 10.1016/j.cgh.2016.09.158.
- 104 Sansonno D, Tucci FA, Troiani L, Lauletta G, Montone M, Conteduca V. Increased serum levels of the chemokine CXCL13 and up-regulation of its gene expression are distinctive

-
- features of HCV-related cryoglobulinemia and correlate with active cutaneous vasculitis. *Blood* 2008, 112:1620–1627
- 105 Mihm S, Schweyer S, Ramadori G. Expression of the chemokine IP-10 correlates with the accumulation of hepatic IFN- γ and IL-18 mRNA in chronic hepatitis C but not in hepatitis B. *J Med Virol* 2003, 70:562–570
- 106 Antonelli A, Ferri C, Ferrari SM, Ruffilli I, Colaci M, Frascerra S. High serum levels of CXCL11 in mixed cryoglobulinemia are associated with increased circulating levels of interferon- γ . *J Rheumatol* 2011, 38:1947–1952
- 107 Rouvier E, Luciani MF, M.G. Mattei MG, Denizot F, Golstein P, CTLA-8, cloned from an activated T cell, bearing AU-rich messenger RNA instability sequences, and homologous to a herpesvirus saimiri gene, *J. Immunol.* 150 (1993) 5445–5456
- 108 Harrington LE and Mangan PR., Weaver CT. Expanding the effector CD4 T-cell repertoire: the Th17 lineage. *Curr Opin Immunol* 2006, 18:349–356
- 109 Dong C. TH17 cells in development: an updated view of their molecular identity and genetic programming. *Nat Rev Immunol* 2008, 8:337–348
- 110 Kolls JK, Lindén A. Interleukin-17 family members and inflammation. *Immunity* 2004; 21 (4): 467–76
- 111 Ivanov II, McKenzie BS, Zhou L, Tadokoro CE, Lepelletier A, Lafaille JJ, ET AL. The orphan nuclear receptor ROR γ directs the differentiation program of proinflammatory IL-17⁺ T helper cells. *Cell* 2006, 126:1121–1133
- 112 McGeachy MJ and Cua DJ. Th17 cell differentiation: the long and winding road. *Immunity* 2008, 28:445–53
- 113 Kom T, Betteli E, Gao W, Awasthi A, Jaeger A, Strom TB, ET AL IL-21 initiates an alternate pathway to induce proinflammatory Th17 cells. *Nature* 2007, 448:484–487

-
- 114 Miossec P, Korn T, Kuchroo VK. Interleukin-17 and type 17 helper T cells. *N Engl J Med* 2009, 361:888-898
- 115 Leipe J, Grunke M, Dechant C, Reindl C, Kerzendorf U, Schulze-Koops H, et al. Role of Th17 cells in human autoimmune arthritis. *Arthritis Rheum* 2010; 62(10):2876–85. [doi: 10.1002/art.27622](https://doi.org/10.1002/art.27622)
- 116 Ramani K, Biswas PS. Interleukin-17: Friend or foe in organ fibrosis. *Cytokine*. 2019 Aug;120:282-288. doi: 10.1016/j.cyto.2018.11.003. Epub 2019 Feb 14.
- 117 Kom T, Betteli E, Oukka M, Kuchroo VK. IL-17 and Th17 Cells. *Annu Rev Immunol* 2009, 27:485–517
- 118 Yasumi Y, Takikawa Y, Endo R and Suzuki K. Interleukin-17 as a new marker of severity of acute hepatic injury. *Hepatol. Res.* 2007; 37:248–254
- 119 Lemmers A, Moreno C, Gustot T et al. 2009. The IL-17 pathway is involved in human alcoholic liver disease. *Hepatology* 49:646–657
- 120 Wang L, Chen S, and Xu K. IL-17 expression is correlated with hepatitis B-related liver diseases and fibrosis. *Int. J. Mol. Med.* 2011; 27:385–392
- 121 Chang Q, Wang YK, Zhao Q, Wang CZ, Hu YZ, Wu BY. Th17 cells are increased with severity of liver inflammation in patients with chronic hepatitis C. *J Gastroenterol Hepatol* 2012; 27:273-278
- 122 Zhao, L., Tang, Y., You, Z., et al. 2011. IL-17 contributes to the pathogenesis of autoimmune hepatitis through inducing hepatic IL-6 expression. *PLoS One*. 2011 Apr 19;6(4):e18909. doi: 10.1371/journal.pone.0018909
- 123 Zhang JP, Yan J, Xu J, Pang XH, Chen MS, Li L, et al. Increased intratumoral IL-17-producing cells correlate with poor survival in hepatocellular carcinoma patients. *J Hepatol* 2009, 50:980–989

-
- 124 Yang B, Wang Y, Zhao C, Yan C, Yan W, Che H, Shen C, et al. Increased Th17 cells and interleukin-17 contribute to immune activation and disease aggravation in patients with chronic hepatitis B virus infection 2013, 149:41-9
- 125 Jimenez-Sousa MA, Almansa R, de la Fuente C, et al. Increased TH1, TH17, and pro-fibrotic responses in hepatitis C-infected patients are down-regulated after 12 weeks of treatment with pegylated interferon plus ribavirin. *Eur. Cytokine Network* 2010; 21:84–91
- 126 Sousa GM, Oliveira IS, Andrane LJ, Sousa-Atta ML, Parana R, Atta AM. Serum levels of Th17 associated cytokines in chronic hepatitis C virus infection. *Cytokine* 2012, 60:138-42
- 127 Hassan EA, El-Rehim ASELD, Ahmed AO2, et al The Impact of Serum Interleukin-17 on Chronic Hepatitis C and Its Sequelae. *J Liver* 2014; Vol 3(4): 163
- 128 Bowen DG. Finding a role for Th17 cells in hepatitis C pathogenesis. *J Gastroenterol Hepatol.* 2012 Feb;27(2):188-91. doi: 10.1111/j.1440-1746.2011.07033.x.
- 129 Hetta HF, Elkady A, Morsy KH, et al Serum Level of IL17a among Cirrhotic Hepatitis C Virus Infected Patients with Incidence of Diabetes Mellitus. *Egypt J Immunol.* 2017;24(1):79-88
- 130 Abou El-Khier NT, Elhammady D, Arafa MM, ET AL. Th17 and IL-17 as Predictors of Hepatic Inflammation in Patients with Chronic Hepatitis C Virus Infection and Treated With Direct Antiviral Therapy. *Egypt J Immunol.* 2018 Jun;25(2):61-74.
- 131 Kong F, Zhang W, Feng B, et al. Abnormal CD4+T helper (Th) 1 cells and activated memory B cells are associated with type III asymptomatic mixed cryoglobulinemia in HCV infection. *Virol J.* 2015; 12:100
- 132 Moore PA, Bel Vedere O, Orr A, Pieri K, LaFleur DW, Feng P, et al. BLyS: member of the tumor necrosis of the tumor necrosis factor family and B lymphocyte stimulator. *Science* 1999; 285:260-263

-
- 133 Schneider O, MacKay F, Steiner V, Hofmann K, Bodmer JR, Holler N, et al. BAFF, a novel ligand of the tumor necrosis factor family, stimulates B cell growth. *J Exp Med* 1999; 189:1747-1756
- 134 Fabris M, Quartuccio L, Sacco S, De Marchi G, Pozzato G, Mazaro C, et al. B-Lymphocyte stimulator (BLyS) upregulation in mixed cryoglobulinaemia syndrome and hepatitis C virus infection. *Rheumatology* 2007; 46:37-43
- 135 Steri M, Orrù V, Idda ML, Pitzalis M, Pala M, Zara I, et al. Overexpression of the Cytokine BAFF and Autoimmunity Risk. *The New England Journal of Medicine* 2017; 376 (17): 1615–1626
- 136 Korn T and Oukka M. A BAFFing Association between Malaria Resistance and the Risk of Multiple Sclerosis. *The New England Journal of Medicine* 2017; 376 (17): 1680–1681
- 137 Migita K, Abiru S, Maeda Y, et al. Elevated serum BAFF levels in patients with autoimmune hepatitis. *Hum Immunol* 2007; 68:586-591
- 138 Toubi E, Gordon S, Kessel A, Rosner I, Rozenbaum M, Shoenfeld Y. Elevated serum B-Lymphocyte activating factor (BAFF) in chronic hepatitis C virus infection: Association with autoimmunity. *J Autoimmun* 2006; 27:134-139
- 139 Tarantino J G, Marco VD, Petta S, Almasio PL, Barbaria F, Licata A, Bosco GL, Tripodo C, Stefano RD, Craxì A. Serum BLyS/BAFF predicts the outcome of acute hepatitis C virus infection. *Viral Hepat.* 2009 Jun;16(6):397-405
- 140 Nardelli B, Bel Vedere O, Roschke V, Moore PA, Olsen HS, Migone TS, et al. Synthesis and release of B-lymphocyte stimulator from myeloid cells. *Blood* 2001; 97:198-204
- 141 Lanadau DA, Rosenzweig M, Saagoun D, Klatzmann D, Cacoub P. The B lymphocyte stimulator receptor-ligand system in hepatitis C virus-induced B cell clonal disorders. *Ann Rheum Dis* 2009; 68:337-344

-
- 142 Larrubia JR, Benito-Martinez S, Calvinom, Sanz-De-Villalobos E, Parra-Cid T. Role of chemokines and their receptors in viral persistence and liver damage during chronic hepatitis C virus infection. *World J Gastroenterol* 2008; 14:7149–7159
- 143 Kakimi K, Lane TE, Wieland S, Asensio VC, Cambell IL, Chisari FV, et al. Blocking chemokine responsive to γ -2/interferon (IFN)- γ inducible protein and monokine induced by IFN- γ activity in vivo reduces the pathogenetic but not the antiviral potential of hepatitis B virus-specific cytotoxic T lymphocytes. *J Exp Med* 2001; 194:1755–1766
- 144 Ramadori G and Saile B. Inflammation, damage repair, immune cells, and liver fibrosis: specific or nonspecific, this is the question. *Gastroenterology* 2004; 127:997–1000
- 145 Jin CN, Chen JD, Sheng JF. Vitamin D deficiency in hepatitis C virus infection: what is old? what is new? *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2018 Jul;30(7):741-746. doi: 10.1097/MEG.0000000000001134.
- 146 Iruzubieta P, Terán Crespo J, Fábrega E. Vitamin D deficiency in chronic liver disease. *World J Hepatol*. 2014; 6:901–915
- 147 Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, et al. Endocrine Society. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011; 96:1911–1930
- 148 Udomsinprasert W, Jittikoon J. Vitamin D and liver fibrosis: Molecular mechanisms and clinical studies. *Biomed Pharmacother*. 2019 Jan;109:1351-1360. doi: 10.1016/j.biopha.2018.10.140. Epub 2018 Nov 10.
- 149 Wei R, Christakos S. Mechanisms Underlying the Regulation of Innate and Adaptive Immunity by Vitamin D. *Nutrients* 2015;7:8251-8260
- 150 Adorini L and Penna G. Control of autoimmune diseases by the vitamin D endocrine system,” *Nature Clinical Practice Rheumatology* 2008; vol. 4, no. 8, pp. 404–412

-
- 151 Barchetta I, Carotti S, Labbadia G, Gentilucci UV, Muda AO, Angelico F, ET AL. Liver vitamin D receptor, CYP2R1, and CYP27A1 expression: relationship with liver histology and vitamin D3 levels in patients with nonalcoholic steatohepatitis or hepatitis C virus. *Hepatology*. 2012 Dec;56(6):2180-7. doi: 10.1002/hep.25930.
- 152 Arteh J, Narra S and Nair S. Prevalence of vitamin D deficiency in chronic liver disease. *Digestive Diseases and Sciences* 2010, vol. 55, no. 9, pp. 2624–2628
- 153 Lange CM, Bojunga J, Ramos-Lopez E, et al. Vitamin D deficiency and a CYP27B1-1260 promoter polymorphism are associated with chronic hepatitis C and poor response to IFNa-based therapy. *J. Hepatol* 2011; 54:887–893
- 154 Backstedt D, Pedersen M, Choi M, Seetharam A. 25-Vitamin D levels in chronic hepatitis C infection: association with cirrhosis and sustained virologic response. *Ann Gastroenterol* 2017; 30:344-348
- 155 Artaza JN and Norris K C. Vitamin D reduces the expression of collagen and key profibrotic factors by inducing an antifibrotic phenotype in mesenchymal multipotent cells. *The Journal of Endocrinology* 2009, vol. 200, no. 2, pp. 207–221
- 156 Baur K, Mertens JC, Schmitt J, et al. Combined effect of 25- OH vitamin D plasma levels and genetic Vitamin D receptor (NR 11) variants on fibrosis progression rate in HCV patients. *Liver International* 2012, vol. 32, no. 4, pp. 635–643
- 157 Garcia-Alvarez M, Pineda-Tenor D, Jimenez-Sousa MA, Fernandez-Rodriguez A, Guzman-Fulgencio M, Resino S. Relationship of vitamin D status with advanced liver fibrosis and response to hepatitis C virus therapy: a metaanalysis. *Hepatology* 2014;60:1541–1550.
- 158 Villar LM, Del Campo JA, Ranchal I, Lampe E, Romero-Gomez M. Association between vitamin D and hepatitis C virus infection: a meta-analysis. *World J Gastroenterol*. 2013; 19:5917–5924

-
- 159 Kitson MT, Dore GJ, George J, et al. Vitamin D status does not predict sustained virologic response or fibrosis stage in chronic hepatitis C genotype 1 infection. *J Hepatol*. 2013; 58:467–472
- 160 Kitson MT, Sarrazin C, Toniutto P, Eslick GD, Roberts SK. Vitamin D level and sustained virologic response to interferon-based antiviral therapy in chronic hepatitis C: a systematic review and meta-analysis. *J Hepatol*. 2014; 61:1247–1252
- 161 Chen L, Cencioni MT, Angelini DF, Borsellino G, Battistini L, Brosnan CF. Transcriptional profiling of gamma delta T cells identifies a role for vitamin D in the immunoregulation of the V gamma 9V delta 2 response to phosphate-containing ligands. *J Immunol* 2005; 174(10):6144–52
- 162 von Essen MR, Kongsbak M, Schjerling P, Olgaard K, Odum N, Geisler C. Vitamin D controls T cell antigen receptor signaling and activation of human T cells. *Nat Immunol* 2010; 11(4):344–9
- 163 Jeffery LE, Qureshi OS, Gardner D, Hou TZ, Briggs Z, Soskic B, et al. Vitamin D antagonises the suppressive effect of inflammatory cytokines on CTLA-4 expression and regulatory function. *PLoS One* 2015; 10(7):e0131539.10.1371/journal.pone.0131539
- 164 Tian Y, Wang C, Ye Z, Xiao X, Kijlstra A, Yang P. Effect of 1,25-dihydroxyvitamin D3 on Th17 and Th1 response in patients with Behcet's disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012; 53(10):6434–41.10.1167/iops.12-10398
- 165 Joshi S, Pantalena LC, Liu XK, Gaffen SL, Liu H, Rohowsky-Kochan C, et al. 1,25-dihydroxyvitamin D (3) ameliorates Th17 autoimmunity via transcriptional modulation of interleukin-17A. *Mol Cell Biol* 2011; 31(17):3653–69.10.1128/MCB.05020-11
- 166 van Hamburg JP, Asmawidjaja PS, Davelaar N, Cornelissen FC, Mus AMC, Bakx PAGM, Colin EM, van Leeuwen H, Hazes JMW, Dolhain RJEM, Lubberts E. Vitamin D suppresses the

pathogenic behaviour of primary Th17 cells from patients with early rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2011; 70: A47

167 Bartosik-Psujek H, Tabarkiewicz J, Pocinska K, Stelmasiak Z, Rolinski J. Immunomodulatory effects of vitamin D on monocyte-derived dendritic cells in multiple sclerosis. *Mult Scler* 2010; 16: 1513-1516

168 Zhang H, Shih DQ, and Zhang X. Mechanisms underlying effects of 1,25-Dihydroxyvitamin D3 on the Th17 cell. *European Journal of Microbiology and Immunology* 2013, vol. 3, no. 4, pp. 237–240

169 El Hussein NH, Fahmy HM, Mohamed WA, Amin HH Relationship between vitamin D and IL-23, IL-17 and macrophage chemoattractant protein-1 as markers of fibrosis in hepatitis C virus Egyptians *World J Hepatol* 2012; 4(8): 242-247

170 Gal-Tanamy M, Bachmetov L, Ravid A, et al. Vitamin D: an innate antiviral agent suppressing hepatitis C virus in human hepatocytes. *Hepatology*. 2011; 54:1570–1579

171 Lange CM, Gouttenoire J, Duong FH, Morikawa K, Heim MH, Moradpour D. Vitamin D receptor and Jak-STAT signaling crosstalk results in calcitriol-mediated increase of hepatocellular response to IFN- α *J Immunol*. 2014; 192:6037–6044

172 Chen S, Sims GP, Chen XX, Gu YY, Chen S, Lipsky PE. Modulatory effects of 1,25-dihydroxyvitamin D3 on human B cell differentiation. *J Immunol* 2007; 179(3):1634–47.10.4049/jimmunol.179.3.1634

173 Dankers W, Colin EM, van Hamburg JP, and Lubberts E. Vitamin D in Autoimmunity: Molecular Mechanisms and Therapeutic Potential. *Front Immunol*. 2016; 7: 697

174 Heine G, Niesner U, Chang HD, Steinmeyer A, Zugel U, Zuberbier T, et al. 1,25-dihydroxyvitamin D (3) promotes IL-10 production in human B cells. *Eur J Immunol* 2008; 38(8):2210–8.10.1002/eji.200838216

-
- 175 Lee SJ, Oh HJ, Choi BY et al. Serum 25-Hydroxyvitamin D3 and BAFF Levels Are Associated with Disease Activity in Primary Sjogren's Syndrome. *J Immunol Res*. 2016; 2016:5781070
- 176 Knippenberg S1, Smolders J, Thewissen M, Peelen E, Tervaert JW, Hupperts R, Damoiseaux J. Effect of vitamin D (3) supplementation on peripheral B cell differentiation and isotype switching in patients with multiple sclerosis. *Mult Scler*. 2011;17(12):1418-23
- 177 Chi H1, Hansen BE, Tang WY, Schouten JN, Sprengers D, Taimr P, ET AL Multiple biopsy passes and the risk of complications of percutaneous liver biopsy. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2017;29(1):36-41.
- 178 Bedossa P, Dargère D, Paradis V. Sampling variability of liver fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2003;38(6):1449–57
- 179 Ferraioli G, Filice C, Castera L, et al. WFUMB Guidelines and Recommendations for Clinical Use of Ultrasound Elastography: Part 3: Liver. *Ultrasound Med Biol* 2015;41(5):1161–1179
- 180 Barr R, Ferraioli G, Palmeri M et al. Elastography Assessment of Liver Fibrosis: Society of Radiologists in Ultrasound Consensus Conference Statement Volume 276: Number 3 - September 2015
- 181 Zeuzem S, Rodríguez-Torres M, Rajender Reddy K, et al. Optimized threshold for serum HCV RNA to predict treatment outcomes in hepatitis C patients receiving peginterferon alfa-2a/ ribavirin. *J Viral Hepat* 2012; 19:766-774
- 182 Fadda SH, Bassyouni IH, Hamdy A, Foad NA, Wali IE. Anti-C1q in chronic hepatitis C virus genotype IV infection: association with autoimmune rheumatologic manifestations. *Immunol Invest*. 2015; 44:45–55
- 183 Fallahi P, Ferri C, Ferrari SM, Corrado A, Sansonno D, and Antonelli A Cytokines and HCV-Related Disorders. *Clin Dev Immunol*. 2012; 2012: 468107.

-
- 184 Sandquist I, Kolls J. Update on regulation and effector functions of Th17 cells. *F1000Res*. 2018; 7:205
- 185 Sene D, Limal N, Ghillani-Dalbin P, Saadoun D, Piette JC, Cacoub P. Virus-associated B-cell proliferation - the role of serum B lymphocyte stimulator (BLyS/BAFF) *Rheumatology (Oxford)* 2007;46:65–69
- 186 Kondo Y, Ninomiya M, Kimura O, et al. HCV infection enhances Th17 commitment, which could affect the pathogenesis of autoimmune diseases. *PLoS One*. 2014; 9: e98521
- 187 Meng P, Zhao S, Niu X, et al. Involvement of the interleukin-23/interleukin-17 axis in chronic hepatitis C virus infection and its treatment responses. *Int J Mol Sci*. 2016 ;17:1070
- 188 Menezes EG, Coelho-dos-Reis JGA, Cardoso LM, et al. Strategies for serum chemokine/cytokine assessment as biomarkers of therapeutic response in HCV patients as a prototype to monitor immunotherapy of infectious diseases. *Antiviral Res*. 2017; 141:19–28
- 189 Shoukry NH, Grakoui A, Houghton M, et al. Memory CD8+T cells are required for protection from persistent hepatitis C virus infection. *J Exp Med*. 2003; 197:1645–1655
- 190 Grakoui A, Shoukry NH, Woollard DJ, et al. HCV persistence and immune evasion in the absence of memory T cell help. *Science*. 2003; 302:659–662
- 191 Lake-Bakaar G, Jacobson I, Talal A. B cell activating factor (BAFF) in the natural history of chronic hepatitis C virus liver disease and mixed cryoglobulinaemia. *Clin Exp Immunol*. 2012; 170:231–237
- 192 Atta AM, Oliveira IS, Sousa GM, Paraná R, Atta ML. Serum cytokine profile in hepatitis C virus carriers presenting cryoglobulinaemia and non-organ-specific autoantibodies. *Microb Pathog*. 2010; 48:53–56
- 193 Landau DA, Rosenzweig M, Saadoun D, Klatzmann D, Cacoub P. The B lymphocyte stimulator receptor-ligand system in hepatitis C virus-induced B cell clonal disorders. *Ann Rheum Dis*. 2009; 68:337–344

194 Schaalán MF, Mohamed WA, Amin HH. Vitamin D deficiency: correlation to interleukin-17, interleukin-23 and PIIINP in hepatitis C virus genotype 4. *World J Gastroenterol*. 2012; 18:3738–3744

195 Montero N1, Favà A, Rodriguez E, Barrios C, Cruzado JM, Pascual J, ET AL Treatment for hepatitis C virus-associated mixed cryoglobulinaemia. *Cochrane Database Syst Rev*. 2018 May 7;5:CD011403. doi: 10.1002/14651858.CD011403.pub2.