

**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ**

**ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ - ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ**

**ΤΟΜΕΑΣ ΚΟΙΝΩΝΙΚΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΨΥΧΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΝΕΥΡΟΛΟΓΙΑΣ**

**ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΥΓΙΕΙΝΗΣ ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗΣ**

Διευθυντής: Άγγελος Χατζάκης



**ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

**Η ΦΥΣΙΚΗ ΙΣΤΟΡΙΑ ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ C ΣΕ ΟΜΑΔΑ  
ΑΙΜΟΡΡΟΦΙΛΙΚΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ**

**Κατσαρού Όλγα,  
Ιατρός Παθολόγος**

**Αθήνα 2013**

## Στοιχεία Διατριβής

Ημερομηνία Ορισμού Τριμελούς Επιτροπής: 18/5/1993

Ημερομηνία Μεταβολής Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: 14/12/2012

Ημερομηνία κατάθεσης Διδακτορικής Διατριβής : 1/2/2013

### **Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή**

**Άγγελος Χατζάκης** Επιβλέπων. Καθηγητής Επιδημιολογίας & Προληπτικής Ιατρικής, Πανεπιστημίου Αθηνών

**Ευαγγελία Κακλαμάνη** Καθηγήτρια Υγιεινής και Επιδημιολογίας του Πανεπιστημίου Αθηνών

**Παναγιώτα Τουλούμη** Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Βιοστατιστικής και Επιδημιολογίας Πανεπιστημίου Αθηνών

Ημερομηνία Ορισμού Επταμελούς Επιτροπής : 25/2/2013

**Πρόεδρος Ιατρικής Σχολής:** Καθηγητής Μελέτιος- Αθανάσιος Δημόπουλος

### **Επταμελής Συμβουλευτική Επιτροπή**

**Άγγελος Χατζάκης** Καθηγητής Επιδημιολογίας & Προληπτικής Ιατρικής, Πανεπιστημίου Αθηνών

**Ευαγγελία Κακλαμάνη** Ομότιμη Καθηγήτρια Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών

**Παναγιώτα Τουλούμη** Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Βιοστατιστικής και Επιδημιολογίας στην Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Αθηνών

**Αναστασία Αντωνιάδου** Επίκουρη Καθηγήτρια Παθολογίας-Λοιμώξεων, Δ' Παθολογική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών

**Άννυ Δελαδετσιμα** Αναπληρώτρια Καθηγήτρια, Ιατρική Σχολή, Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής, Πανεπιστημίου Αθηνών

**Γεώργιος Δαΐκος** Αναπληρωτής Καθηγητής Παθολογίας, Α' Προπαιδευτική Παθολογική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών

**Νικόλαος Σύψας** Επίκουρος Καθηγητής Παθολογίας Λοιμώξεων, Τμήμα Παθολογικής Φυσιολογίας Πανεπιστημίου Αθηνών

Βαθμός: «Άριστα»

*Στους αγαπημένους μου*

*Δημήτρη*

*Μυρτιά, Φοίβο*

*Ρωμανό, Νεφέλη*



*....Τους Λαιστρυγόνας και τους Κύκλωπας  
τον άγριο Ποσειδώνα δεν θα συναντήσεις,  
αν δεν τους κουβανείς μες στην ψυχή σου  
αν η ψυχή σου δεν τους στήνει εμπρός σου.....*

**Κωνίνος Καβάφης**

**ΙΘΑΚΗ**

Αναστασία, Δημήτρη, Γιώτα  
σας χρωστώ απέραντη ευγνωμοσύνη



## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η δεκαετία του 1970 ήταν εποχή μεγάλων προσδοκιών για τα άτομα με αιμορροφιλία. καθώς η διεθεσιμότητα των σκευασμάτων συμπυκνωμένων παραγόντων υποσχόταν αλλαγή της εικόνας της νόσου με βελτίωση της ποιότητας της ζωής τους και αύξηση του προσδόκιμου επιβίωσης. Δυστυχώς η μετάδοση ιογενών νοσημάτων με τα σκεύασματά αυτά, αρχικά των ιών ηπατίτιδας Β και C και λίγο αργότερα, στις αρχές του 1980, του HIV, διέλυσε με τραγικό τρόπο τις προσδοκίες αυτές για πολλούς από αυτούς.

Για ένα νέο παθολόγο, η φροντίδα των ασθενών αυτών την εποχή εκείνη, ήταν μεγάλη πρόκληση, αφού στα καθημερινά προβλήματα που προκαλούσε η κληρονομική νόσος τους, έπρεπε να προστεθεί ο χειρισμός νοσημάτων, για τα οποία η γνώση άλλαζε καθημερινά και η πρόγνωση ήταν απροσδιόριστη.

Μέσα από την καθημερινή αλλά και επώδυνη αντιμετώπιση των προβλημάτων αυτών στο Κέντρο Αιμορροφιλικών του ΓΝΑ «Λαϊκό», γεννήθηκε το ενδιαφέρον να μελετηθεί η φυσική ιστορία της ηπατίτιδας C στα άτομα με κληρονομική αιμορραγική διάθεση και να διερευνηθεί η επίδραση της συλλοίμωξης με τον HIV στην εξέλιξή της. Μία μελέτη πραγματικό ταξίδι, που ολισθαίνοντας συνεχώς στην διελκυστίνδα επάγγελμα- οικογένεια, κατάφερε να πάρει σάρκα και οστά μετά από αρκετά χρόνια.

Αισθάνομαι την ανάγκη λοιπόν να ευχαριστήσω όλους εκείνους που συνέβαλαν με κάθε τρόπο στο να γίνει και να τελειώσει αυτή η διδακτορική διατριβή.

Τον Καθηγητή και Επιβλέποντα της διατριβής Άγγελο Χατζάκη, ο οποίος με την πρόταση του θέματος, ήταν η αφορμή και η έμπνευση γι' αυτή την υπέροχη διαδρομή, ευχαριστώ για την συνεχή καθοδήγησή του σε όλη της την πορεία, αλλά και την υποστήριξη και υπομονή του.

Την Καθηγήτρια Τιτίκα Μανδαλάκη, υπό την Διεύθυνση της οποίας οργανώθηκε το Κέντρο Αναφοράς Αιμορραγικών Διαθέσεων, θέλω να ευχαριστήσω για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε από την αρχή, αλλά και γιατί μου μετέδωσε την αγάπη και το πάθος της για τους ασθενείς.

Την Καθηγήτρια Ευαγγελία Κακλαμάνη, ευχαριστώ για την προθυμία της, την υποστήριξή της και τις συστάσεις της, όποτε και αν ζήτησα τη βοήθειά της.

Στην Αιματολόγο και Διευθύντρια του Κέντρου από το 2000-2008 Αναστασία Καραφουλίδου, αλλά κυρίως στη συνεργάτη, φίλη και συνοδοιπόρο, οφείλω ένα μεγάλο Ευχαριστώ από καρδιάς. Η συμβολή της στην εκπόνηση της διατριβής αυτής ήταν ουσιαστική και καθοριστική. Όλα αυτά τα χρόνια της συνεργασίας μας, το επιστημονικό ενδιαφέρον αλλά και η αφοσίωσή της στον ασθενή, το πείσμα, η οργανωτική ικανότητα και πειθαρχία της, ήταν για μένα καθημερινά μαθήματα, που αποτυπώνονται χωρίς αμφιβολία στη μελέτη αυτή.

Την Καθηγήτρια Βιοστατιστικής Γιώτα Τουλούμη, ευχαριστώ επίσης ιδιαίτερα όχι μόνο για την ουσιαστική συμβολή της στη στατιστική ανάλυση των δεδομένων της μελέτης αλλά και γιατί πάντα ήταν πρόθυμη να αφιερώσει τον προσωπικό της χρόνο για συζητήσεις, υποδείξεις και βελτιώσεις. Η φιλική συνεργασία μαζί της ήταν πάντα δημιουργική, επιπλέον δε μου έδωσε την ευκαιρία, να διευρύνω τις γνώσεις μου στη στατιστική.



Ευχαριστώ επίσης την αγαπημένη συνάδελφο και φίλη, Γιώτα Ιωαννίδου, γαστρεντερολόγο, για την βοήθεια της στην εκτέλεση των βιοψιών ήπατος αλλά και για τη μακροχρόνια συνεργασία μας στην παρακολούθηση των ασθενών. Την καθηγήτρια Παθολογοανατομίας Αννυ Δελαδετσιμα για την όλη συνεργασία στην πορεία αυτών των χρόνων. Τον Γιώργο Μπακογιάννη για την βοήθειά του στη στατιστική ανάλυση.

Τον σύζυγό μου Δημήτρη, ευχαριστώ μέσα από την καρδιά μου, για την συνεχή του παρουσία, την υπομονή του και την πεισματική του στήριξη στην προσπάθεια αυτή και και τον ευγνωμονώ για την πίεση που μου άσκησε στη τελική συγγραφή της μελέτης.

Τέλος θέλω να ευχαριστήσω όλα τα άτομα με αιμορροφιλία που γνώρισα σαν γιατρός του Κέντρου, γιατί με τα καθημερινά μαθήματα αξιοπρέπειας και επιβίωσης που έδιναν, μου μετέφεραν τη δύναμη για να αντιμετωπίζω θετικά τη δύσκολη καθημερινότητα.



# ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

## I. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

### **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1. ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ C**

|   |    |
|---|----|
| 1.1. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ, ΤΡΟΠΟΙ ΜΕΤΑΔΟΣΗΣ.....                     | 19 |
| 1.2. Ο ΙΟΣ  |    |
| 1.2.1. Δομή.....  | 20 |
| 1.2.2. Μοριακή βιολογία.....                                  | 21 |
| 1.2.3. Πολλαπλασιασμός´.....                                  | 22 |
| 1.2.4. Γονότυποι.....   | 23 |
| 1.2.5. Εργαστηριακή Διερεύνηση .....                          | 25 |
| 1.3 ΦΥΣΙΚΗ ΙΣΤΟΡΙΑ ΗCV ΛΟΙΜΩΞΗΣ                               |    |
| 1.3.1. Οξεία ΗCV λοίμωξη.....                                 | 23 |
| 1.3.2. Παθογένεια και ανοσιακή απάντηση στην ΗCV λοίμωξη..... | 27 |
| 1.3.3. Χρόνια ΗCV λοίμωξη.....                                | 30 |
| 1.3.4. Κλινική εκτίμηση ΗCV λοίμωξης .....                    | 32 |
| 1.3.5. Εξωηπατικές εκδηλώσεις .....                           | 35 |
| 1.4. ΙΣΤΟΠΑΘΟΛΟΓΙΚΑ ΕΥΡΗΜΑΤΑ ΗCV ΛΟΙΜΩΞΗΣ                     |    |
| 1.4.1. Βιοψία ήπατος.....                                     | 36 |
| 1.4.2. Μη επεμβατική αξιολόγηση της ηπατικής ίνωσης.....      | 39 |
| 1.5.ΘΕΡΑΠΕΙΑ.....   | 41 |

### **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2. ΗIV ΛΟΙΜΩΞΗ**

|  |    |
|--|----|
| 2.1. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΤΡΟΠΟΙ ΜΕΤΑΔΟΣΗΣ..... | 45 |
| 2.2. Ο ΙΟΣ                                   |    |
| 2.2.1. Δομή, Μοριακή βιολογία.....           | 47 |
| 2.2.2. Πολλαπλασιασμός.....                  | 49 |

|  |    |
|--|----|
| 2.2.3. Εργαστηριακή Διερεύνηση.....                                  | 49 |
| 2.3. ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ, ΦΥΣΙΚΗ ΙΣΤΟΡΙΑ, ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ HIV<br>ΛΟΙΜΩΞΗΣ..... | 50 |
| 2.3.1. Πρωτολοίμωξη.....   | 51 |
| 2.3.2. Περίοδος κλινικής ηρεμίας.....                                | 52 |
| 2.3.3. Περίοδος κλινικού AIDS.....                                   | 53 |
| 2.3.4. Κλινικά στάδια HIV λοίμωξης.....                              | 54 |
| 2.4. ΘΕΡΑΠΕΙΑ.....   | 56 |

### **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3. ΣΥΛΛΟΙΜΩΞΗ HCV/HIV**

|   |    |
|---|----|
| 3.1. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ.....   | 61 |
| 3.2. ΔΙΑΓΝΩΣΗ.....  | 61 |
| 3.3. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ HIV ΛΟΙΜΩΞΗΣ ΣΤΗΝ ΦΥΣΙΚΗ ΙΣΤΟΡΙΑ ΤΗΣ<br>HCV ΛΟΙΜΩΞΗΣ..... | 62 |
| 3.3.1. Περίοδος προ HAART.....  | 64 |
| 3.3.2. Περίοδος μετά HAART.....   | 64 |
| 3.4.ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ HCV ΛΟΙΜΩΞΗΣ ΣΤΗΝ ΦΥΣΙΚΗ ΙΣΤΟΡΙΑ ΤΗΣ<br>HIV ΛΟΙΜΩΞΗΣ.....  | 69 |
| 3.5. ΘΕΡΑΠΕΙΑ HCV ΛΟΙΜΩΞΗΣ ΣΤΗΝ HCV/HIV ΣΥΛΛΟΙΜΩΞΗ...                       | 70 |

### **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4. Η ΑΙΜΟΡΡΟΦΙΛΙΑ**

|  |    |
|--|----|
| 4.1. Η ΑΙΜΟΡΡΟΦΙΛΙΑ.....                         | 73 |
| 4.1.1. Ιστορικά και επιδημιολογικά στοιχεία..... | 73 |
| 4.1.2. Κλινική εικόνα.....                       | 74 |
| 4.1.3 Νόσος von Willebrand.....                  | 74 |
| 4.2.ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΥΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ.....                  | 75 |

|  |    |
|--|----|
| 4.3.ΑΙΜΟΡΡΟΦΙΛΙΑ ΚΑΙ ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ ΜΕΤΑΔΙΔΟΜΕΝΕΣ ΜΕ ΤΑ ΠΑΡΑΓΩΓΑ ΑΙΜΑΤΟΣ..... | 77 |
| 4.3.1. Ηπατίτιδα C και Αιμορροφιλία.....                                 | 77 |
| 4.3.2. HCV/HIV συλλοίμωξη και Αιμορροφιλία’.....                         | 78 |
| 4.3.3. Θεραπεία της ηπατίτιδας C στους αιμορροφιλικούς ασθενείς...80     |    |
| 4.3. Η ΑΙΜΟΡΡΟΦΙΛΙΑ ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ.....                                     | 81 |

## **II. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

|   |           |
|---|-----------|
| <b>1. ΣΚΟΠΟΣ.....</b>   | <b>87</b> |
| <b>2. ΥΛΙΚΟ ΜΕΛΕΤΗΣ.....</b>  | <b>88</b> |
| <b>3. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ.....</b>  | <b>91</b> |
| <b>4. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ.....</b>  | <b>93</b> |
| <b>5. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....</b>   | <b>96</b> |
| 5.1. Χαρακτηριστικά ασθενών.....  | 96        |
| 5.2. Οξεία ηπατίτιδα C.....   | 101       |
| 5.3.. Χρόνια ηπατίτιδα C.....   | 101       |
| 5.3.1. Επίπεδα ALT διαχρονικά.....  | 101       |
| 5.3.2. Εκτίμηση ηπατομεγαλίας.....  | 103       |
| 5.3.3. Συχνότητα ηπατικής νοσηρότητας.....  | 104       |
| 5.3.4. Θνησιμότητα.....   | 105       |
| 5.3.5. Εξέλιξη προς ESLD και θάνατο χωρίς ESLD.....   | 107       |
| 5.4. Η επίδραση της HIV λοίμωξης στην πορεία της HCV λοίμωξης                               |           |
| 5.4.1. Ιστολογική μελέτη ήπατος σε ασθενείς με συλλοίμωξη. Ο ρόλος της ανοσοκαταστολής..... | 111       |
| 5.4.2. Ηπατοτοξικότητα μετά χορήγηση HAART.....   | 116       |
| 5.5. Θεραπεία ηπατίτιδας C.....   | 120       |
| 5.5.1. Μονοθεραπεία με ιντερφερόνη A.....   | 123       |

|   |            |
|---|------------|
| 5.5.2. Συνδυασμός ιντερφερόνης Α και ριμπαβιρίνης.....                              | 124        |
| 5.5.3. Συνδυασμός πεγκυλιωμένης ιντερφερόνης Α και ριμπαβιρίνης.....                | 125        |
| 5.6. Παράγοντες κινδύνου εξέλιξης προς ESLD και θάνατο χωρίς ESLD.<br>.....         | 129        |
| <b>6 .ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....</b>   | <b>131</b> |
| Συμπεράσματα.....   | 145        |
| <b>III. ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....</b>   | <b>147</b> |
| <b>IV. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ.....</b>   | <b>151</b> |
| Δημοσιεύσεις και ανακοινώσεις σχετιζόμενες με την παρούσα διδακτορική διατριβή..... | 173        |
| <b>V. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ.....</b>  | <b>175</b> |
| Ανάτυπα δημοσιεύσεων  |            |

## Λεξικό συντμήσεων

- ART : Αντιρετροϊκή θεραπεία
- AZT: Azidothymidine (Zidovudine)
- CDC: Center for Disease Control
- CHC: Chronic Hepatitis C (Χρόνια Ηπατίτιδα C)
- D4T: Stavudine
- DDI: Didanosine
- ESLD: End Stage Liver Disease (Τελικού σταδίου Ηπατική νόσος )
- ETR: End of Treatment Response (Ανταπόκριση στο τέλος της θεραπείας )
- EVR: Early Virological Response (Πρώιμη ιολογική ανταπόκριση)
- HAART: Highly Active Antiretroviral Therapy (Τριπλή αντιρετροϊκή θεραπεία)
- HCV: Hepatitis C Virus
- HIV: Human Immunodeficiency Virus
- IFN: Ιντερφερόνη
- Peg – IFN: Πεγκυλιωμένη ιντερφερόνη
- NRTI: Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitor (Νουκλεοσιδικός Αναστολέας ανάστροφης τρανσκριπτάσης)
- NNRTI: Non -Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitor (Μη Νουκλεοσιδικός Αναστολέας ανάστροφης τρανσκριπτάσης)
- NVP: Nevirapine
- RTV: Ritonavir
- PI: Protease Inhibitor (Αναστολέας Πρωτεάσης)
- SVR: Sustained Virologic Response (Παρατεινόμενη ιολογική ανταπόκριση)





## **ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**



# ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1. ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ C

## 1.1. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ, ΤΡΟΠΟΙ ΜΕΤΑΔΟΣΗΣ

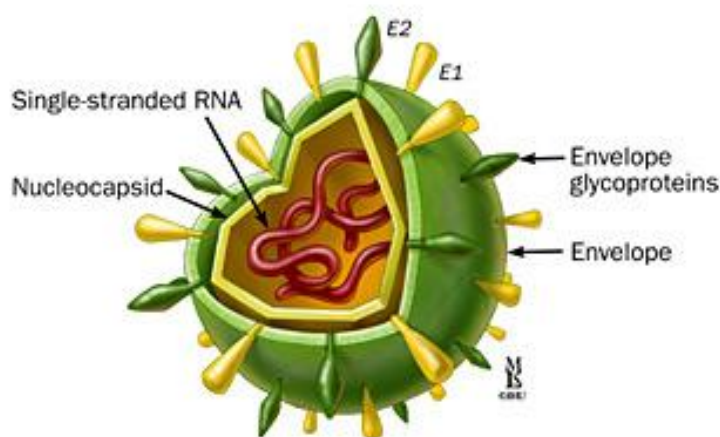
Η ηπατίτιδα C ενδημεί στα περισσότερα μέρη της γής. Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας εκτιμά ότι περί τα 170 εκατομμύρια άτομα είναι μολυσμένα με τον ιό HCV ενώ εκτιμά σε πάνω από 4 εκατομμύρια τις νέες μολύνσεις κάθε χρόνο, ώστε ο παγκόσμιος επιπολασμός της νόσου να ανέρχεται περίπου στο 3% (Shepard et al, 2005). Ο ιός της ηπατίτιδας C, ο οποίος ευθύνεται για τη συντριπτική πλειοψηφία της αποκαλούμενης παλαιότερα μη-A, μη- B ηπατίτιδας, μεταδίδεται παρεντερικά, δηλαδή κατόπιν επαφής του ατόμου με μολυσμένο αίμα, ή παράγωγα αίματος. Συνεπώς τα άτομα με το μεγαλύτερο κίνδυνο μόλυνσης περιλαμβάνουν, τους χρήστες ενδοφλέβιων ουσιών και τα πολυμεταγγιζόμενα άτομα (κυρίως εκείνα που έλαβαν μεταγγίσεις αίματος και παραγώγων πριν το 1992), ενώ ομάδες με μικρότερο κίνδυνο είναι οι ασθενείς σε αιμοκάθαρση, και οι επαγγελματίες υγείας. Η μετάδοση μέσω κοινωνικής επαφής και σεξουαλικής οδού φαίνεται να είναι χαμηλή. Ασυνήθης αλλά υπαρκτή είναι και η κάθετη μετάδοση από μητέρα φορέα στο παιδί. Η συχνότητα σε διάφορες μελέτες ποικίλλει ανάλογα με τους μελετώμενους πληθυσμούς, συνολικά όμως ανέρχεται σε περίπου 2%- 3% (Yeung L, 2001, Syriopoulou V. 2005). Η συχνότητα ποικίλλει γεωγραφικά: υπάρχουν χώρες με επιπολασμό μικρότερο από 0,5% και χώρες με επιπολασμό μεγαλύτερο από 15-20%. Στην Ελλάδα ο επιπολασμός της HCV λοίμωξης υπολογίζεται στο 1,5-2% του γενικού πληθυσμού, δηλαδή 150.000-200.000 άνθρωποι έχουν HCV λοίμωξη (Goritsas 2000, Gogos

2003). Μετά την καθιέρωση του ορολογικού ελέγχου των μονάδων αίματος το 1992, η συχνότητα της μετάδοσης της ηπατίτιδας C μέσω μετάγγισης έχει σχεδόν μηδενιστεί (Donahue J, 1992). Σε περίπου 10-20% των περιπτώσεων λοίμωξης δεν ανευρίσκεται παράγοντας κινδύνου (<http://www.cdc.gov/hepatitis/index.htm>)

## 1.2. Ο ΙΟΣ ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ C

### 1.2.1. Δομή

Ο ιός της ηπατίτιδας C ανήκει στο γένος *Hepacivirus* ένα μέλος της οικογένειας των *Flaviridae*

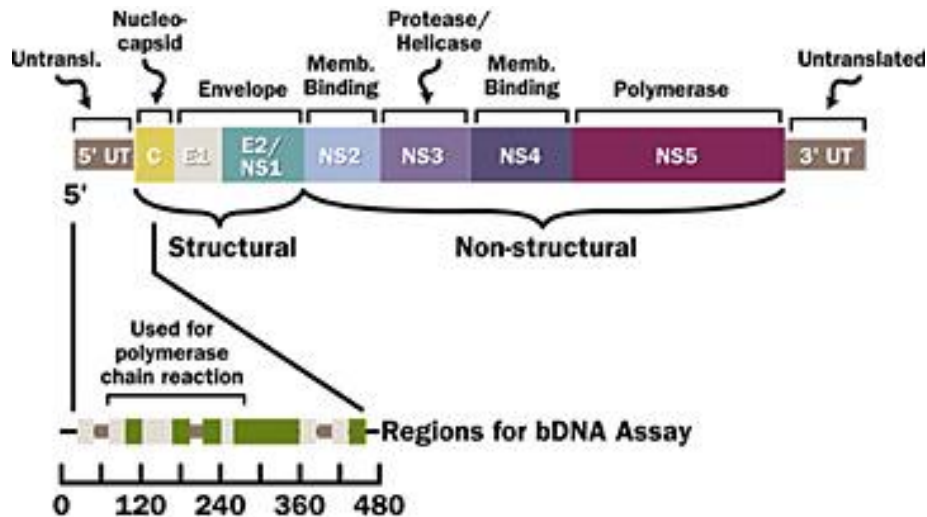


**Εικόνα 1.** Μορφολογία του HCV

Το σωματίδιο του HCV με διάμετρο περίπου 50 nm, αποτελείται από το γενετικό υλικό του πυρήνα (RNA), περιβαλλόμενο από ένα εικοσαεδρικό προστατευτικό πρωτεϊνικό κέλυφος, το οποίο περαιτέρω εγκλείεται σε ένα λιπιδικό περίβλημα κυτταρικής προέλευσης. Δύο γλυκοπρωτεΐνες του φακέλλου, οι E1 και E2, είναι ενσωματωμένες στο λιπιδικό περίβλημα (Εικόνα 1).

## 1.2.2. Μοριακή βιολογία

Η περιγραφή του γονιδιώματός του έγινε για πρώτη φορά από τους Choo και Kuo (Choo et al, 1989, Kuo et al 1989).



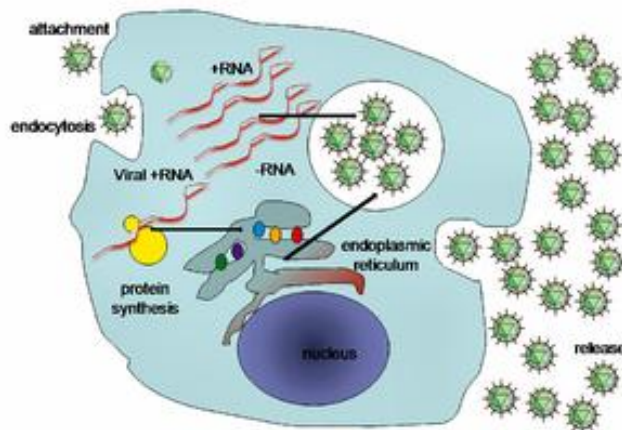
Εικόνα 2. Οργάνωση του γονιδιώματος του ιού της ηπατίτιδας C

Το γονιδίωμα του HCV είναι ευθύγραμμο και αποτελείται από μονόκλωνο RNA θετικής κατεύθυνσης μήκους περίπου 9.600 βάσεων. Αυτό το μοναδικό ανοικτό πλαίσιο ανάγνωσης μεταφράζεται για να παραχθεί ένα μόνο προϊόν πρωτεΐνης, το οποίο στη συνέχεια υφίσταται περαιτέρω επεξεργασία για να παράγει μικρότερες δραστικές πρωτεΐνες. Τον πλαισίου προηγούνται και έπονται αριθμός σιωπηρών νουκλεοτιδίων στα 5' και 3' άκρα του RNA, που δεν μεταφράζονται σε πρωτεΐνες (UTR), αλλά είναι σημαντικά για την μετάφραση και την αντιγραφή του RNA του ιού. Το 5' UTR έχει μία ριβοσωματική θέση πρόσδεσης (IRES), που ξεκινάει την μετάφραση ενός πολύ μεγάλου τμήματος πρωτεΐνης που περιέχει περίπου 3000 αμινοξέα. Η μεγάλη αρχικά παραγόμενη πρωτεΐνη κόβεται αργότερα από τις ιϊκές πρωτεάσες σε 10 μικρότερες πρωτεΐνες, που επιτρέπουν τον ιϊκό πολλαπλασιασμό μέσα

στο κύτταρο ξενιστή. Οι δομικές πρωτεΐνες που παράγονται από τον ιό της ηπατίτιδας C περιλαμβάνουν την πρωτεΐνη του πυρήνα και τις E1 και E2 γλυκοπρωτεΐνες του περιβλήματος ενώ οι μη δομικές πρωτεΐνες περιλαμβάνουν τις NS2, NS3, NS4, NS4A, NS4B, NS5, NS5A, και NS5B. (Εικόνα 2).

### 1.2.3. Πολλαπλασιασμός

Ο ιός αντιγράφεται κυρίως στα ηπατοκύτταρα, όπου εκτιμάται ότι καθημερινά κάθε μολυσμένο κύτταρο παράγει περίπου πενήντα ιικά σωματίδια. Ο ιός μπορεί επίσης να αντιγράφεται σε μονοπύρηνα κύτταρα περιφερικού αίματος, πιθανώς αντιπροσωπεύοντας τα υψηλά επίπεδα των ανοσολογικών διαταραχών που συνυπάρχουν σε ασθενείς με χρόνια HCV. Η είσοδος στα κύτταρα-ξενιστές προκύπτει μέσα από πολύπλοκες αλληλεπιδράσεις μεταξύ των σωματίων του ιού και μορίων της κυτταρικής επιφάνειας



Εικόνα 3. Ο κύκλος αντιγραφής του HCV

Μόλις εισέλθει στο εσωτερικό του ηπατοκυττάρου, ο HCV χρησιμοποιεί τμήματα του ενδοκυτταρικού μηχανισμού για την αντιγραφή του. Το γονιδίωμα του HCV μεταφράζεται για να παράγει μια

απλή πρωτεΐνη περίπου 3011 αμινοξέων. Η πολυπρωτεΐνη στη συνέχεια υφίσταται πρωτεολυτική επεξεργασία, με τη βοήθεια ιικών και κυτταρικών πρωτεασών και παράγονται τρεις δομικές και επτά μη δομικές (NS) πρωτεΐνες. Αντιγραφή του RNA λαμβάνει χώρα μέσω της ιικής RNA-εξαρτώμενης RNA πολυμεράσης NS5B. Παράγεται ένας αρνητικός κλώνος ενδιάμεσου RNA που στη συνέχεια χρησιμεύει ως εκμαγείο για την παραγωγή των νέων θετικών κλώνων ιικού γονιδιώματος, που περαιτέρω αναπαράγεται ή συσκευάζεται μέσα σε νέα σωματίδια του ιού. Τα νέα σωματίδια μέσω της εκκριτικής οδού απελευθερώνονται στην επιφάνεια του κυττάρου (Εικόνα 3).

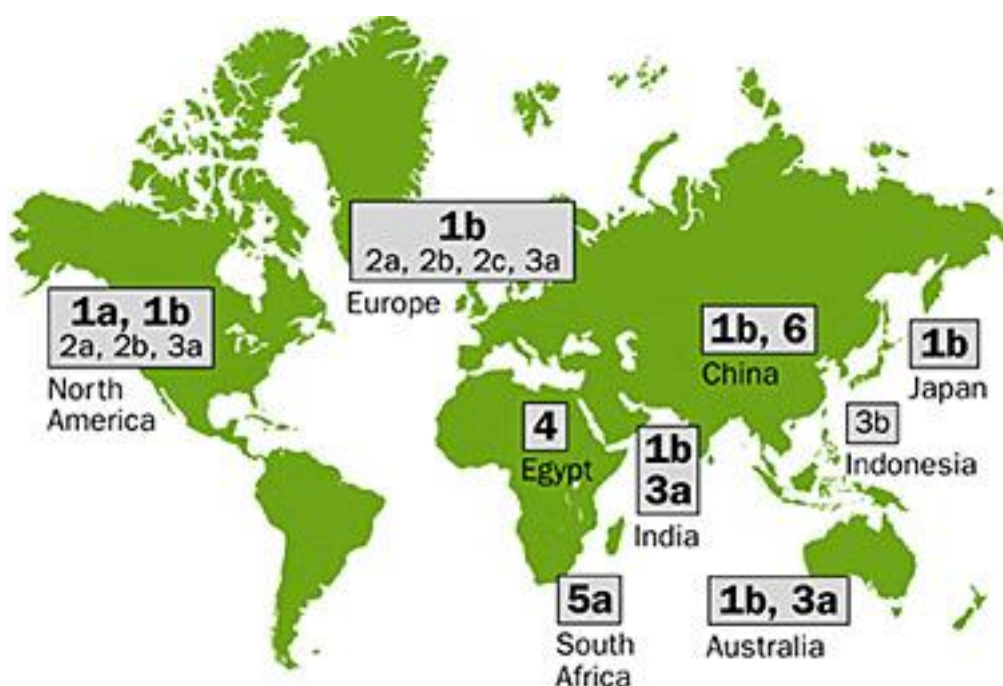
#### **1.2.4. Γονότυποι**

Ο HCV έχει μια ευρεία ποικιλία γονοτύπων καθώς μεταλλάσσεται γρήγορα λόγω του υψηλού ποσοστού σφάλματος από την πλευρά της ιικής RNA-εξαρτώμενης RNA πολυμεράσης και την εμφανή απουσία οιοδήποτε μηχανισμού διόρθωσης των σφαλμάτων αυτών. Ο ρυθμός μετάλλαξης παράγει τόσες πολλές παραλλαγές, που θεωρείται ένα οιονεί είδος αντί για ένα συμβατικό είδος του ιού, γεγονός που ερμηνεύει το φαινόμενο της ανοσολογικής διαφυγής. Η επισώρευση των μεταλλαγών, η επιλογή των πλέον προσαρμοσμένων ιικών στελεχών και η μετάδοση των αντίστοιχων γονιδιωμάτων με την πάροδο του χρόνου εντός συγκεκριμένων γεωγραφικών περιοχών ή επιδημιολογικών ομάδων, συνετέλεσαν στην προοδευτική χρονικά γενετική διαφοροποίηση – απόσχιση των γονοτύπων του HCV από το κοινό αρχέγονο στέλεχος του ιού. Τα διάφορα στελέχη του ιού μπορούν να ταξινομηθούν σε διακριτούς γονότυπους (τύπους και υπότυπους) (Simmonds et al, 1993, Simmonds 1995). Με την εφαρμογή της μεθόδου της φυλογενετικής ανάλυσης οι τύποι, υπότυποι και τα στελέχη διακρίνονται με βάση την

ποσοστιαία κατά μέσο όρο διαφοροποίηση επί της συνολικής αλληλουχίας των νουκλεοτιδίων τους κατά περίπου 30%, 20% και 10% αντίστοιχα.

Περιγράφονται έξι κύριοι τύποι του HCV (1-6) οι οποίοι περαιτέρω διακλαδίζονται σε περισσότερους των 80 υποτύπων που αναγνωρίζονται από την προσθήκη μικρών στοιχείων της αλφαβήτου (1a, 1b, 1c κλπ). Η γεωγραφική κατανομή τους φαίνεται στην εικόνα 4. Ο γονότυπος συσχετίζεται σημαντικά με την ανταπόκριση στην αντι-HCV θεραπεία (Farci P, 2000).

**Εικόνα 4.** Γεωγραφική κατανομή των πλέον συχνών γονοτύπων του HCV.





### 1.2.5. Εργαστηριακή διερεύνηση

Η διάγνωση βασίζεται στην ανίχνευση των αντι-HCV αντισωμάτων με ανοσοενζυμικές τεχνικές (ELISA) και επιβεβαιωτικές δοκιμασίες ανοσοστυπώματος (RIBA immunoblot assays). Για πρώτη φορά ο Kuo και συνεργάτες (Kuo G et al 1989), χρησιμοποιώντας ένα ανασυνδυασμένο μη δομικό ιϊκό αντιγόνο (C100-3) ανέπτυξαν ένα αντιδραστήριο ικανό να ανιχνεύει κυκλοφορούντα αντισώματα έναντι του HCV και έτσι διαπιστώθηκε ότι πάνω από 80% των περιπτώσεων μετά μετάγγισης μη Α μη Β ηπατίτιδας είχαν σαν αιτιολογικό παράγοντα τον HCV. Μίας δεύτερης γενιάς αντιδραστήριο βασισμένο σε περισσότερα από ένα HCV αντιγόνα συμπεριλαμβανομένων και δομικών, απέδειξε μεγαλύτερη ευαισθησία, ενώ ταυτόχρονα αναπτύχθηκαν και επιβεβαιωτικές μέθοδοι (RIBA). Αργότερα τρίτης γενιάς ELISA και RIBA αναπτύχθηκαν από την Ortho και Abbott τα οποία εκτός της μεγαλύτερης ευαισθησίας και ειδικότητας ανιχνεύουν τα αντισώματα νωρίτερα από της δεύτερης γενιάς. (Uyttendaele S et al 1994).

Επιπλέον, ήδη από το 1990 έγινε δυνατή η ανίχνευση του HCV – RNA στο πλάσμα, χάρις στην ανάπτυξη των τεχνικών αντίδρασης αλυσιδωτής πολυμεράσης (PCR). (Okamoto H et al, 1990). Ανιχνεύεται πολύ νωρίτερα από τα αντι –HCV αντισώματα μετά την οξεία λοίμωξη. Η ποιοτική μέτρηση του HCV –RNA μπορεί να τεκμηριώσει χρόνια λοίμωξη, ενώ η ποσοτική μέτρηση μπορεί να παρέχει πληροφορίες που αφορούν την πρόγνωση. Χρησιμοποιείται σαν δείκτης ανταπόκρισης στην αντι- HCV θεραπεία.

Τέλος ειδικές μοριακές τεχνικές έχουν αναπτυχθεί εμπορικά για την διάκριση των διαφόρων γονοτύπων του HCV.

### 1.3. ΦΥΣΙΚΗ ΙΣΤΟΡΙΑ HCV ΛΟΙΜΩΞΗΣ

Η φυσική ιστορία της HCV λοίμωξης παρουσιάζεται σχηματικά στο σχήμα 6. Η οξεία λοίμωξη μπορεί να αυτοπεριοριστεί ή να εξελιχθεί σε χρόνια HCV λοίμωξη και ηπατοκυτταρικό καρκίνο (ΗΚΚ).

#### 1.3.1. Οξεία HCV λοίμωξη

Η ηπατίτιδα C έχει χρόνο επώασης 6-12 εβδομάδες και τα κλινικά συμπτώματά της δεν διαφέρουν από άλλες ιογενείς ηπατίτιδες. Μπορεί να εκφραστεί ως ασυμπτωματική, ανικτερική, ικτερική ή κεραυνοβόλος. Σε ποσοστό μεγαλύτερο του 80% διατρέχει ασυμπτωματικά ή ανικτερικά και γιαυτό μπορεί να διαφύγει. Τα συμπτώματα περιλαμβάνουν ελαφρά κόπωση, ανορεξία, επιγαστραλγία και ίκτερο. Η οξεία λοίμωξη συνοδεύεται με αύξηση του HCV – RNA και ανιχνεύεται με αύξηση των τρανσαμινασών. (Alter et al 1992, Chung RT 2002). Η αύξηση των τρανσαμινασών μπορεί να παρουσιάζεται σαν μονοφασική, να είναι παρατεινόμενη ή να παρουσιάζει ταχείες αυξομειώσεις εν είδει «γιο-γιο» (Εικόνα 5 Α). Η οξεία λοίμωξη μπορεί να είναι σε ποσοστό 20-40% αυτοπεριοριζόμενη, (Εικόνας 5<sup>Α</sup>), ενώ 60-80 % δεν καθαίνουν τον ιό και η λοίμωξη εξελίσσεται προς χρόνια ενεργό ηπατίτιδα (Micallef JM et al 2006) με παρατεινόμενη ιαιμία (Εικόνα 5 Β).

Οι πολύπλοκοι μηχανισμοί που παρεμβαίνουν στην κάθαρση του ιού δεν είναι πλήρως διευκρινισμένοι και φαίνεται ότι αφορούν τόσο τον ιό όσο και τον ξενιστή. Έχουν παρατηρηθεί υψηλότερα ποσοστά κάθαρσης σε παιδιά ενώ η μετάπτωση σε χρονιότητα φαίνεται ότι είναι συχνότερη στους άνδρες, στη μαύρη φυλή, σε μετάδοση μεγάλου φορτίου μολυσματικού υλικού και σε περιπτώσεις ανοσοκαταστολής (Maheshwari A,2008). Κεραυνοβόλος μορφή εμφανίζεται σε λιγότερο από το 1% των περιπτώσεων οξείας ικτερικής HCV ηπατίτιδας και

συνήθως αφορά περιπτώσεις σποραδικής (κρυψιγενούς μετάδοσης) μορφής.

### **1.3.2. Παθογένεια και ανοσιακή απάντηση στην HCV λοίμωξη**

Η έκβαση μιας οξείας ιογενούς λοίμωξης και η μετάπτωση σε χρονιότητα θεωρείται ότι εξαρτάται κυρίως από τη διατήρηση ισορροπίας μεταξύ του ρυθμού με τον οποίο πολλαπλασιάζεται ο ιός και της ικανότητας του ανοσιακού συστήματος να προβάλλει μια ταχεία, πολύ ειδική αντι-ική απάντηση, έτσι ώστε να αναχαιτισθεί η λοίμωξη πριν προλάβει ο ιός να αναπτύξει στρατηγικές με τις οποίες θα διαφύγει της ανοσιακής επιτήρησης. Ο HCV ανήκει στην κατηγορία των παθογόνων μικροοργανισμών (όπως και ο HIV) που έχουν την ικανότητα να ρυθμίζουν με επιτυχία το ανοσιακό σύστημα για το δικό τους όφελος. Οι στρατηγικές διαφυγής που χρησιμοποιεί ο HCV βασίζονται στην ικανότητά του α) να μεταλλάσσεται με ταχύ ρυθμό, β) να επεμβαίνει στην λειτουργία των υποδοχέων του TNF, γ) να αναστέλλει την απόπτωση και δ) να προσβάλλει τα περιφερικά λεμφοκύτταρα τα οποία λειτουργούν σαν «δεξαμενή» του ιού.

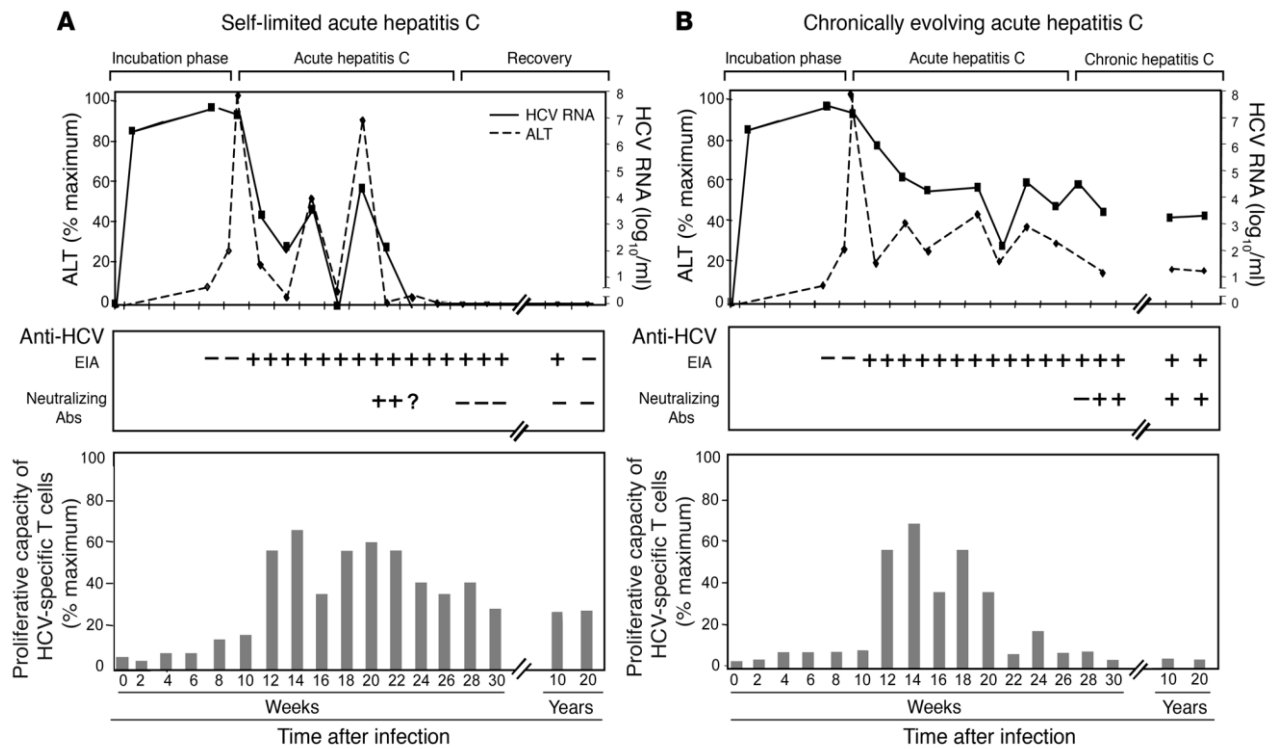
*α. Φυσική ανοσιακή απάντηση.* Το χαρακτηριστικό γνώρισμα της ανοσιακής απάντησης έναντι του HCV είναι η άμεση αύξηση παραγωγής ιντερφερονών τύπου I (αρχικά IFN-β και στη συνέχεια IFN-α) και κυτταροκινών, από τα προσβληθέντα από τον ιό ηπατοκύτταρα. Η παραγωγή αυτή δημιουργεί ένα εχθρικό περιβάλλον για τον ιό και εμποδίζει την προσβολή άλλων κυττάρων, συμμετέχοντας στην κάθαρση του ιού. Παρόλα αυτά φαίνεται ότι ο HCV διαθέτει μηχανισμούς που ελέγχουν την ενεργοποίηση των ανωτέρω διαδικασιών και όπως έχει αποδειχθεί μπορεί να συνυπάρχει με τον ξενιστή. Παρόμοια αντίική

δράση έχουν και οι ιντερλευκίνες IL28A/B και IL 29. Επιπλέον τα κύτταρα του ανοσιακού συστήματος συμμετέχουν στον έλεγχο της λοίμωξης. Κατά τη διάρκεια της οξείας λοίμωξης η διέγερση των NK κυττάρων οδηγεί σε παραγωγή IFN- $\gamma$  και καταστροφή των μολυσμένων ηπατοκυττάρων. Γενετικοί παράγοντες επηρεάζουν τον έλεγχο του HCV μέσω των NK. Η παραγωγή IFN- $\gamma$  διεγείρει τα κύτταρα Kupffer και την παραγωγή προφλεγμονωδών μορίων, όπως TNF- $\alpha$ , και IL-18. Ο ρόλος αυτών δεν έχει πλήρως διευκρινισθεί, φαίνεται όμως ότι προάγουν την ιστική φλεγμονή και ελέγχουν τον πολλαπλασιασμό του ιού και την ωρίμανση των δενδριτικών κυττάρων τα οποία με τη σειρά τους, βοηθούν το γεφύρωμα της φυσικής και επίκτητης ανοσίας (Terilli R , 2012).

***$\beta$ .Επίκτητη ανοσιακή απάντηση.*** Ιδιαίτερο χαρακτηριστικό της επίκτητης ανοσιακής απάντησης στην HCV λοίμωξη είναι η καθυστερημένη έναρξη της ειδικής απάντησης T λεμφοκυττάρων.

***Χυμική ανοσία.*** Ειδικά HCV T λεμφοκύτταρα ανιχνεύονται 5-9 εβδομάδες μετά τη λοίμωξη ενώ τα ειδικά αντισώματα μπορεί να χρειασθούν 8-20 εβδομάδες για να αναπτυχθούν. Αρχικά θεωρήθηκε ότι δεν είναι απαραίτητα για την κάθαρση του ιού, καθώς άτομα με αγαμμασφαιριναιμία είναι ικανά για ιϊκή κάθαρση, ενώ συνήθως υψηλοί τίτλοι ανιχνεύονται αργότερα μετά την εγκατάσταση της χρόνιας λοίμωξης. Τελευταίες μελέτες όμως, στις οποίες παρατηρήθηκε αιχμή παραγωγής αντισωμάτων κατά τη φάση της κάθαρσης του ιού, πιθανά ανατρέπουν τη θεωρία αυτή. Η αντισωματική απάντηση συμμετέχει στην πρόκληση ανοσοπαθολογικών μεταβολών που παρατηρούνται στη χρόνια HCV λοίμωξη και ιδιαίτερα αυτοανόσων καταστάσεων. Υπό την μορφή ανοσοσυμπλεγμάτων, φαίνεται ότι συμμετέχουν στην εμφάνιση της

μεικτής κρυσφαιριναιμίας και non Hodgkin λεμφωμάτων από Β κύτταρα (Rehermann B, 2009).



**Εικόνα 5.** Πορεία της οξείας HCV λοίμωξης **A** Αυτοπεριοριζόμενη λοίμωξη. Εικόνα «γιο-γιο» της ALT, καταστολή του HCV-RNA και ανίχνευση ειδικής ανοσιακής απάντησης **B**. Εξέλιξη προς χρονιότητα. Παραμονή ανιχνεύσιμου ιικού φορτίου, απουσία ειδικής ανοσιακής απάντησης.

Κυτταρική ανοσία. Η κυτταρική απάντηση αναπτύσσεται 5 με 12 εβδομάδες μετά τη λοίμωξη και αντίθετα με την ανάπτυξη αντισωμάτων είναι καθοριστική για την κάθαρση του ιού (Lechner F et al, 2000). Στους ασθενείς με οξεία αυτοπεριοριζόμενη ηπατίτιδα C, τα CD4<sup>+</sup> περιφερικά λεμφοκύτταρα εμφανίζουν έντονη απάντηση έναντι του NS3/NS4 και της ελικάσης, γεγονός το οποίο δείχνει ότι τα κύτταρα αυτά έχουν ιδιαίτερη παθογενετική σημασία στην πρόκληση της ηπατικής βλάβης.

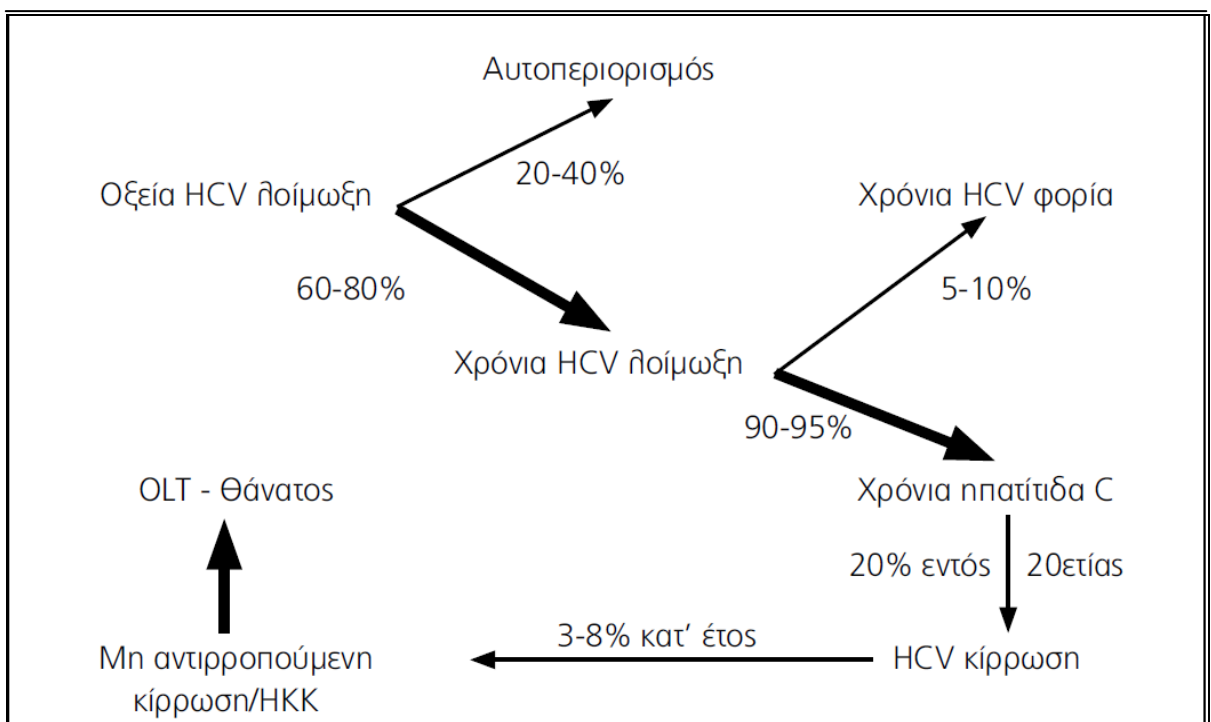
Η ανάπτυξη ισχυρής απάντησης από κυτταροτοξικά CD8+ T λεμφοκύτταρα είναι επίσης σημαντική για την έκβαση της λοίμωξης. Τα CD8+ κύτταρα, αφού αναγνωρίσουν τα ιικά πεπτίδια στην επιφάνεια των μολυσμένων από τον ιό κυττάρων, συνδέονται με μόρια της τάξης I του μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας (MHC) και στη συνέχεια προβαίνουν στην καταστροφή των κυττάρων αυτών. Όμως, ο ρυθμός της εξουδετέρωσης του ιού μέσω των CD8+ λεμφοκυττάρων υπολείπεται έναντι του ρυθμού πολλαπλασιασμού του. Ένας άλλος μηχανισμός που συμβάλλει ουσιαστικά στην αποτυχία της ανοσιακής απάντησης να εξουδετερώσει τον HCV, είναι η μεγάλη ικανότητα του ιού να μεταλλάσσεται κάτω από την ανοσολογική πίεση που υφίσταται (Farci P et al, 2000). Άλλος μηχανισμός διαφυγής της ανοσολογικής επίθεσης είναι η μόλυνση ανοσοϊκανών λεμφοκυττάρων από τον ιό και συνεπώς η μεταβολή της ανοσιακής απάντησης. Επίσης η εξάντληση των ειδικών για τον HCV T λεμφοκυττάρων λόγω της έκθεσής τους σε υψηλό φορτίο του ιού συμβάλλει και αυτή στην αποτυχία της ανοσολογικής απάντησης έναντι του HCV (Thimme R et al, 2001).

### **1.3.3. Χρόνια HCV λοίμωξη**

Οι πάσχοντες από χρόνια λοίμωξη μπορεί να παρουσιάζουν ιστολογικές αλλοιώσεις και ίνωση άλλοτε άλλης βαρύτητας (χρόνια επιμένουσα, χρόνια ενεργός ηπατίτιδα ή κίρρωση). Η ίνωση είναι αποτέλεσμα χρόνιας φλεγμονής που οδηγεί σε καταστροφή της ηπατικής αρχιτεκτονικής και διαταραχή της ηπατικής μικροκυκλοφορίας και λειτουργίας του ηπατοκυττάρου. Ένα μικρό ποσοστό δεν παρουσιάζουν ιστολογικές αλλοιώσεις («ασυμπτωματικοί φορείς»). Στο 30-40% των περιπτώσεων, αυξημένες τρανσαμινάσες είναι το μόνο εύρημα χρονιότητας της λοίμωξης, χωρίς να απεικονίζουν πάντα τον βαθμό της

ηπατικής φλεγμονώδους δραστηριότητας. Αντίθετα άτομα με φυσιολογικές τρανσαμινάσες μπορεί να παρουσιάζουν ιστολογικές αλλοιώσεις χρόνιας ηπατίτιδας ή και κίρρωσης. Οι ασθενείς με χρόνια λοίμωξη μπορεί να παρουσιάζουν εξάρσεις και υφέσεις της νόσου ή να παρουσιάζουν εξωηπατικές εκδηλώσεις. Η χρόνια ηπατίτιδα διατρέχει ήπια τα πρώτα 10-20 χρόνια, όμως περίπου 20% των ασθενών μετά 20-30 χρόνια καταλήγει σε κίρρωση και ΗΚΚ (Weise M, 1995) Η κατ' έτος ανάπτυξη ΗΚΚ σε κίρρωτικούς ασθενείς υπολογίζεται στο 2,5% (Εικόνα 6). Παράγοντες που σχετίζονται με την ταχύτητα εξέλιξης της χρόνιας ηπατίτιδας C σε κίρρωση είναι η ηλικία κατά τη λοίμωξη, ο χρόνος από τη λοίμωξη, η κατάχρηση αλκοόλ, και οι συλλοιμώξεις με HBV και HIV (Poynard T et al,1997).

**Εικόνα 6.** Η φυσική εξέλιξη της οξείας HCV λοίμωξης



### 1.3.4. Κλινική εκτίμηση της ηπατικής νόσου

Η εξέλιξη της HCV λοίμωξης σε κίρρωση και τελικού σταδίου ηπατική νόσο (ESLD- End Stage Liver Disease), χαρακτηρίζεται από κλινικές εκδηλώσεις που σχετίζονται με προοδευτική έκπτωση της λειτουργίας των ηπατοκυττάρων και αύξηση της πίεσης στην πυλαία φλέβα. Τα εργαστηριακά ευρήματα της ηπατικής ανεπάρκειας αντανakλούν: α) τη συνθετική αδυναμία του ηπατοκυττάρου και περιλαμβάνουν υπολευκωματιναιμία, παράταση του χρόνου προθρομβίνης και μερικής θρομβοπλαστίνης και πτώση του, ινωδογόνου, β) υπερχολερυθριναιμία και γ) θρομβοπενία λόγω καταστροφής των αιμοπεταλίων στον σπλήνα. Οι κλινικές εκδηλώσεις της πυλαίας υπέρτασης περιλαμβάνουν σπληνομεγαλία, ασκίτη, αιμορραγία από κίρσους οισοφάγου ενώ πιθανά να συμβάλει και την παθοφυσιολογία της οξείας ή χρόνιας ηπατικής εγκεφαλοπάθειας. Κλινικά σημεία στην φυσική εξέταση περιγράφονται στον πίνακα 1.

**Πίνακας 1.** Κλινικά ευρήματα σχετιζόμενα με κίρρωση

- Ηπατικές παλάμες
- Γυναικομαστία
- Ατροφία όρχεων
- Σπληνομεγαλία
- Απώλεια τριχών εφηβαίου
- Αραχνειδείς σπίλοι
- Κοιλιακό επίφλεβο
- Μυική ατροφία



Το ευρύτερα χρησιμοποιούμενο σύστημα εκτίμησης της βαρύτητας της ηπατικής νόσου και πρόγνωσης προς τελικού σταδίου ηπατική ανεπάρκεια είναι το Child –Turcotte –Pugh. Εργαστηριακές παράμετροι που περιλαμβάνονται είναι τα επίπεδα της χολερυθρίνης, η αλβουμίνη και ο χρόνος προθρομβίνης (INR). Σαν κλινικά ευρήματα ελέγχονται η ύπαρξη ασκίτη και ηπατικής εγκεφαλοπάθειας. Η βαθμολόγηση του συστήματος κατατάσσει τους ασθενείς σε στάδια A, B ή C (Pugh R et al 1973) (Πίνακας 2).

**Πίνακας 2.** Υπολογισμός Child- Turcotte- Pough Score για την εκτίμηση της βαρύτητας της ηπατικής νόσου

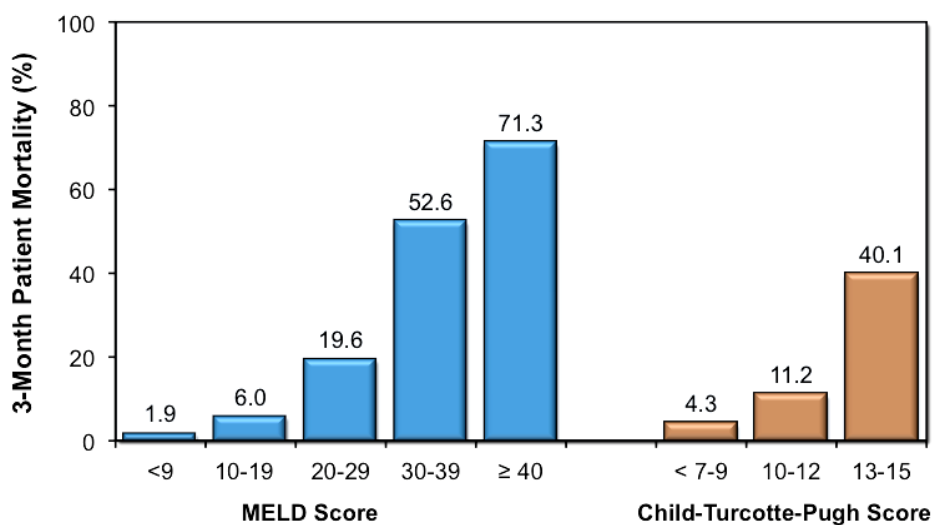
|                          | 1    | 2                     | 3                      |
|--------------------------|------|-----------------------|------------------------|
| Χολερυθρίνη ορού (mg/dl) | <2   | 2-3                   | >3                     |
| Αλβουμίνη (gr/dL)        | >3.5 | 3.0-3.5               | <30                    |
| Χρ. Προθρομβίνης (INR)   | <1.7 | 1.7-2.3               | >2.3                   |
| Ασκίτης                  | όχι  | Εύκολα<br>ελεγχόμενος | Δύσκολα<br>ελεγχόμενος |
| Ηπατική Εγκεφαλοπάθεια   | όχι  | ελάχιστη              | προχωρημένη            |

Child – Pough score A: 5-6, B: 7-9, C: >10

Πιο πρόσφατα αναπτύχθηκε το MELD score, αρχικά σαν δείκτης σοβαρότητας της νόσου, για εκτίμηση των ασθενών που πρόκειται να υποβληθούν σε μεταμόσχευση ήπατος, αλλά σταδιακά φάνηκε ότι παρέχει αξιόπιστες πληροφορίες για την εκτίμηση της επιβίωσης των ασθενών σε τελικού σταδίου ηπατική νόσο (ESLD). Περιλαμβάνει τα επίπεδα χολερυθρίνης, και κρεατινίνης και το χρόνο προθρομβίνης εκπεφρασμένο σαν International Normalized Ratio (INR). (Malinoc M et al,2000). Ο υπολογισμός του MELD Score γίνεται ως εξής :

$MELD\ Score = (0.957 * \ln(\kappa\rho\epsilon\alpha\tau\iota\nu\acute{\iota}\nu\eta\ \omicron\rho\omicron\upsilon) + 0.378 * \ln(\chi\omicron\lambda\epsilon\rho\upsilon\theta\rho\iota\nu\eta\ \omicron\rho\omicron\upsilon) + 1.120 * \ln(INR) + 0.643 ) * 10$  (σε ασθενείς υπό αιμοκάθαρση η τιμή της κρεατινίνης υπολογίζεται στο 4.0)

Πλεονεκτήματα του MELD score είναι η χρήση αντικειμενικών εργαστηριακών ευρημάτων και η ανάπτυξη και επικύρωσή του με μαθηματικές και στατιστικές τεχνικές. Περιορισμοί του η ελαττωμένη προγνωστική του αξία για πάνω από 3 μήνες και η πιθανότητα λανθασμένου υπολογισμού αυξημένης κρεατινίνης από πρωτοπαθή νεφρική νόσο στο score. (Pagliaro L, 2002). Στην εικόνα 7 παρουσιάζονται τα ποσοστά 3μηνιαίας θνησιμότητας με τα δύο προαναφερόμενα συστήματα κλινικής εκτίμησης της ηπατικής νόσου.



**Εικόνα 7** . Πιθανότητα θανάτου σε 3 μήνες υπολογισμένη με τα Child- Pugh και MELD scores.

### 1.3.5. HCV και εξωηπατικές εκδηλώσεις

Πολλές εξωηπατικές εκδηλώσεις έχουν αναφερθεί στην πορεία της χρόνιας HCV λοίμωξης. Οι διάφορες μελέτες αναφέρουν ότι ποσοστό 40-70% θα αναπτύξει τουλάχιστον μία εξωηπατική εκδήλωση κατά τη διάρκεια της νόσου ενώ θα μπορούσε να είναι το πρώτο σημάδι για τη διάγνωση της HCV λοίμωξης (Gallosi et al, 2007). Φαίνεται ότι η χρονιότητα της νόσου έχει σαν αποτέλεσμα την συσσώρευση κυκλοφορούντων ανοσοσυμπλεγμάτων και την εμφάνιση αυτοάνοσων εκδηλώσεων (Angello et al, 2004). Η πιο συχνή και μελετημένη εκδήλωση είναι η μικτή κρυσφαιριναιμία, η οποία συνήθως είναι τύπου II και III (Wong VS et al, 1996). Πρόκειται για συστηματική αγγειίτιδα, χαρακτηριζόμενη από εναπόθεση ανοσοσυμπλεγμάτων σε μεσαία και μικρά αγγεία και εμφάνιση κλινικών εκδηλώσεων. Κλινικά εμφανίζεται με: α) εκδηλώσεις από το δέρμα (λευκοκυτταροκλαστική αγγειίτιδα), β) μεμβρανώδη σπειραματονεφρίτιδα, που παρουσιάζεται σαν νεφρωσικό σύνδρομο και οξεία νεφρική ανεπάρκεια και γ) εκδηλώσεις περιφερικής νευροπάθειας. Άλλη συχνά εμφανιζόμενη εκδήλωση είναι τα N. Hodgkin λεμφώματα, κυρίως χαμηλής κακοήθειας (Mele A et al, 2003). Σπανιότερες εξωηπατικές εκδηλώσεις που έχουν συσχετιστεί με την ηπατίτιδα C είναι από το δέρμα : ομαλός λειχήνας και όψιμη δερματική προρφυρία, από τους ενδοκρινείς αδένες σακχαρώδης διαβήτη και υποθυρεοειδισμός, και ρευματικές εκδηλώσεις όπως σύνδρομο Sjogren και αρθρίτιδα είτε προσομοιάζουσα κλινικά με τη ρευματοειδή αρθρίτιδα, είτε σαν ολιγοαρθρίτιδα μεσαίων και μεγάλων αρθρώσεων.

## 1.4.ΙΣΤΟΠΑΘΟΛΟΓΙΚΑ ΕΥΡΗΜΑΤΑ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ C

### 1.4.1. Βιοψία ήπατος

Η δια βελόνης βιοψία του ήπατος αποτελεί την κύρια μέθοδο διερευνήσεως του ηπατικού ιστού στην HCV λοίμωξη. Η βιοψία ήπατος δεν είναι απαραίτητη για την διάγνωση της HCV λοίμωξης αλλά χρησιμεύει κυρίως για να δώσει προγνωστικά στοιχεία τα οποία πιθανώς θα κατευθύνουν την χορήγηση θεραπείας. Στην πρώτη κατηγορία βλαβών ανήκει η χρόνια πυλαία φλεγμονή, κυρίως με τη μορφή λεμφοκυτταρικών αθροίσεων στα πυλαία διαστήματα, η περιπυλαία φλεγμονή και η λοβιακή δραστηριότητα με τη μορφή είτε των λυτικών νεκρώσεων είτε με τη μορφή των αποπτωτικών σωματίων. Η ύπαρξη στεάτωσης ανέρχεται σε ποσοστό 50-70% και η βαρύτητά της κυμαίνεται. Παρόλο που οι βλάβες των χοληφόρων είναι σχετικά ήπιες, είναι σχεδόν πάντα παρούσες και περιλαμβάνουν μέτρια ανισοκυττάρωση πυρήνων και κενोटόπια κυταροπλάσματος. (Geller SA 2003). Σύμφωνα με την ιστολογική εικόνα η νόσος βαθμονομείται και σταδιοποιείται. Για την βαθμονόμηση αξιολογούνται η νέκρωση και η φλεγμονή ενώ για το στάδιο της νόσου εκτιμάται ο βαθμός της ίνωσης και της αρχιτεκτονικής διαταραχής με score από 0-6. Τα τελευταία χρόνια έχουν χρησιμοποιηθεί διάφορα συστήματα ταξινόμησης. Η χρήση διαφορετικών συστημάτων ταξινόμησης, δημιούργησε σημαντικά προβλήματα στη σύγκριση αποτελεσμάτων διαφόρων μελετών. Τα περισσότερο συχνά χρησιμοποιούμενα από αυτά είναι τα : κατά Ishak et al (Ishak et al 1995) (Πίνακας 3 και Πίνακας 4)), κατά Knodell et al (1981) και της ομάδας METAVIR (Bedossa P et al, 1996). Το τελευταίο το οποίο περιλαμβάνει στον αλγόριθμό του μόνο τις παραμέτρους της

εστιακής νέκρωσης και της λοβιακής νέκρωσης, φαίνεται να χρησιμοποιείται συχνότερα στις πιο πρόσφατες μελέτες. Η ανάπτυξη ηπατικής ίνωσης είναι επιπλοκή της χρόνιας φλεγμονής. Χαρακτηρίζεται από την εναπόθεση εξωκυττάριου υλικού, οδηγώντας σε διαταραχή της ηπατικής αρχιτεκτονικής με επιδείνωση της μικροκυκλοφορίας του ήπατος και της λειτουργίας των ηπατικών κυττάρων. Το στάδιο της ίνωσης είναι το αποτέλεσμα της διαταραχής της ισορροπίας μεταξύ της συνθέσεως και της αποδομήσεως των συστατικών του εξωκυττάριου υλικού. Τα αστεροειδή κύτταρα του ήπατος είναι τα κύρια κύτταρα τα οποία εμπλέκονται στην παραγωγή εξωκυττάριου υλικού (κολλαγόνου, ινονεκτίνης, λαμινίνης). Άν και τα αστεροειδή κύτταρα παράγουν εξωκυττάριο υλικό κάτω από την επήρεια ποικίλων ερεθισμάτων (αυξητικών παραγόντων, κυτταροκινών, παραγώνων υπεροξειδώσεως λιπιδίων), παράγουν επίσης και μεταλλοπρωτεϊνάσες (MMPs) που ελέγχουν και προάγουν την αποδόμηση αυτού του υλικού (Poynard et al 2000). Τελικά, η πρωτεολυτική δράση των MMPs είναι δυνατόν να ανασταλεί από τους ιστικούς αναστολείς των μεταλλοπρωτεϊνών, μία ομάδα πρωτεϊνών που παράγονται επίσης από τα αστεροειδή κύτταρα του ήπατος. Ο βαθμός της φλεγμονώδους δραστηριότητας ο οποίος αντιπροσωπεύει τη νέκρωση δεν είναι καλός δείκτης της προόδου της ίνωσης.

**Πίνακας 3.** Νεκροφλεγμονώδης δραστηριότητα χρόνιας ηπατίτιδας (Hepatitis Activity Index, HAI: 0-18). Ταξινόμηση κατά Ishak et al ]

| <b>ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΗ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ</b>                                  | <b>ΒΑΘΜΟΣ</b> |
|---|---------------|
| <b>Πυλαία φλεγμονή</b>  |               |
| Απουσία   | 0             |
| Ήπια σε μερικά ή σε όλα τα πυλαία                             | 1             |
| Μέτρια σε μερικά ή σε όλα τα πυλαία                           | 2             |
| Μέτρια/πυκνή σε όλα τα πυλαία                                 | 3             |
| Πυκνή σε όλα τα πυλαία  | 4             |
| <b>Περιπυλαία ηπατίτιδα</b>                                   |               |
| Απουσία   | 0             |
| Ήπια (εστιακή, λίγα πυλαία)                                   | 1             |
| Ήπια/μέτρια (εστιακή, περισσότερα πυλαία)                     | 2             |
| Μέτρια (συνεχής <50% των πυλαίων)                             | 3             |
| Ικανή (συνεχής >50%)  | 4             |
| <b>Εστιακή νέκρωση (λυτική ή αποπτωτική)/Εστιακή φλεγμονή</b> |               |
| Μία εστία X 10 αντικειμενικό                                  | 1             |
| Δύο-τέσσερις εστίες X 10 αντικειμενικό                        | 2             |
| Πέντε-δέκα εστίες X 10 αντικειμενικό                          | 3             |
| Περισσότερες από δέκα εστίες X 10 αντικειμενικό               | 4             |
| <b>Συρρέουσες νεκρώσεις</b>                                   |               |
| Απουσία   | 0             |
| Εστιακή συρρέουσα νέκρωση                                     | 1             |
| Στη ζώνη 3 σε μερικές περιοχές                                | 2             |
| Στη ζώνη 3 στις περισσότερες περιοχές                         | 3             |
| Ζώνη 3 + λίγες πυλαιοκεντρικές γεφυρικές νεκρώσεις            | 4             |
| Ζώνη 3 + πολυάριθμες πυλαιοκεντρικές γεφυρικές νεκρώσεις      | 5             |
| Πανλοβιακές νεκρώσεις   | 6             |
| HAI = 1-3: Ελάχιστες αλλοιώσεις                               |               |
| HAI = 4-8: Ήπια χρόνια ηπατίτιδα                              |               |
| HAI = 9-12: Μέτρια χρόνια ηπατίτιδα                           |               |
| HAI = 13-18: Ικανή χρόνια ηπατίτιδα                           |               |

**Πίνακας 4.** Σταδιοποίηση χρόνιας ηπατίτιδας. Ταξινόμηση κατά Ishak et al

| <b>ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΗ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ</b>  | <b>ΣΤΑΔΙΟ</b> |
|---|---------------|
| Όχι ίνωση   | 0             |
| Διεύρυνση μερικών πυλαίων από ινώδη ιστό, με ή χωρίς βραχέα ινώδη διαφραγμάτια                          | 1             |
| Διεύρυνση των περισσότερων πυλαίων από ινώδη ιστό, με ή χωρίς βραχέα ινώδη διαφραγμάτια                 | 2             |
| Διεύρυνση των περισσότερων πυλαίων από ινώδη ιστό, με λίγες πυλαιο-πυλαίες γέφυρες                      | 3             |
| Διεύρυνση των περισσότερων πυλαίων από ινώδη ιστό, με έντονες πυλαιο/πυλαίες ή πυλαιο/κεντρικές γέφυρες | 4             |
| Έντονες πυλαιο/πυλαίες ή πυλαιο/κεντρικές γέφυρες με περιστασιακούς όζους (ατελής κίρρωση)              | 5             |
| Κίρρωση προφανής ή οριστική   | 6             |

#### **1.4.2 Μη επεμβατική αξιολόγηση της ηπατικής ίνωσης**

Η βιοψία ήπατος θεωρείται το “gold standard” για την εκτίμηση της βαρύτητας της ηπατικής ίνωσης, είναι όμως μια επεμβατική διαγνωστική μέθοδος με περίπου 0,5% σοβαρές επιπλοκές (Piccinino F et al, 1986). Επίσης εάν το δείγμα από τη βιοψία είναι μικρότερο από 15 mm, μειώνεται πάρα πολύ η αξιοπιστία των ευρημάτων. Τα τελευταία χρόνια έχουν αναπτυχθεί διάφορες μη επεμβατικές εναλλακτικές μέθοδοι διάγνωσης της ηπατικής ίνωσης που βασίζονται κυρίως σε ορολογικούς δείκτες έμμεσα συσχετιζόμενους με το μηχανισμό της ίνωσης. Σε μια μεγάλη μελέτη έγινε σύγκριση 6 δεικτών μεταξύ τους αλλά και με τον ιστολογικό βαθμό της ίνωσης (Leroy V, 2007). Τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής θεωρούν ότι οι μέθοδοι αυτές μπορεί να εκτιμήσουν σωστά

την ίνωση στο ένα τρίτο περίπου των ασθενών, όταν χρησιμοποιηθούν σε συνδυασμό. Πρόσφατα, ως μέσο για την εκτίμηση της ηπατικής ίνωσης προτάθηκε μία νέα μη επεμβατική απεικονιστική μέθοδος, η ελαστογραφία (Fibroscan). Το FibroScan υπολογίζει τον βαθμό της ηπατικής ίνωσης με βάση την ταχύτητα διέλευσης ελαστικών κυμάτων μέσω του ηπατικού παρεγχύματος. Τα ελαστικά αυτά κύματα παράγονται και ανιχνεύονται με τη βοήθεια κεφαλής ανιχνευτή υπερήχων, η οποία τοποθετείται στον άξονα ενός δονητή. Η ταχύτητα διέλευσης εξαρτάται από τη σκληρότητα-ακαμψία του ήπατος. Όσο μεγαλύτερη είναι η ακαμψία του ηπατικού παρεγχύματος και κατ'επέκταση ο βαθμός της ηπατικής ίνωσης, τόσο ταχύτερη είναι η διέλευση των ελαστικών κυμάτων. Μονάδα μέτρησης της μεθόδου είναι το kPa.(Ziol M et al, 2005). Παρόλο που αποτελέσματα διάφορων μελετών δείχνουν ότι με συνδυασμό των μεθόδων αυτών μπορεί να εκτιμηθεί ο βαθμός της ίνωσης σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα φαίνεται ότι δεν μπορούν να αντικαταστήσουν πλήρως την ηπατική βιοψία (Poynard et al, 2010).



## 1.5. ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Πρώτες αναφορές για αντιμετώπιση της ηπατίτιδας C με χορήγηση ιντερφερόνης A γίνονται από τον Hoofnagle το 1986 σε πιλοτική μελέτη και από τον Di Bisceglie και συνεργάτες σε τυχαιοποιημένη διπλή τυφλή ελεγχόμενη μελέτη το 1989. Στις μελέτες αυτές ήταν σαφής η ευεργετική δράση της ιντερφερόνης A τόσο στην ηπατική βιοχημεία, όσο και στην ηπατική φλεγμονή. Τα αποτελέσματα αυτά επιβεβαιώθηκαν και από άλλους ερευνητές (Davis G et al. 1989).

Οι ιντερφερόνες A είναι οικογένεια τουλάχιστον 20 χημικά συγγενών γλυκοπρωτεϊνών που παράγονται φυσιολογικά από διάφορους τύπους κυττάρων που εμφανίζουν αντι-ϊική, αντι-πολλαπλασιαστική και ανοσοτροποποιητική δράση. Στην ηπατίτιδα C φαίνεται ότι προεξάρχει η αντιϊική τους δράση.

Σαν μονοθεραπεία, η **ιντερφερόνη A** χρησιμοποιήθηκε σε δόση 3 MU τρεις φορές την εβδομάδα, σε ασθενείς με επίπεδα τρανσαμινασών > 2 φορές τις φυσιολογικές τιμές και ιστολογικά διαπιστωθείσα ενεργό νόσο. Σαν κριτήρια ανταπόκρισης στη θεραπεία ορίζεται η ομαλοποίηση των τρανσαμινασών (βιοχημική ανταπόκριση) και η αρνητικοποίηση του ιϊκού φορτίου (ιολογική ανταπόκριση), στο τέλος της θεραπείας (ETR), καθώς και 6 μήνες μετά τη διακοπή της θεραπείας (SVR). Τα ποσοστά της αρχικής ανταπόκρισης με τη μονοθεραπεία πλησιάζουν στο 50%, ενώ περίπου 50% των ανταποκριθέντων παρουσιάζουν επανενεργοποίηση του ιού μετά τη διακοπή της θεραπείας (Garson JA et al 1992).

Στις μελέτες αυτές σαν προγνωστικοί δείκτες καλής ανταπόκρισης αναγνωρίστηκαν η νεαρή ηλικία, το γυναικείο φύλο, η απουσία κίρρωσης, το χαμηλό ιϊκό φορτίο του ιού και η παρουσία γονοτύπων 2 και 3 (Davis G et al. 1994). Η ιντερφερόνη A διαπιστώθηκε ότι είχε

ευεργετική δράση και στις εξωηπατικές εκδηλώσεις της ηπατίτιδας C, ειδικότερα στα επίπεδα της κρυσφαιριναιμίας, την αγγειίτιδα και τη νεφρική λειτουργία (Misiani R et al. 1994)

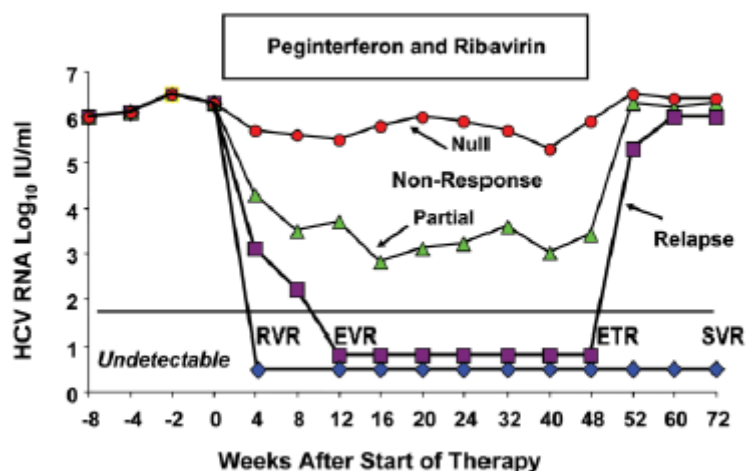
Οι πιο συχνές παρενέργειες της θεραπείας με ιντερφερόνη Α είναι πυρετός, κακουχία, μυαλγίες (flu-like syndrome), που εμφανίζονται 4-8 ώρες μετά η χορήγηση του φαρμάκου και διαρκούν περί τις 12-24 ώρες. Συχνά επίσης παρουσιάζεται μυελοτοξικότητα με πτώση των λευκών αιμοσφαιρίων και των αιμοπεταλίων. Πιο σπάνιες επιπλοκές κατά τη διάρκεια της θεραπείας είναι η απώλεια βάρους, αλωπεκία, διαταραχές θυρεοειδικής λειτουργίας και ψυχιατρικές διαταραχές (ευερεθιστότητα, καταθλιπτική συνδρομή) οι οποίες μπορεί να απαιτήσουν ειδική θεραπεία.

**Η ριμπαβιρίνη**, ένα νουκλεοσιδικό ανάλογο με δράση έναντι τόσο RNA όσο και DNA ιών, φάνηκε να παρουσιάζει συνεργική δράση με την ιντερφερόνη Α στη θεραπεία της ηπατίτιδας C (Di Bisceglie et al. 1992, Brillanti S et al, 1994). Με τη συνδυασμένη θεραπεία (3-5 MU IFNα 3 φορές την εβδομάδα και 1-1.2 gr RBV ημερησίως), βελτιώθηκαν τα ποσοστά αρχικής ανταπόκρισης στο 50-60% και της μακροχρόνιας στο 30-40% για τους ασθενείς που παίρνουν για πρώτη φορά θεραπεία (Poynard T, et al 1998, McHutchison J et al 1998).

Ο μικρός χρόνος ημίσειας ζωής της ιντερφερόνης και η δυνατότητα του ιού να ξεφεύγει, οδήγησε στην ανάγκη δημιουργίας νέων μορφών με μεγαλύτερη σταθερότητα και αποτελεσματικότητα. Η πεγκυλίωση της ιντερφερόνης είναι μία διαδικασία κατά την οποία η ιντερφερόνη συνδέεται με ένα μόριο polyethylene glycol (PEG), με αποτέλεσμα βελτίωση της φαρμακοκινητικής και φαρμακοδυναμικής του φαρμάκου. Σήμερα είναι σε χρήση δύο είδη **πεγκυλιωμένης ιντερφερόνης**, η Peg –Interferon A 2a και η Peg-interferon A 2b με

αυξημένο χρόνο ημίσειας ζωής και ελαττωμένη κάθαρση, έτσι ώστε να μπορούν να χορηγούνται 1 φορά την εβδομάδα. Πολλές μελέτες στις οποίες χορηγήθηκε συνδυασμός πεγκυλιωμένης ιντερφερόνης και ριμπαβιρίνης απέδειξαν αυξημένα ποσοστά ανταπόκρισης συγκριτικά με την κλασσική ιντερφερόνη (Zeuzem S et al, 2000, Manns M et al, 2001, Fried M et al, 2002) που για την ETR ανέρχονται στο 60% και την SVR στο 40-50%. Σαν αποτέλεσμα ο συνδυασμός αυτός αποτελεί σήμερα τη συνιστώμενη θεραπεία για τη χρόνια ηπατίτιδα C. Οι συγκριτικές μελέτες μεταξύ των δύο σκευασμάτων είτε έδειξαν παρόμοια αποτελέσματα, είτε μικρό προβάδισμα της PEG-INFa. Οι τελευταίες μελέτες απέδειξαν ότι η μέτρηση του ιϊκού φορτίου στις 4 και 12 εβδομάδες θεραπείας είναι άριστο κριτήριο για SVR και έχει πλέον ενταχθεί στις κατευθυντήριες οδηγίες της Αμερικανικής Εταιρίας για τη Μελέτη των Ηπατικών Νόσων (AASLD), σαν δείκτης ανταπόκρισης στη θεραπεία (Ghany M et al 2009),(Πίνακας 5 και Εικόνα 8). Οι ανεπιθύμητες αντιδράσεις είναι παρόμοιες με του κλασσικού σχήματος με παρεμφερή ποσοστά διακοπής της θεραπείας.

**Εικόνα 8.** Γραφική παράσταση των διαφόρων τύπων ιολογικής ανταπόκρισης στην συνδυασμένη αντι- HCV θεραπεία (επεξήγηση συντμήσεων στον Πίνακα 5)



**Πίνακας 5.** Ορισμοί των τύπων ιολογικής ανταπόκρισης στην αντι HCV- Θεραπεία (Ghany et al, 2009, AASLD Practical Guidelines)

| Ιολογική ανταπόκριση  | Ορισμός   | Κλινική σημασία  |
|---|---|--|
| Ταχεία ιολογική ανταπόκριση (Rapid Virological Response - RVR)          | HCV-RNA αρνητικό στις 4 εβδομάδες θεραπείας   | Μπορεί να επιτρέψει βραχύτερη θεραπεία κυρίως στους γονοτύπους 2 και 3 |
| Πρώιμη ιολογική ανταπόκριση (EVR- Early virological response)           | HCV-RNA αρνητικό στις 12 εβδομάδες θεραπείας (πλήρης)ή ελάττωση $\geq 2\log$ (μερική) | Προγνωστικός δείκτης για SVR   |
| Ανταπόκριση στο τέλος της θεραπείας (ETR- End of Treatment Response)    | HCV-RNA αρνητικό στις 24 ή 48 εβδομάδες θεραπείας                                     |  |
| Παρατεταμένη ιολογική ανταπόκριση (SVR- Sustained Virological Response) | HCV-RNA αρνητικό 24 εβδομάδες μετά διακοπή της θεραπείας                              | Ο καλύτερος προγνωστικός δείκτης για μακροχρόνια καταστολή του ιού     |
| Μη ανταποκριθείς (Non Responder)  | Αποτυχία κάθαρσης του HCV- RNA μετά 24 εβδομάδες θεραπείας                            |  |
| Null responder  | Ελάττωση του HCV- RNA $< 2\log$ μετά 24 εβδομάδες θεραπεία                            |  |
| Μερικά ανταποκριθείς (Partial responder)                                | Ελάττωση του HCV- RNA $< 2\log$ μετά 24 εβδομάδες θεραπεία, αλλά ανιχνεύσιμο          |  |

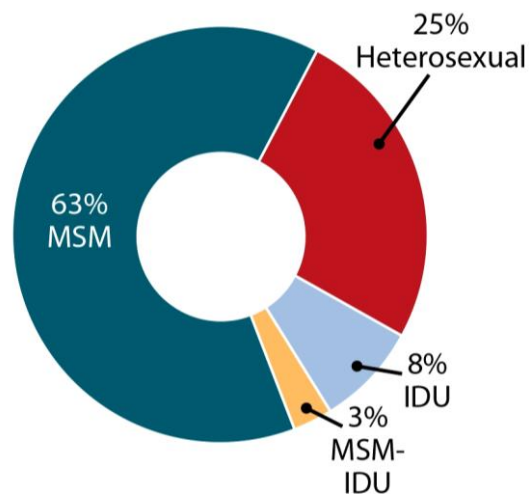
## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2. HIV ΛΟΙΜΩΞΗ

### 2.1.ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΤΡΟΠΟΙ ΜΕΤΑΔΟΣΗΣ

Από τον Μάιο του 1981, όταν οι πρώτες αναφορές για περιπτώσεις ομοφυλόφυλων που έπασχαν από σπάνιες λοιμώξεις (CDC 1981α, 1981β) έως σήμερα, 30 χρόνια μετά την έναρξη της πανδημίας, η επιδημιολογία της HIV λοίμωξης, φαίνεται να έχει αλλάξει σημαντικά. Σήμερα είναι ένα νόσημα με δημογραφική ποικιλότητα που προσβάλλει όλες τις ηλικίες, φύλα και φυλές. Σύμφωνα με τα τελευταία διεθνή επιδημιολογικά στοιχεία πάνω από 30 εκατομμύρια άνθρωποι ζουν σήμερα με HIV λοίμωξη σ' όλο τον κόσμο με μεγαλύτερη επίπτωση στην υποσαχάρια Αφρική, ενώ 2,5 εκατομμύρια είναι παιδιά <15 χρόνων. (Kilmarx PH,2009). Σύμφωνα με τις εκτιμήσεις που βασίζονται σε πλέον ακριβή μοντέλα πρόγνωσης, τουλάχιστον 2 εκατομμύρια νέες λοιμώξεις θα συνεχίσουν να προστίθενται κάθε χρόνο, καθώς περίπου το 1/5 των ατόμων με νέες λοιμώξεις δεν γνωρίζουν ότι έχουν μολυνθεί, ενώ αντίθετα ένα σημαντικός αριθμός αυτών που γνωρίζουν, δεν έχουν πρόσβαση σε ιατρική φροντίδα.

Οι τρόποι μετάδοσης περιλαμβάνουν: α) τη σεξουαλική επαφή με μολυσμένο άτομο, β) επαφή με αίμα που φέρει τον ιό, είτε μέσω μετάγγισης αίματος και παραγώγων του, είτε με τρύπημα μολυσμένης βελόνας και γ) κάθετη μετάδοση από μητέρα σε παιδί κατά τον τοκετό ή το θηλασμό. Τα ποσοστά μετάδοσης διαφέρουν γεωγραφικά και επηρεάζονται από τους κοινωνικοοικονομικούς παράγοντες και τις συμπεριφορές υψηλού κινδύνου που επικρατούν σε κάθε χώρα καθώς και από τις πολιτικές πρόληψης που εφαρμόζονται (Στοιχεία της WHO και

του CDC). Έτσι τα τελευταία χρόνια με την καθιέρωση του υποχρεωτικού ελέγχου των μονάδων αίματος η μετάδοση μέσω μετάγγισης έχει ελαττωθεί σε 1:1.000.000 μονάδες. Η πολιτική πρόληψης έχει φέρει αποτελέσματα επίσης στην κάθετη μετάδοση αφού η καθιέρωση ειδικών πρωτοκόλλων πρόληψης κατά την εγκυμοσύνη και τοκετό των οροθετικών εγκύων μείωσε τα ποσοτά κάθετης μετάδοσης από 15-30% σε <3% (Sturt et al, Cochrane database 2010). Αντίθετα τα ποσοστά μετάδοσης με σεξουαλική οδό και μεταξύ των χρηστών ενδοφλέβιων ουσιών φαίνεται να αυξάνουν. Στην εικόνα 9 παρουσιάζονται τα ποσοστά των νέων μολύνσεων το έτος 2010 ανά τρόπο μετάδοσης.



Εικόνα 9. Ποσοστά νέων λοιμώξεων το 2010 ανά κατηγορία μετάδοσης

## 2.2. Ο ΙΟΣ

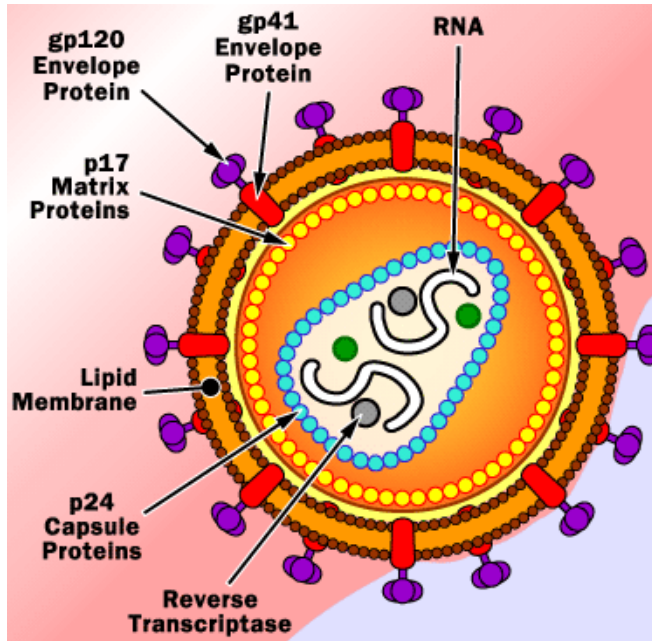
### 2.2.1. Δομή και μοριακή βιολογία

Ο HIV-1, ένας ρετροϊός της οικογένειας των βραδέων ιών (lentivirus), με διάμετρο 100nm είναι ο αιτιολογικός παράγοντας του συνδρόμου της επίκτητης ανοσολογικής ανεπάρκειας (AIDS). Περιγράφηκε για πρώτη φορά το 1983 από τις ομάδες των Gallo και Montagnier (Barre-Sinoussi et al 1983, Gallo et al, 1983). Η εικοσάεδρη σφαίρα καλύπτεται εξωτερικά από μια διπλοστιβάδα, με φωσφολιπίδια που έχουν την ικανότητα να διατάσσονται σε επιφάνειες. Επιπλέον περιέχει και προεξοχές που αποτελούνται από συμπλέγματα γλυκοπρωτεϊνών της εξωτερικής gp120 και της τρανσμεμβράνης gp41. Μέσα από την διπλοστιβάδα υπάρχουν το εσωτερικό δομικό καψίδιο και οι πρωτεΐνες του πυρήνα (πρωτεΐνες p17, p24, p7, p6). Οι τελευταίες σχηματίζουν ένα προστατευτικό περίβλημα με σχήμα κόλουρου κώνου και περικλείουν δύο αντίγραφα του γενετικού υλικού του ιού σε μορφή RNA και αρκετά μόρια της **ανάστροφης μεταγραφάσης** (reverse transcriptase) (Εικόνα 10Α).

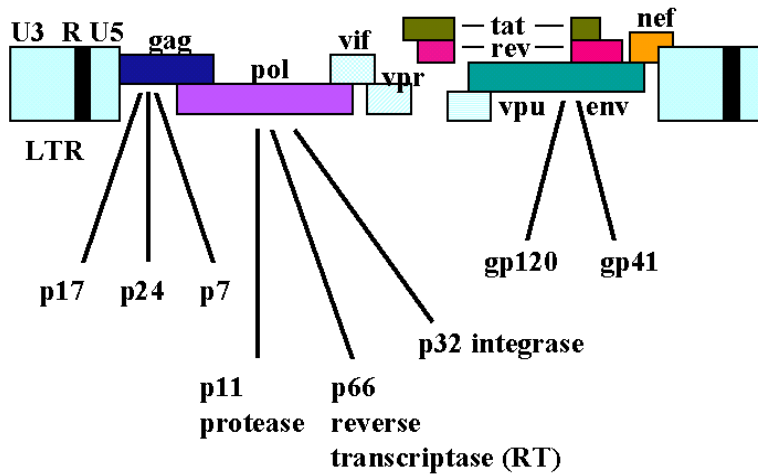
Το ιϊκό γονιδίωμα αποτελείται από 9 ιϊκά γονίδια, που περιλαμβάνουν το γονίδιο gag, που κωδικοποιεί τη δομική πρωτεΐνη του καψιδίου, το pol που κωδικοποιεί ένζυμα που απαιτούνται για την είσοδο του ιού στο κύτταρο ξενιστή και τον πολλαπλασιασμό του, καθώς και την ιϊκή πρωτεάση και το env που κωδικοποιεί τις γλυκοπρωτεΐνες του περιβλήματος gp120 και gp41. Οι δύο LTR (long terminal repeats) περιοχές στις δύο άκρες του γονιδίου, συνδέονται με το DNA του ξενιστή μετά την είσοδο του ιού και δεν κωδικοποιούν καμία πρωτεΐνη. Επιπλέον ο HIV περιλαμβάνει 6 ακόμα γονίδια τα vif, vpr, vpr, tat, rev και nef, με

δευτερεύουσες αλλά σημαντικές λειτουργίες οι οποίες χαρακτηρίστηκαν με λεπτομέρειες τα τελευταία χρόνια (Εικόνα 10B).

A



B



Εικόνα 10. Η δομή (A) και το γονιδίωμα (B) του HIV



### **2.2.2. Πολλαπλασιασμός**

Η παθογένεια της HIV λοίμωξης αντανακλά την σύνθετη αλληλεπίδραση μεταξύ ιικού πολλαπλασιασμού, καταστροφής των λεμφοκυττάρων από τον ιό και ανοσολογικής απάντησης του ξενιστή. Τα κύρια κύτταρα στόχοι του HIV είναι τα CD4+ T- λεμφοκύτταρα και τα μακροφάγα (Dalglish et al 1984). Συνδεδόμενος με τη γλυκοπρωτεΐνη gp120 στην επιφάνεια αυτών των κυττάρων και με συνυποδοχείς χυμοκινών, κυριότεροι των οποίων είναι ο CCR5 για τα μακροφάγα (M-tropic ιοί) και ο CXCR4 για τα T-λεμφοκύτταρα (T-tropic ιοί), προκαλείται δομική μεταβολή στην gp41, η οποία επιτρέπει στον HIV να εισέρχεται στο κύτταρο ξενιστή. Κάποιοι ιοί με διπλό τροπισμό μπορεί να χρησιμοποιήσουν και τους δύο υποδοχείς για την είσοδό τους (Liao F et al 1997). Μετά την είσοδο στο κύτταρο ξενιστή, το ιικό RNA μεταγράφεται με τη βοήθεια της ανάστροφης μεταγραφάσης σε προϊικό DNA, μεταφέρεται στον πυρήνα του κυττάρου και με τη βοήθεια της ιντεγκράσης ενσωματώνεται στο γονιδίωμα του κυττάρου ξενιστή, όπου μπορεί, ανάλογα με το επίπεδο ενεργοποίησης του κυττάρου στόχου, είτε να εγκαταστήσει ενεργό λοίμωξη με αποτέλεσμα την παραγωγή νέων ιικών σωματιδίων είτε να παραμείνει σε λανθάνουσα κατάσταση.

### **2.2.3. Εργαστηριακή διερεύνηση**

Οι μέθοδοι διάγνωσης βασίζονται : α) στην ανίχνευση ειδικών για τον HIV αντισωμάτων και β) στην άμεση ανίχνευση του ιού.

Στις μεθόδους ανίχνευσης αντισωμάτων περιλαμβάνεται η ανοσοενζυμική μέθοδος (EIA), η επιβεβαιωτική μέθοδος ανοσοστυπώματος τύπου Western (Western Blot), η μέθοδος Line ImmunoAssays (LIA) και ο ανοσοφθορισμός (IFA). Για να τεθεί η διάγνωση είναι απαραίτητο να διενεργηθούν μία βασική μέθοδος

ανίχνευσης και μία επιβεβαιωτική μέθοδος. Η ευαισθησία του συνδυασμού των μεθόδων ανέρχεται στο 99,3% και η ειδικότητά τους 99,7%,

Στις άμεσες μεθόδους ανίχνευσής του HIV περιλαμβάνονται οι:

- ✓ ανίχνευση του αντιγόνου p24 με ανοσοενζυμικές μεθόδους ή με μέθοδο ICD (immune complex dissociation) με διαχωρισμό των ανοσοσυμπλεγμάτων p24
- ✓ καλλιέργειες περιφερειακών μονοπύρηνων κυττάρων αίματος
- ✓ μέθοδοι ανίχνευσης HIV RNA
  - *RT-PCR*: έχουν όριο ανίχνευσης 50 copies/ml και καλύτερη απόδοση στην ανίχνευση όλων των υποτύπων.
  - *Nucleic Acid Sequence Based Amplification (NASBA)* ή *Transcription Mediated Amplification (TMA)* Πρόκειται για ισοθερμικές μεθόδους ενίσχυσης του ιϊκού RNA με υψηλά όρια ευαισθησίας
  - *Branched chain DNA (bDNA)*. Παρουσιάζει χαμηλότερη ευαισθησία σε σχέση με τις μεθόδους που βασίζονται σε PCR στις οποίες η ευαισθησία ανέρχεται στο 98%.

### 2.3. ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ – ΦΥΣΙΚΗ ΙΣΤΟΡΙΑ - ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ

Ο λοιμογόνος κύκλος του HIV ξεκινά με βλεννογονική (κολπική, ορθική, στοματική) ή παρεντερική έκθεση στον ιό. Τα δενδριτικά κύτταρα που υπάρχουν σε αφθονία στις βλεννογονικές στιβάδες χρησιμεύουν σαν μεταφορείς του ιού στον λεμφοποιητικό ιστό, φέρνοντάς τον σε στενή επαφή με ενεργοποιημένα CD4+ κύτταρα, επιτρέποντάς του την έντονη αναπαραγωγή, υπεύθυνη για την έκρηξη της ιαιμίας κατά την πρώτη φάση της λοίμωξης. Η φυσική ιστορία της HIV

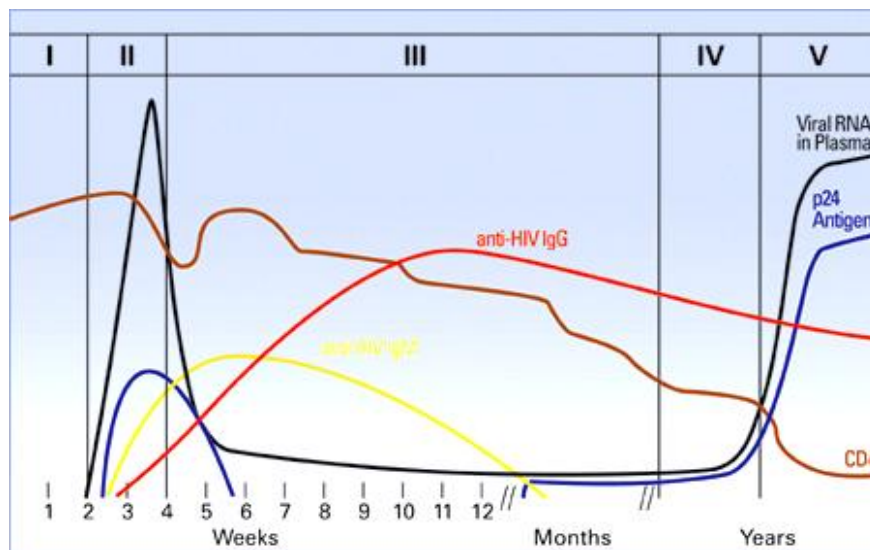
λοίμωξης περιλαμβάνει τρία στάδια : την πρωτολοίμωξη, την περίοδο της κλινικής ηρεμίας και το στάδιο του κλινικού AIDS (Εικόνα 12).

### **2.3.1. Πρωτολοίμωξη**

Τρείς έως 6 εβδομάδες μετά την είσοδο του ιού μπορεί να εμφανισθεί κλινικό σύνδρομο που μιμείται λοιμώδη μονοπυρήνωση (Cooper et al, 1985). Τα πιο συχνά συμπτώματα της πρωτολοίμωξης είναι πυρετός, κακουχία, διόγκωση τραχηλικών λεμφαδένων, κηλιδοβλατιδώδες εξάνθημα, φαρυγγίτιδα, και εμφανίζεται περίπου στο 70% των ασθενών, ενώ στους υπόλοιπους η περίοδος αυτή διαδράμει ασυμπτωματικά (Kahn et al, 1998). Η περίοδος αυτή που συνήθως διαρκεί 7-10 ημέρες, συνοδεύεται από υψηλά επίπεδα HIV ιαιμίας ενώ υπάρχει μικρή πτώση των CD4 και CD8 κυττάρων τα οποία γρήγορα επανέρχονται σε φυσιολογικά, αλλά σπάνια στα αρχικά επίπεδα (Gupta et al, 1993). Τα τελευταία χρόνια έχει αποδειχθεί ότι ο HIV στοχεύει τα T-κύτταρα μνήμης του γαστρεντερικού επιθηλίου. Αυτό οδηγεί σε ταχεία μαζική και πιθανά μόνιμη καταστροφή των CD4 κυττάρων, ρήξη του εντερικού βλεννογόνου, και είσοδο μικροβιακών προϊόντων στη συστηματική κυκλοφορία. (Brenchley JM, 2004). Ταυτοχρόνως μολύνονται και όλα τα άλλα σωματικά διαμερίσματα συμπεριλαμβανομένου και του ΚΝΣ. Η ανίχνευση των ειδικών αντι – HIV αντισωμάτων συνήθως είναι δυνατή 1- 4 εβδομάδες μετά την είσοδο του ιού, παρ' όλα αυτά το «σιωπηλό παράθυρο» μπορεί να φτάσει και μέχρι 6 μήνες (Εικόνα 11). Γενετικοί παράγοντες, όπως η μετάλλαξη CCR5Δ32 (Samson, 1996) και συγκεκριμένοι τύποι HLA, μπορεί να επηρεάσουν την κλινική εκδήλωση της πρωτολοίμωξης και την ταχύτητα της εξέλιξης της λοίμωξης.

### 2.3.2. Περίοδος κλινικής ηρεμίας

Ο οργανισμός αντιδρά με μια ειδική κυτταροτοξική ανοσιακή απάντηση. Η εμφάνιση HIV ειδικών CD8 κυτταροτοξικών λεμφοκυττάρων κατά την οξεία λοίμωξη, σχετίζεται με σχετική κάμψη της ιαμίας στο πλάσμα (Borrow et al, 1994).



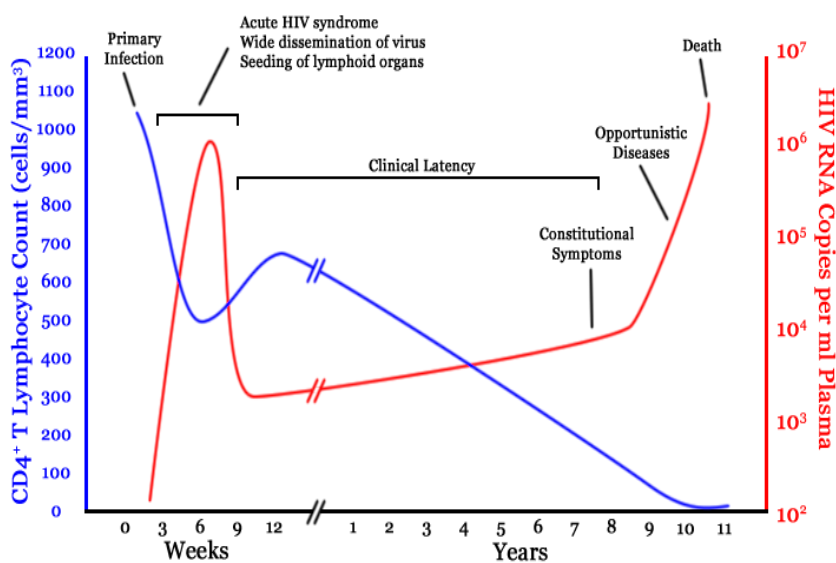
Εικόνα 11. Χρόνος ανίχνευσης αντι – HIV αντισωμάτων

Περίπου 6 μήνες μετά την λοίμωξη, ο ιικός πολλαπλασιασμός είναι σταθερός, και η παραγωγή ιικών σωματιδίων εξισορροπείται από την ανοσολογική κάθαρση (Burger S et al, 2003). Ακολουθεί μία περίοδος κλινικής ηρεμίας αρκετών χρόνων κατά την οποία τα άτομα που μολύνθηκαν δεν εμφανίζουν καμία κλινική εκδήλωση. Η περίοδος αυτή της «κλινικής ηρεμίας» μπορεί να διαρκέσει για 8- 10 έτη, κατά τη διάρκεια της οποίας τα CD4 κύτταρα παραμένουν σταθερά ή μειώνονται αργά και το ιικό φορτίο του πλάσματος παραμένει σε σχετικά σταθερά επίπεδα. Αντίθετα ο ιός συνεχίζει να δραστηριοποιείται στον λεμφοποιητικό και άλλους ιστούς. Στο τέλος της περιόδου αυτής μπορεί

να εμφανισθούν κλινικές εκδηλώσεις που δεν χαρακτηρίζουν το κλινικό AIDS αλλά είναι ενδεικτικές αρχόμενης ανοσοκαταστολής. (βλ. κλινικές καταστάσεις σταδίου B κατά CDC).

### 2.3.3 Περίοδος κλινικού συνδρόμου AIDS

Όταν ο αριθμός των CD4 κυττάρων πέσει σε  $<200$  / $\mu\text{l}$  το ιικό φορτίο στο πλάσμα ανεβαίνει και η προοδευτική και βαθιά ανοσοκαταστολή οδηγούν στο συμπτωματικό στάδιο της νόσου κατά τη διάρκεια του οποίου αν ο ασθενής δεν υποβληθεί σε θεραπεία, εμφανίζει ευκαιριακές λοιμώξεις, ασυνήθη νεοπλάσματα και άλλες νοσολογικές οντότητες που χαρακτηρίζουν το AIDS και οδηγούν τελικά στον θάνατο (κλινικές καταστάσεις σταδίου C κατά CDC). Περίπου 5% των ατόμων που μολύνονται καταφέρνουν να ελέγξουν τη λοίμωξη παραμένουν ασυμπτωματικοί και χωρίς θεραπεία, με χαμηλό HIV-RNA και σταθερό αριθμό CD4 (elite controllers). Στην εικόνα 8 παρουσιάζονται τα επίπεδα των CD4 λεμφοκυττάρων και του HIV- RNA από την λοίμωξη έως την εκδήλωση κλινικών συμπτωμάτων αν δεν χορηγηθεί αντιρετροϊκή θεραπεία. (Pantaleo et al, 1993)



Εικόνα 12. Η φυσική ιστορία της HIV λοίμωξης χωρίς θεραπεία (Pantaleo G , 1993)

### 2.3.4. Κλινικά στάδια HIV λοίμωξης

Για την καλύτερη εκτίμηση και αντιμετώπιση της νόσου έχουν καθοριστεί κλινικά στάδια. Περισσότερο γνωστή και χρησιμοποιούμενη η σταδιοποίηση του Κέντρου Ελέγχου Νοσημάτων των ΗΠΑ (CDC) η οποία χρησιμοποιεί για την εκτίμηση της βαρύτητας της νόσου τα επίπεδα των CD4 και την ύπαρξη ειδικών κλινικών καταστάσεων που σχετίζονται με τη λοίμωξη (Πίνακας 6) (CDC1993).

Πίνακας 6. Σταδιοποίηση HIV λοίμωξης κατά CDC

| Επίπεδα CD4           | Κλινικές καταστάσεις                 |     |                             |
|-----------------------|--------------------------------------|-----|-----------------------------|
|                       | A                                    | B * | C καταστάσεις               |
|                       | Ασυμπτωματική νόσος<br>Οξεία λοίμωξη |     | που καθορίζουν το<br>AIDS** |
| >500<br>κύτταρα/μl    | A1                                   | B1  | C1                          |
| 200-500<br>κύτταρα/μl | A2                                   | B2  | C2                          |
| <200<br>κύτταρα/μl    | A3                                   | B3  | C3                          |

**\*Στάδιο B. Κλινικές καταστάσεις που δεν χαρακτηρίζουν το AIDS αλλά είναι ενδεικτικές αρχόμενης ανοσοκαταστολής**

Βακτηριακή αγγειομάτωση - Καντιντίαση στοματοφαρυγγική (μυκωτική στοματίτις) - Καντιντίαση αιδοιοκολπική (επιμένουσα, συχνή ή μη ανταποκρινόμενη σε θεραπεία) - Δυσπλασία του τραχήλου της μήτρας (μέση ή βαρεία)/ in situ καρκίνωμα του τραχήλου της μήτρας - Γενικευμένα συμπτώματα όπως πυρετός (38,5° C) ή διάρροια για περισσότερο από 1 μήνα - Στοματική λευκοπλακία - Έρπης ζωστήρ, με δύο τουλάχιστον διαφορετικά επεισόδια ή καταλαμβάνων περισσότερα από ένα δερμοτόμια - Ιδιοπαθής θρομβοπενική πορφύρα - Λιστερίοσις - Πυελικές φλεγμονές - Περιφερική νευροπάθεια.

## **\*\* Στάδιο C. Καταστάσεις που καθορίζουν το AIDS**

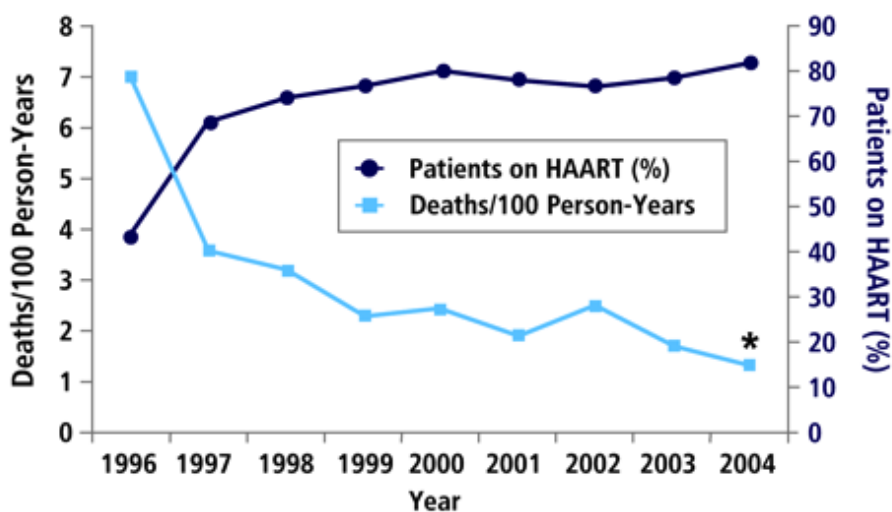
- Βακτηριακή πνευμονία, υποτροπιάζουσα (δύο ή περισσότερα επεισόδια σε 12 μήνες)
  - Καντιντίαση των βρόγχων, της τραχείας, ή των πνευμόνων
  - Καντιντίαση, οισοφάγου
  - Καρκίνωμα του τραχήλου της μήτρας, επεμβατική, επιβεβαιώνεται με βιοψία
  - Κοκκιδιοειδομυκητίαση, διάσπαρτη ή εξωπνευμονική
  - Κρυπτοκόκκωση, εξωπνευμονική
  - Κρυπτοσποριδίωση, χρόνια εντερική (> 1 μήνα σε διάρκεια)
  - Λοίμωξη από Κυτταρομεγαλοϊό (εκτός από το ήπαρ, σπλήνα, ή λεμφαδένες)
  - Εγκεφαλοπάθεια, που σχετίζεται με τον ιό HIV-
  - Απλός έρπης: χρόνια έλκη (> 1 μήνα σε διάρκεια), ή βρογχίτιδα, πνευμονίτιδα, ή οισοφαγίτιδα
    - Ιστοπλάσμωση, διάσπαρτη ή εξωπνευμονική
    - Ισοσπορίαση, χρόνια εντερική (> 1-μήνα σε διάρκεια)
    - Σάρκωμα Kaposi
    - Λέμφωμα, λέμφωμα Burkitt, ανοσοβλαστικό, ή πρωτογενές κεντρικού νευρικού συστήματος
      - Λοίμωξη από άτυπα μυκοβακτηρίδια (MAC) ή Mycobacterium kansasii, διάσπαρτη ή εξωπνευμονική
        - Λοίμωξη από μυκοβακτηρίδιο φυματίωσης, πνευμονική ή εξωπνευμονική
        - Λοίμωξη από άλλα είδη ή άγνωστα είδη μυκοβακτηριδίων, διάσπαρτη ή εξωπνευμονική
          - Πνευμονία από Pneumocystis carinii (PCP)
          - Προοδευτική πολυεστιακή λευκοεγκεφαλοπάθεια (PML)
          - σηψαιμία από σαλμονέλας υποτροπιάζουσα (nontyphoid)
          - Τοξοπλάσμωση του εγκεφάλου
          - Σύνδρομο απίσχνανσης που προκαλείται από τον ιό HIV (ακούσια απώλεια βάρους > 10% του αρχικού σωματικού βάρους), που συνδέεται είτε με χρόνια διάρροια (δύο ή περισσότερες χαλαρά κόπρανα ανά ημέρα για  $\geq 1$ , ή χρόνια καταβολή και πυρετό για > μήνα .

## 2. 4. ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Τα τελευταία χρόνια η καλύτερη κατανόηση της παθογένειας της HIV λοίμωξης οδήγησε στην ανάπτυξη αντιρετροϊκών φαρμάκων που δρώντας σε διάφορες φάσεις του κύκλου ζωής του ιού άλλαξαν δραματικά τη φυσική ιστορία της νόσου και τη μετέτρεψαν σε χρόνια νόσημα (Palella FJ et al,1998). Η ύπαρξη παρόλα αυτά της δεξαμενής των κυττάρων στα οποία ο ιός βρίσκεται σε λανθάνουσα κατάσταση (latent reservoirs) είναι υπεύθυνη για την αδυναμία επίτευξης του τελικού στόχου, την εκρίζωση του ιού.

Το πρώτο αντιρετροϊκό φάρμακο που χρησιμοποιήθηκε στην αντι-HIV θεραπεία ήταν η Zidovudine (AZT) το 1998, ένα νουκλεοσιδικό ανάλογο της ανάστροφης τσανσκριπτάσης (NRTI), το οποίο παρά τις προσδοκίες αποδείχθηκε ότι χορηγούμενο ως μονοθεραπεία, δεν αυξάνει την επιβίωση (Hamilton 1992, Concorde 1994). Από το 1991 έως το 1995 χρησιμοποιήθηκαν συνδυασμοί δύο NRTIs με μεγάλα ποσοστά ανάπτυξης αντοχής. Σταθμός στην ιστορία της αντι HIV θεραπείας είναι η είσοδος το 1995-1996 της τριπλής αντιρετροϊκής αγωγής ή Highly Active Antiretroviral Therapy (HAART) (Hammer 1996). Η χορήγηση τριπλού σχήματος γρήγορα προκαλεί ιϊκή καταστολή και επιτρέπει σημαντική και σταθερή αύξηση του αριθμού των CD4 κυττάρων (Mocroft et al, 2007), η οποία αντανακλά και ανοσολογική αποκατάσταση. Αποτέλεσμα της συστηματικής χορήγησης HAART ήταν η δραματική μείωση των θανάτων από AIDS και η αλλαγή της φυσικής ιστορίας της νόσου (Εικόνα 13).





\*  $p = 0.008$  for trend

**Εικόνα 13.** Ελάττωση της HIV θνησιμότητας μετά την έναρξη της HAART

Μέχρι σήμερα περισσότερα από 20 αντιρετροϊκά φάρμακα έχουν πάρει έγκριση για θεραπεία τα οποία ανάλογα με τη δράση τους (εικόνα 14) κατατάσσονται σε:

- Νουκλεοσιδικοί(NRTIS) και νουκλεοτιδικοί (NtRTIs) αναστολείς της ανάστροφης τρανσκριπτάσης

AZT, DDC, DDI, d4T, 3TC, ABC, FTC, TDF

- Μη Νουκλεοσιδικοί αναστολείς της ανάστροφης τρανσκριπτάσης (NNRTIS)

Nevirapine, Delavirdine, Efavirenz, Etravirine

- Αναστολείς της πρωτεάσης (PIs)

Saquinavir, Indinavir, Nelfinavir, Ritonavir, Lopinavir

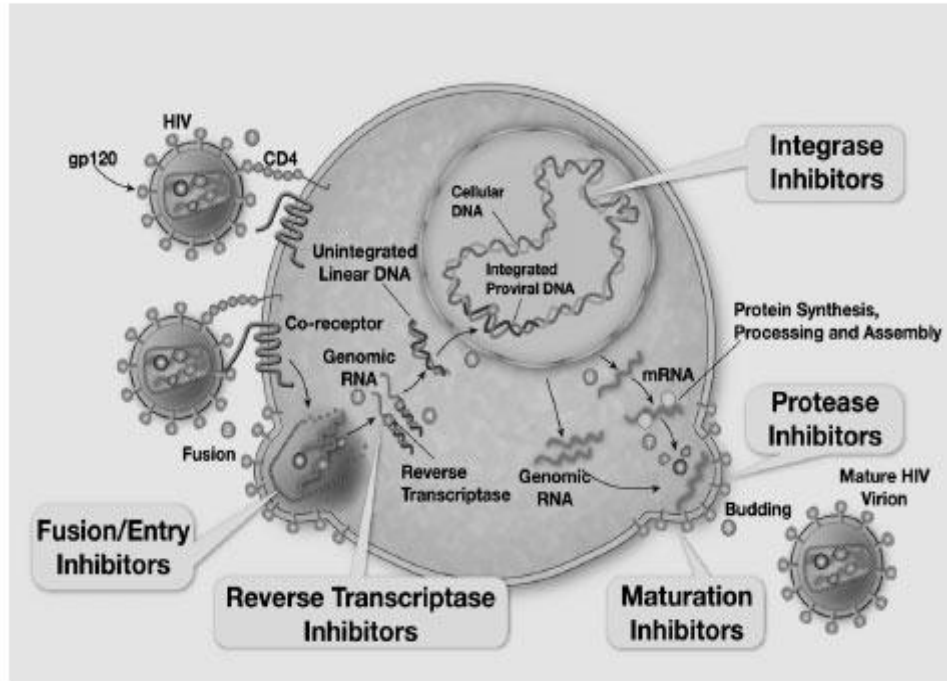
Tipranavir, Fosamprenavir, Atazanavir, Darunavir

- Αναστολείς ιντεγκράσης

Raltegravir

- Αναστολείς Εισόδου

T-20, Maraviroc



**Εικόνα 14** . Στόχοι της αντιρετροϊκής θεραπείας στον κύκλο του HIV.

Στόχος της αντι-HIV θεραπείας είναι η καταστολή του ιού σε επίπεδα HIV-RNA μη ανιχνεύσιμα με τις τρέχουσες μεθόδους (<50 αντίγραφα/ml) και η αποκατάσταση του αριθμού των CD4 λεμφοκυττάρων, παράμετροι με τις οποίες εκτιμάται η επιτυχία της θεραπείας. Σε περίπτωση που με το χορηγούμενο σχήμα δεν επιτυγχάνεται η επιθυμητή ιολογική καταστολή, ή σε περίπτωση αύξησης του ιϊκού φορτίου μετά περίοδο μη ανιχνεύσιμου ιού φορτίου, ελέγχεται η πιθανή εμφάνιση μεταλλάξεων που ευθύνονται για αντοχή στο συγκεκριμένο θεραπευτικό σχήμα. Σημαντικός παράγοντας ιολογικής επιτυχίας είναι η άριστη συμμόρφωση στη θεραπεία. (Paterson et al, 2000).

Ο χρόνος έναρξης θεραπείας τα τελευταία χρόνια με την αναγνώριση και της πιθανής μακροπρόθεσμης τοξικότητας από τη HAART βασίζεται στην θεωρία του «χτύπα σκληρά αλλά μόνο όταν

είναι απαραίτητο» (Harrington et al, 2000). Έτσι σύμφωνα με τις τελευταίες κατευθυντήριες οδηγίες που βασίστηκαν σε μεγάλες μελέτες (NA- ACCORD, CASCADE Collaboration, HIV-Causal Collaboration) , συνιστάται χορήγηση οπωσδήποτε σε συμπτωματική λοίμωξη ή σε ασυμπτωματικά άτομα με CD4 <350/μl, λόγω του αυξημένου κινδύνου για ανάπτυξη ευκαιρακών λοιμώξεων ή κακοηθειών. Για άτομα με CD4 350-500 οι μελέτες έχουν δείξει επιβράδυνση της εξέλιξης της HIV λοίμωξης αλλά είναι ασαφές αν τελικά ελαττώνεται η θνησιότητα. Επομένως η συστάσεις για έναρξη θεραπείας είναι λιγότερο ισχυρές και εξατομικεύεται ανάλογα με τη συνύπαρξη άλλων κλινικών καταστάσεων ή την πιθανότητα τοξικότητας. (<http://aidsinfo.nih.gov/guidelines>).

Οι παρενέργειες των αντιρετροϊκών φαρμάκων μπορεί να είναι άμεσες ή μακροπρόθεσμες.

Στις συχνότερες **άμεσες** παρενέργειες περιλαμβάνονται:

- Γαστρεντερικές διαταραχές:
  - ναυτία και έμετος εμφανίζονται πιο συχνά με τα NRTIs
  - διάρροιες παρουσιάζουν συχνότερα οι PIs.
- Αιματολογική τοξικότητα:
  - συνήθως με χορήγηση AZT
- Νευρολογικές διαταραχές
  - εκδηλώσεις από το ΚΝΣ κυρίως με το Efavirenz
  - περιφερική νευροπάθεια οφειλόμενη στο DDI
- Αλλεργικές αντιδράσεις
  - ABC, Efavirenz, Nevirapine
- Υπερλιπιδαιμία
  - PIs.

Στις **απώτερες** παρενέργειες περιλαμβάνονται :

- Η εμφάνιση λιποατροφίας και λιποδυστροφίας
- Αντοχή στην ινσουλίνη/σακχαρώδης διαβήτης
- Οστεοπόρωση
- Καρδιαγγειακά συμβάντα
- Νεφροτοξικότητα (TDF, Indinavir).

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3. ΗCV/HIV ΣΥΛΛΟΙΜΩΞΗ

### 3.1. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ

Η συλλοίμωξη με τους ιούς ΗCV και HIV είναι αρκετά συχνή αφού οι δύο ιοί έχουν κοινούς τρόπους μετάδοσης. Η μέση συχνότητα της συλλοίμωξης ΗCV/ HIV, ανέρχεται σύμφωνα με επιδημιολογικές μελέτες στο 35% όλων των HIV θετικών ατόμων, και 5-10% των ΗCV θετικών (Sherman K et al, 2002). Τα ποσοστά κυμαίνονται, τόσο γεωγραφικά, όσο και μεταξύ των διαφόρων ομάδων κινδύνου. Έτσι επειδή ο ΗCV μεταδίδεται κυρίως παρεντερικά τα ποσοστά συλλοίμωξης είναι υψηλότερα στους ΕΦ χρήστες ουσιών καθώς και στους πολυμεταγγισμένους με παράγωγα αίματος, στους οποίους τα ποσοστά αγγίζουν το 90% (Soriano et al, 1999, Rockstroh J et al, 2004).

Η συνύπαρξη των δύο ιών του ΗCV και του HIV λοίμωξη επηρεάζει αρνητικά τα ποσοστά κάθαρσης του ΗCV ελαττώνοντας τα από 30% στο 10%, ενώ τα ποσοστά της σεξουαλικής μετάδοσης αυξάνονται στο 3% και η κάθετη μετάδοση από 5% στο 20%. Τα ποσοστά αυτά καθιστούν την ΗCV λοίμωξη σημαντικό παράγοντα συννοσηρότητας της HIV λοίμωξης.

### 3.2. ΔΙΑΓΝΩΣΗ

Οι διαγνωστικές μέθοδοι δεν διαφέρουν από αυτές για τα άτομα με μόνολοίμωξη. Αντι – ΗCV αντισώματα ανιχνεύονται με μέθοδο ELISA. Παρόλα αυτά σε ποσοστό περίπου 4%, λόγω της ανοσοκαταστολής, μπορεί να χαθούν τα ΗCV αντισώματα, επομένως

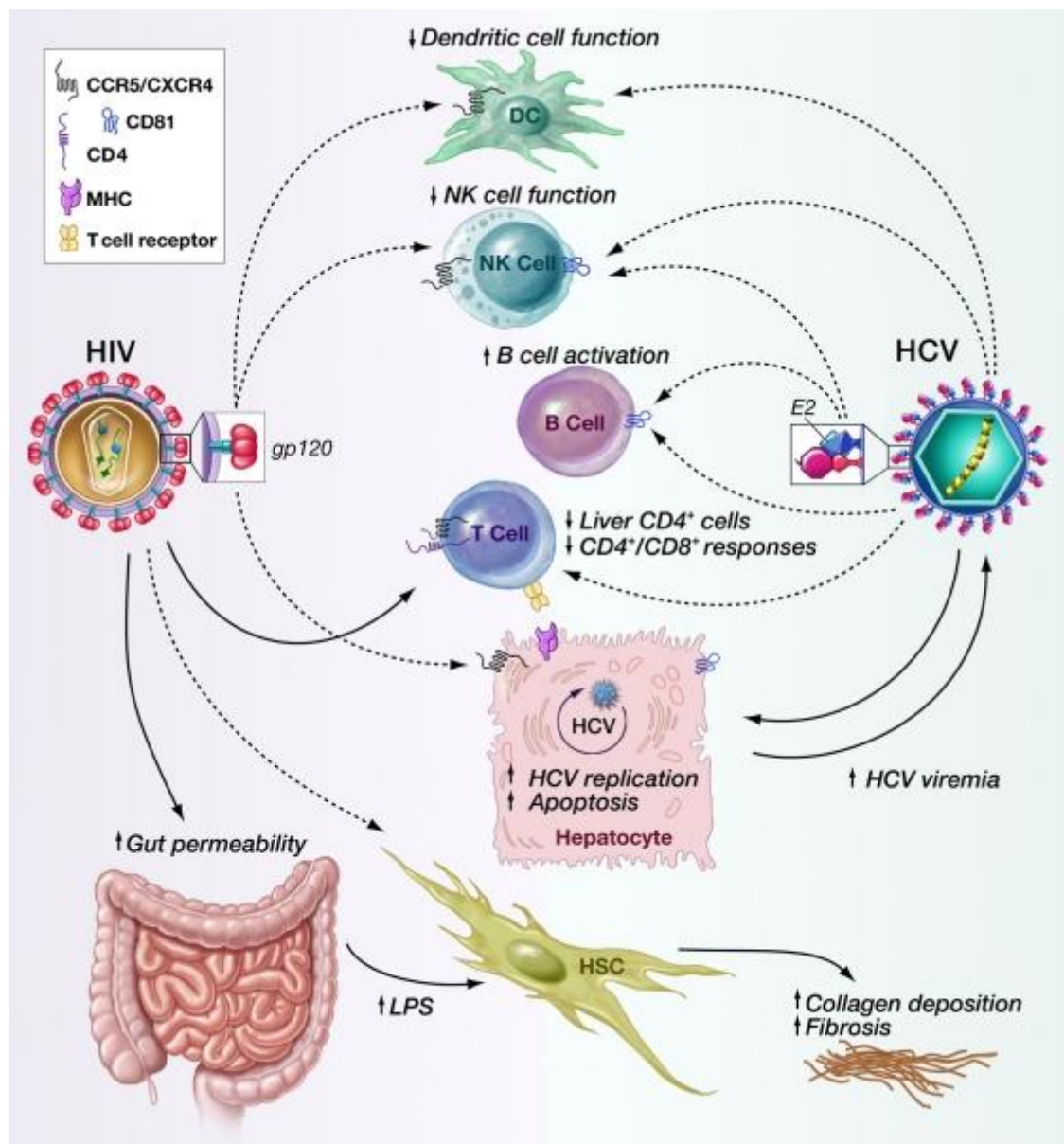
στα άτομα με συλλοίμωξη είναι χρήσιμη και η μέτρηση του HCV – RNA ώστε να μην διαφύγουν περιπτώσεις συλλοίμωξης. Πάνω από 80% των ασθενών με συλλοίμωξη έχουν θετικό HCV – RNA. Η κατανομή των γονοτύπων στις διάφορες ομάδες κινδύνου, έχει σχέση με τον διαφορετικό τρόπο μετάδοσης. Έτσι ο γονότυπος 1a είναι συχνότερος μεταξύ των πολυμεταγγισμένων, ενώ ο 1b και ο 3a ανευρίσκονται συχνότερα μεταξύ των ΕΦ χρηστών ουσιών (Perez-Olmenda M, et al, 2002). Στους ασθενείς με συλλοίμωξη έχει παρατηρηθεί συνύπαρξη διαφορετικών γονοτύπων.

### 3.3. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ HIV ΛΟΙΜΩΣΗΣ ΣΤΗΝ ΦΥΣΙΚΗ ΙΣΤΟΡΙΑ ΤΗΣ HCV ΛΟΙΜΩΣΗΣ

Έχει σαφώς αποδειχθεί από πληθώρα μελετών ότι η HIV λοίμωξη επιβαρύνει τη φυσική ιστορία της HCV λοίμωξης. Μετά από οξεία λοίμωξη τα επίπεδα της HCV ιαιμίας είναι κατά 2-8 φορές υψηλότερα από αυτά των ατόμων χωρίς HIV λοίμωξη. (Eyster M et al, 1994, Cribier B et al, 1995, Daar E et al, 2001). Αποτέλεσμα της υψηλής ιαιμίας είναι τα μικρότερα ποσοστά αυτόματης ίασης και ο αυξημένος κίνδυνος σεξουαλικής και κάθετης μετάδοσης. Η επιβαρυντική αυτή πορεία θεωρήθηκε ότι οφείλεται σε μειωμένη ανοσολογική απάντηση του οργανισμού στην HCV λοίμωξη που λόγω απώλειας των ειδικών Τ-κυττάρων μνήμης που προκαλεί ο HIV οδηγεί σε αυξημένα επίπεδα HCV ιαιμίας (Lauer G et al 2002) καθώς και απώλεια της ρύθμισης παραγωγής των κυτταροκινών. Παρόλα αυτά υπάρχουν ενδείξεις άμεσης αλληλεπίδρασης των δύο ιών. (Εικόνα 15). Τελευταία δεδομένα δίνουν πληροφορίες για πιθανή συμμετοχή του ίδιου του HIV στην παθογένεια της ηπατικής βλάβης, μέσω σύνδεσής του με τα ηπατοκύτταρα, τα

αστεροειδή κύτταρα, τα κύτταρα Kupffer, καθώς και τα κύτταρα του ανοσιακού συστήματος που εδράζουν στο ήπαρ.(Tuyama AC et al, 2010).

**Εικόνα 15.** Μηχανισμός αλληλεπίδρασης HCV-HIV. Ο HIV μπορεί να προσβάλλει τα CD4<sup>+</sup>T κύτταρα και να αλληλεπιδράσει με υποδοχείς των ηποτοκυττάρων. Η προσβολή από τον HIV του λεμφοποιητικού ιστού του εντέρου οδηγεί σε αύξηση πρόσληψης λιποπολυσαχαριτών (LPS) ενεργοποίηση των αστεροειδών κυττάρων του ήπατος και αύξηση της ίνωσης.



### **3.3.1. Περίοδος προ HAART**

Πολλές μεγάλες κοόρτες ασθενών, απέδειξαν την ταχύτερη εξέλιξη της ηπατίτιδας C στα άτομα με συλλοίμωξη προς ίνωση, μη αντιρροπούμενη κίρρωση και ηπατοκυτταρικό καρκίνο σε σχέση με τους ασθενείς με μόνο HCV λοίμωξη (Soto B et al, 1997). Αυτή η αυξημένη βαρύτητα της νόσου είναι αποτέλεσμα ενός πολύπλοκου συνδυασμού πολλαπλών παθοφυσιολογικών μηχανισμών, στους οποίους η ανοσοκαταστολή παίζει πρωταρχικό ρόλο. Σε πολυπαραγοντική ανάλυση τα επίπεδα των CD4 <200/μl ήταν ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας εξέλιξης της ίνωσης. Kim και συνεργάτες, έδειξαν σε μικρή κοόρτη ασθενών, ότι η απάντηση της κυτταρικής ανοσίας έναντι του HCV, σχετίζεται άμεσα με τα επίπεδα των CD4 των ασθενών (Kim et al 2005). Επιπλέον παράδειγμα επίδρασης αυξημένης κυτταροτοξικότητα του ίδιου του ιού σε περιβάλλον ανοσοκαταστολής, είναι η σπάνια αλλά σοβαρή ινώδης χολοστατική ηπατίτιδα, κατά την οποία ο ταχύς πολλαπλασιασμός του HCV μέσα στο ενδοπλασματικό δίκτυο οδηγεί στη νέκρωση των ηπατοκυττάρων (Benhamou Y. et al, 1999). Η συμμετοχή άλλων τοξικών παραγόντων (π.χ. αλκοόλ, ψυχοτρόπα κλπ) επιβαρύνουν την εξέλιξη.

### **3.3.2. Περίοδος μετά HAART**

Η είσοδος των εντατικοποιημένων αντιρετροϊκών σχημάτων στη θεραπεία της HIV λοίμωξης είχε σαν αποτέλεσμα τη δραματική αλλαγή της φυσικής ιστορίας της και αύξηση του προσδόκιμου επιβίωσης των ασθενών (Mocroft et al, 2007) (Εικόνα 13). Στους ασθενείς με συλλοίμωξη αυτό είχε σαν αποτέλεσμα η ηπατική νόσος να αποτελεί την δεύτερη αιτία νοσηρότητας και θνητότητας. (Bica et al, 2001, Rosenthal



E et al, 2003, Weber R et al, 2006). Σε τυχαιοποιημένες μελέτες η συχνότητα της σχετιζόμενης με χορήγηση HAART σοβαρής, βαθμού 3 (>5 φορές τις φυσιολογικές τιμές) και 4 (>10 φορές), αύξησης των επιπέδων των επιπέδων των τρανσαμινασών, ανέρχεται σε 1-14%. Ακολούθως η ηπατοτοξικότητα της HAART ελέγχθηκε σε πολλά cohorts στα οποία διαπιστώθηκε συχνότητα 4-30% αύξηση τρανσαμινασών βαθμού 3 ή 4. Και στις δύο περιπτώσεις διαπιστώθηκε περισσότερο αυξημένος κίνδυνος ηπατοτοξικότητας σε συνδυασμούς αντιρετροϊκών που περιελάμβαναν nevirapine ή ritonavir σε πλήρη δόση (Sulkowski M et al 2000). Η συχνότητα ήταν μεγαλύτερη σε ασθενείς με συλλοίμωξη HCV ή HBV. Den Brinker και συνεργάτες, διαπίστωσαν 2.46 φορές μεγαλύτερο κίνδυνο για σοβαρή ηπατοτοξικότητα σε ασθενείς με συλλοίμωξη HCV/HIV. (den Brinker et al, 2000), ενώ η ύπαρξη κίρρωσης ήταν ο πιο ισχυρός προγνωστικός παράγοντας για ανάπτυξη ηπατοτοξικότητας (Aranzabal L et al, 2005). Φαίνεται ότι η τα ηπατική τοξικότητα της HAART είναι πολυπαραγοντική. Οι μηχανισμοί με τους οποίους μπορεί να επηρεάζεται η ηπατική νοσηρότητα μετά χορήγηση HAART φαίνονται σχηματικά στην εικόνα 16.

### ***Άμεση φαρμακευτική τοξικότητα – διαταραχή του μεταβολισμού***

Μια πιθανή αιτία ηπατοτοξικότητας των αντιρετροϊκών και κυρίως σχημάτων που περιέχουν PI, είναι ο ελαττωμένος μεταβολισμός τους. Πολλά φάρμακα μεταβολίζονται στο ήπαρ μέσω του συστήματος του κυτοχρώματος P50, έτσι θεωρήθηκε πιθανό η ηπατοτοξικότητα να οφείλεται σε υπερθεραπευτικά επίπεδα PI, σε ασθενείς με προυπάρχουσα ηπατική βλάβη λόγω συνυπάρχουσας λοίμωξης με ιούς ηπατίτιδας. Παρόλα αυτά δεν έχει αποδειχθεί μέχρι σήμερα άμεση σχέση

ηπατοτοξικότητας με αυξημένα επίπεδα PI στο αίμα. (Veronese L et al, 2000).

### ***Μιτοχονδριακή τοξικότητα – μη αλκοολική στεατοηπατίτιδα (NASH).***

Μία άλλη κατάσταση που έχει συσχετιστεί με επιβάρυνση της ηπατικής βλάβης μετά χορήγηση HAART είναι η εμφάνιση στεατοηπατίτιδας. Η ηπατική αυτή βλάβη σχετίζεται με μακροχρόνια χορήγηση NRTI και οφείλεται σε αναστολή της μιτοχονδριακής DNA πολυμεράσης  $\gamma$ , με επακόλουθο μιτοχονδριακή ανεπάρκεια και γαλακτική οξέωση. Το σύνδρομο μπορεί να έχει ήπια έως και θανατηφόρα πορεία και παρουσιάζεται με καταβολή, ναυτία και έμετο, απώλεια βάρους και ταχύπνοια. Χαρακτηριστικά διαπιστώνεται ηπατομεγαλία, λιπώδης διήθηση του ήπατος και μεταβολική οξέωση (Lenzo NP et al, 1997). Η διαταραχή μπορεί επίσης να προκαλέσει ελάττωση της οξειδωσης των λιπαρών οξέων με αποτέλεσμα μετατροπή τους σε τριγλυκερίδια τα οποία εναποτίθενται στο ήπαρ προκαλώντας τη χαρακτηριστική στεατοηπατίτιδα (NASH) (Sulkowski et al, 2005). Μεγαλύτερη δυνατότητα να αναστέλλουν τη μιτοχονδριακή λειτουργία έχουν τα DDC, DDI και d4T και ακολουθούν το AZT, 3TC, FTC και TDF κατά σειρά.

### ***Σύνδρομο ανοσολογικής αποκατάστασης***

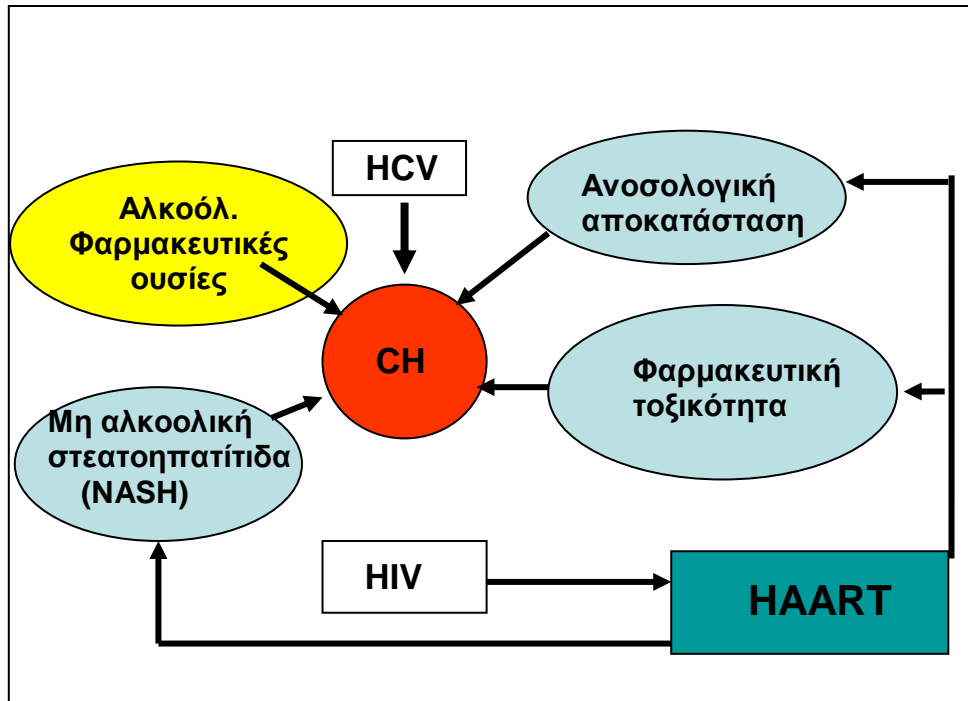
Υπάρχουν αρκετές ενδείξεις για να υποστηριχθεί η ανοσολογική αποκατάσταση (αύξηση των CD4 κυττάρων) μετά την έναρξη της HAART, σαν αίτιο παροδικής αύξησης των τρανσαμινασών. Διαπιστώθηκε ότι αύξηση  $>50 \times 10^6$  CD4 κυτ/1 συσχετίστηκε με βαθμού

3/4 αύξηση τρανσαμινασών (Sulkowski et al 2002). Παρομοίως, ασθενείς που ξεκινούν HAART από στάδια βαρύτερης ανοσοκαταστολής παρουσιάζουν μεγαλύτερες αυξήσεις HCV-RNA (Chung R et al, 2002). Το φαινόμενο συσχετίστηκε με γρήγορη αύξηση των κυτταροτοξικών T λεμφοκυττάρων που οδηγούν σε ανοσολογικής αιτίας καταστροφή των HCV μολυσμένων ηπατοκυττάρων. Εναλλακτική εξήγηση είναι ότι η αντιρετροϊκή θεραπεία καταστέλλει τα επίπεδα της ενδογενούς ιντερφερόνης Α που αυξάνεται κατά τη διάρκεια της HIV λοίμωξης.

### ***Αντιδράσεις υπερευαισθησίας***

Είναι ανοσολογικής αιτιολογίας φαρμακευτικές αντιδράσεις που έχουν παρατηρηθεί κυρίως με τη χορήγηση nevirapine και abacavir. Συνήθως εμφανίζονται μέσα στις πρώτες 12 εβδομάδες από τη χορήγηση και η κλινική εικόνα περιλαμβάνει πυρετό, εξάνθημα και ηωσινοφιλία. Στα άτομα που παίρνουν nevirapine αναφέρονται σε ποσοστό 4,9% αλλά έχει παρατηρηθεί ότι είναι μεγαλύτερο σε γυναίκες με CD4 >250 / μl. (Stern J et al 2003). Ο ακριβής ανοσολογικός μηχανισμός δεν είναι διευκρινισμένος φαίνεται όμως και για τις δύο φαρμακευτικές ουσίες να υπάρχει κάποια γενετική επιβάρυνση αφού έχουν διαπιστωθεί γενετικοί πολυμορφισμοί που προδιαθέτουν σε εμφάνιση συνδρόμου υπερευαισθησίας (Zucman D et al 2007, Vitezica ZG et al, 2008).

Εικόνα 16 . Πιθανοί μηχανισμοί επίδρασης της HAART στο ήπαρ



Παρόλη την αυξημένη ηπατική νοσηρότητα οι νεώτερες μελέτες έδειξαν ότι αυτή άρχισε να παρουσιάζει ένα plateau γεγονός που οδήγησε στην υπόθεση της ευεργετικής δράσης της HAART στην εξέλιξη της ηπατικής ίνωσης. Πράγματι πιο πρόσφατες μελέτες έδειξαν, ότι μετά την έναρξη της HAART σε ασθενείς με συλλοίμωξη, η πλήρης καταστολή του ιού μπορεί να ελαττώσει την εξέλιξη της ηπατικής ίνωσης (Brau N et al 2006). Συνολικά φάνηκε ότι η θνησιμότητα των ασθενών με συλλοίμωξη που έχουν αποτελεσματική ιική καταστολή με τη χορήγηση HAART έχουν μικρότερη θνησιμότητα από εκείνους όπου η αντιρετροϊκή τους αγωγή δεν καταστέλλει αποτελεσματικά τον ιό. (Quirshi et al 2003). Τα αποτελέσματα αυτά ήταν ενθαρρυντικά για την έγκαιρη χορήγηση HAART στους ασθενείς με συλλοίμωξη.

### 3.4. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ HCV ΛΟΙΜΩΞΗΣ ΣΤΗΝ ΦΥΣΙΚΗ ΙΣΤΟΡΙΑ ΤΗΣ HIV ΛΟΙΜΩΞΗΣ

Όσον αφορά την επίδραση της HCV λοίμωξης στην εξέλιξη της HIV λοίμωξης, τα αποτελέσματα είναι περισσότερο αντιφατικά, στις μελέτες που δημοσιεύονται τόσο πριν, όσο και μετά την είσοδο της HAART. Σε κάποιες πρόσφατες μελέτες αναφέρθηκε αυξημένος κίνδυνος εξέλιξης σε AIDS και θάνατο, (Greub G et al, 2000) που αποδόθηκε στην ελαττωμένη ανάκτηση των CD4 κυττάρων στα άτομα με συλλοίμωξη, ένα έτος μετά την έναρξη της HAART, συγκριτικά με τους HCV αρνητικούς, παρότι οι δύο ομάδες παρουσίαζαν παρόμοια ιϊκή καταστολή (De Luca A et al, 2002). Σαν πιθανή αιτία έχει προταθεί ο εξωηπατικός πολλαπλασιασμός του HCV που επιδρά στα επίπεδα των CD4. Σαν πιθανός μηχανισμός επίσης αναφέρεται η άμεση λοίμωξη των CD4 από τον HCV, που φαίνεται να παρουσιάζει τροπισμό προς τα λεμφοκύτταρα σε συλλοίμωξη με HIV. Το εύρημα αυτό δεν επιβεβαιώθηκε από άλλες μελέτες όπου πολυπαραγοντική ανάλυση χρησιμοποιήθηκε για τον έλεγχο παραγόντων όπως η χρήση HAART, ηλικία, αριθμός CD4 και οι παράγοντες κινδύνου μετάδοσης του HIV (Rossi SJ et al, 2002, Sulkowski MS et al, 2002). Τα πλέον έγκυρα δεδομένα προέρχονται από τη μεγάλη προοπτική μελέτη EuroSIDA, όπου δεν αποδείχθηκε διαφορά μεταξύ των δύο υποομάδων HCV+ και HCV- στον χρόνο που απαιτήθηκε για να ελατρωθεί το HIV –RNA σε επίπεδα <400 αντίγραφα /ml και να αυξηθεί ο αριθμός των CD4 σε ποσοστό 50% (Rochstroh J, 2005). Οι διαφορές που παρατηρήθηκαν στις διάφορες μελέτες, πιθανά οφείλονται στον τρόπο ανάλυσης, όπως π.χ η ανάλυση του συνολικού αριθμού των θανάτων ή των θανάτων που σχετίζονται με την HIV

λοίμωξη μόνο, ή στο ότι δεν λήφθηκε υπ' όψη η κακή συμμόρφωση των ασθενών και ειδικά των χρηστών ΕΦ ουσιών στην αντιρετροϊκή θεραπεία. Στο σύνολο των μελετών μετά τη χορήγηση επιτυχημένης αντιρετροϊκής θεραπείας δεν φαίνεται η HCV λοίμωξη να επιδρά στην έκβαση της HIV λοίμωξης.

### 3.5.ΘΕΡΑΠΕΙΑ HCV ΛΟΙΜΩΞΗΣ ΣΕ HCV/HIV ΣΥΛΛΟΙΜΩΞΗ

Οι πρώτες μελέτες με ιντερφερόνη σαν μονοθεραπεία έδειξαν ανταποκρίσεις παρόμοιες με των ασθενών χωρίς HIV λοίμωξη με την προϋπόθεση της διατήρησης ικανοποιητικού αριθμού CD4 (Soriano V et al, 1996, Mauss S et al, 1998). Τα ίδια αποτελέσματα επιβεβαιώθηκαν και για το συνδυασμό ιντερφερόνης και ριμπαβιρίνης (Landau A et al, 2000). Σε πιο πρόσφατες όμως μελέτες τα ποσοστά μακροχρόνιας ανταπόκρισης είναι χαμηλότερα στους ασθενείς με συλλοίμωξη (Bruno et al, 2002). Τέσσερες μεγάλες τυχαίοποιημένες ελεγχόμενες μελέτες συνέκριναν συνδυασμένα σχήματα κλασσικής ιντερφερόνης και ριμπαβιρίνης με πεγκυλιωμένη ιντερφερόνη και ριμπαβιρίνη (ACTG, APRICOT, RIBAVIC, Laguno et al) και παρά τις διαφορές μεταξύ τους απέδειξαν όλες υπεροχή της πεγκυλιωμένης ιντερφερόνης σε σύγκριση με την κλασσική.

Τα ποσοστά της μακροχρόνιας ανταπόκρισης ποικίλλουν μεταξύ 20-40% για την Peg INF έναντι 12-21% της κλασσικής. Προγνωστικοί δείκτες που συνδέονται αρνητικά με την ανταπόκριση είναι ο γονότυπος 1, η παρουσία κίρρωσης, το υψηλό ιϊκό φορτίο, η παρουσία λιπώδους διήθησης και η μεγαλύτερη ηλικία (Carrat et al 2004).

Οι ανεπιθύμητες αντιδράσεις περιλαμβάνουν τις ίδιες που εμφανίζονται και στους ασθενείς χωρίς HIV λοίμωξη, όμως στους ασθενείς με συλλοίμωξη το ποσοστό διακοπής της θεραπείας είναι μεγαλύτερο, πιθανώς λόγω της συγχορήγησης της αντιρετροϊκής θεραπείας. (Landau et al 2000, Poynard et al, 2000). Η αναιμία είναι η πιο συχνή παρενέργεια της ριμπαβιρίνης και υπεύθυνη για μεγάλο αριθμό διακοπών της θεραπείας. Η ανάγκη για ελάττωση της δόσης της ριμπαβιρίνης λόγω σοβαρής αναιμίας καθώς και η μη συμμόρφωση λόγω παρενεργειών είναι μία πιθανή αιτία των χαμηλών ποσοστών μακροχρόνιας ανταπόκρισης στους ασθενείς με HIV λοίμωξη (Mc Hutchison J et al 2002).

Η ριμπαβιρίνη αποδείχθηκε ότι *in vitro* αναστέλλει την φωσφορυλίωση των αναλόγων της θυμιδίνης (AZT/d4T) και υφίσταται ο θεωρητικός κίνδυνος αναστολής της αποτελεσματικότητας τους παρόλο που σε καμία από τις μικρές μελέτες που έχουν διεξαχθεί δεν αποδείχθηκε η δράση αυτή *in vivo*.

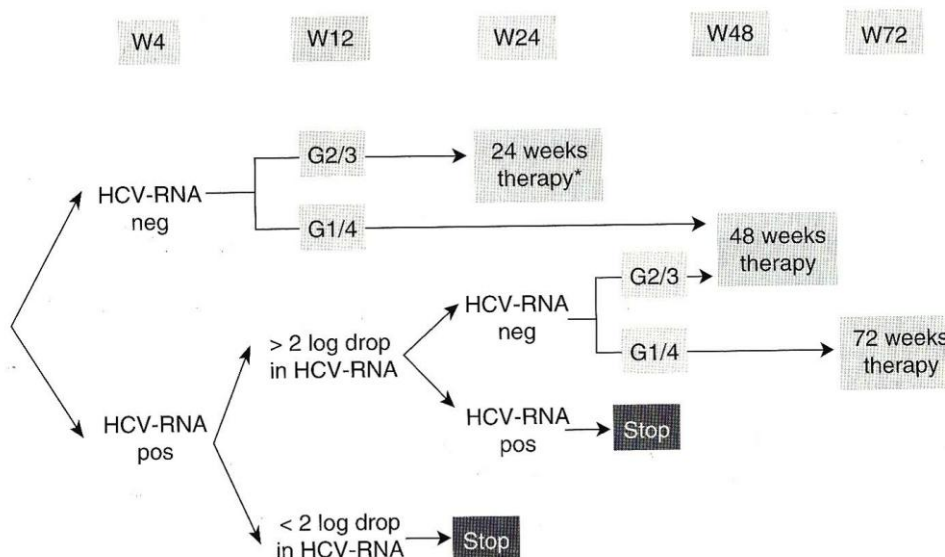
Πιο σημαντικό εύρημα είναι ότι ενισχύει τη φωσφορυλίωση της διδανοσίνης (ddI) με αποτέλεσμα αυξημένη τοξικότητα του φαρμάκου μέσω της ανασταλτικής της δράσης στην μιτοχονδριακή DNA πολυμεράση g.

Στη βιβλιογραφία υπάρχουν πολλές αναφορές μιτοχονδριακής τοξικότητας και γαλακτικής οξέωσης με συνδυασμένη χορήγηση ριμπαβιρίνης και ddI ή d4T. Οι σοβαρές αυτές ανεπιθύμητες αντιδράσεις οδήγησαν στην έκδοση συστάσεων για αποφυγή χορήγησης των δύο αυτών αντιρετροϊκών σε συνδυασμό με ριμπαβιρίνη. (Soriano et al, 2004)

Προσεκτική εκτίμηση του ασθενή είναι απαραίτητη πριν τη χορήγηση της αντι HCV αγωγής. Αριθμός CD4>200/μl είναι απαραίτητος ώστε να μην εκτεθεί ο ασθενής σε κίνδυνο λοιμώξεων, ενώ

ασθενείς με μη αντιρροπούμενη κίρρωση δεν θα πρέπει να εντάσσονται σε θεραπευτικά σχήματα αντι-HCV θεραπειάς λόγω κινδύνου σοβαρών παρενεργειών.

Η διάρκεια της θεραπείας μπορεί να εξατομικεύεται, συστήνεται όμως διάρκεια τουλάχιστον 48 εβδομάδων για όλους τους γονοτύπους, είτε 72 εβδομάδων για τους γονοτύπους 1 και 4 λόγω των υψηλών ποσοστών υποτροπής (Alberti A et al 2005). Η εκτίμηση της πρώιμης ανταπόκρισης στις 12 εβδομάδες (αρνητικό HCV- RNA ή τουλάχιστον μείωση κατά 2 λογαρίθμους) είναι σημαντική ώστε να μην υποστεί ο ασθενής την τοξικότητα της θεραπείας χωρίς αποτέλεσμα.



**Εικόνα 17.** Πρόσφατες κατευθυντήριες οδηγίες από Διεθνές Πάνελ συστήνουν νέο θεραπευτικό αλγόριθμο για την HCV θεραπεία σε ασθενείς με συλλοίμωξη (Soriano et al, 2007)



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4. Η ΑΙΜΟΡΡΟΦΙΛΙΑ

### 4.1. Η ΑΙΜΟΡΡΟΦΙΛΙΑ

#### 4.1.1. Ιστορικά και επιδημιολογικά στοιχεία

Παρόλο που η αιμορροφιλία είχε ήδη περιγραφεί σαν θανατηφόρα συγγενής αιμορραγική διάθεση στους Talmud από τον 5ο αιώνα, μόλις τον 19ο ανεπτύχθησαν η έρευνα και προέκυψαν νέες γνώσεις πάνω στο κληρονομικό αυτό νόσημα. Αργότερα, γύρω στο 1950 παρατηρήσεις διαφόρων ερευνητών, οδήγησαν στο συμπέρασμα ότι υπάρχουν τουλάχιστον δύο τύποι αιμορροφιλίας με παρόμοια κλινική εικόνα. (Aledort LM, 2007)

Η αιμορροφιλία A, είναι η απουσία ή βαριά έλλειψη του παράγοντα VIII (FVIII), οφειλόμενη σε μεταλλάξεις του γονιδίου του. Είναι κληρονομικό νόσημα με φυλοσύνδετο τύπο κληρονομικότητας (προσβάλλονται άρρενα άτομα), παρόλα αυτά, περίπου το 1/3 των ασθενών παρουσιάζονται σαν νέες μεταλλάξεις και έχουν αρνητικό οικογενειακό ιστορικό.

Η αιμορροφιλία B, η οποία είναι κλινικά μη διακρίσιμη από την αιμορροφιλία A και παρουσιάζει τον ίδιο τύπο κληρονομικότητας, οφείλεται σε απουσία ή βαριά έλλειψη του FIX, ή παράγοντα Christmas.

Η ανά τον κόσμο συχνότητα της αιμορροφιλίας εκτιμάται μεταξύ 1:5000 έως 1:10.000 άνδρες, ενώ η σχέση μεταξύ αιμορροφιλίας A και B είναι 4:1 και δεν φαίνεται να υπάρχουν διαφορές, εθνικές ή γεωγραφικές.

#### 4.1.2. Κλινική εικόνα

Η βαρύτητα και η κλινική εικόνα της αιμορροφιλίας είναι προβλέψιμη, και σχετίζεται με τα επίπεδα της δραστηριότητας των παραγόντων VIII και IX στο πλάσμα. Με αυτή τη βάση διακρίνουμε 3 τύπους αιμορροφιλίας: α) **βαριά**, όταν τα επίπεδα των παραγόντων είναι  $\leq 1\%$ , β) **μέση**, με επίπεδα 2-5%, και γ) **ελαφρά**, με επίπεδα 5-25%.

Κύρια κλινικά χαρακτηριστικά της αιμορροφιλίας A και B είναι:

1. Αίμαρθρα και μυϊκά αιματώματα καθώς και εύκολοι μώλωπες. Οι αρθρώσεις που προσβάλλονται κατά σειρά συχνότητας είναι τα γόνατα, οι αγκώνες, οι ποδοκνημικές, οι ώμοι και τα ισχία.
2. Αιμορραγίες βλεννογόνων
3. Παρατεταμένη και δυνητικά θανατηφόρα μετεγχειρητική αιμορραγία.
4. Αιμορραγίες κεντρικού νευρικού συστήματος

#### 4.1.3. Νόσος Willebrand

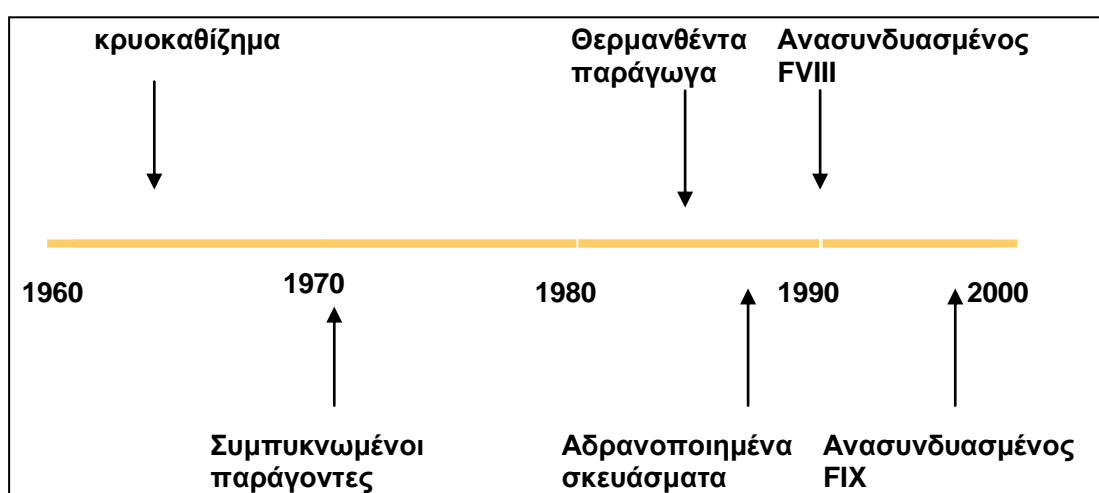
Το 1924 ο Φιλανδός ιατρός Erik von Willebrand, διέγνωσε μία οικογένεια με αιμορραγική διάθεση με σωματικό κυρίαρχο ,τύπο κληρονομικότητας όπου και τα δύο φύλα προσβάλλονταν. Στην οικογένεια αυτή η προεξάρχουσα συμπτωματολογία αφορούσε αιμορραγίες βλεννογόνων και για το λόγο αυτό πήρε αρχικά το όνομα αγγειοαιμορροφιλία. Ο αίτιο της νόσου είναι ποσοτική ή ποιοτική διαταραχή μίας πρωτεΐνης του αίματος που πήρε το όνομα του ιατρού von Willebrand και η οποία είναι απαραίτητη για την προσκόλληση των αιμοπεταλίων στο σημείο της αγγειακής βλάβης ενά συνδέεται στην

κυκλοφορία με τον παράγοντα VIII και τον προστατεύει από την αποδομηση. Είναι η συχνότερη αιμορραγική διάθεση και πολύ συχνά μένει αδιάγνωστη λόγω της ηπιότητας των συμπτωμάτων. Η κλινική εικόνα της αφορά κυρίως αιμορραγίες από βλεννογόνους ενώ στις βαριές ελλείψεις του παράγοντα von Willebrand όπου ελαττώνονται ταυτόχρονα και τα επίπεδα του παράγοντα VIII, η κλινική εικόνα μπορεί να περιλαμβάνει και αίμαθρα, χαρακτηριστικά της αιμορροφιλίας (Federici et al, 2006).

#### 4.2. ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΥΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ

Η θεραπεία της αιμορροφιλίας A και B και της σοβαρής νόσου von Willebrand, έχει στόχο την αποκατάσταση του ελλείποντος παράγοντα πήξης. Μέχρι το 1960 περιορισμένη θεραπευτική παρέμβαση γινόταν με μεταγγίσεις αίματος και χορήγηση πρόσφατα κατεψυγμένου πλάσματος (FFP). Η ανακάλυψη το 1964 από τη Judith Pool ότι ένα παράγωγο του πλάσματος το κρυοκαθίζημα περιείχε μεγάλη ποσότητα FVIII υπήρξε σταθμός στη θεραπεία των ατόμων με αιμορροφιλία. Με βάση τη γνώση αυτή στις αρχές τις δεκαετίας του 1970 κάποιες φαρμακοβιομηχανίες άρχισαν να παράγουν ενδιάμεσης καθαρότητας συμπυκνώματα παραγόντων σε λυοφιλοποιημένη μορφή. Τα σκευάσματα αυτά επέτρεψαν τη χορήγηση μεγάλων ποσοτήτων συμπυκνωμένου παράγοντα σε μικρό όγκο ώστε να είναι δυνατή η γρήγορη χορήγηση καθώς και η θεραπεία στο σπίτι. Η αντιμετώπιση αυτή άλλαξε ριζικά την εξέλιξη της θεραπείας των ασθενών και βελτίωσε την ποιότητα και το συνολικό προσδόκιμο της ζωής τους. Το τίμημα ήταν η μεγάλη συχνότητα ανάπτυξης μετά μετάγγιση ηπατίτιδας με πρώτη αναφορά από τους Kasper και Kripnis το 1972 και της HIV λοίμωξης με πρώτη αναφορά το

1982. Άμεσα έγινε προσπάθεια από τις φαρμακοβιομηχανίες να εφαρμόσουν μεθόδους αδρανοποίησης των συμπυκνωμένων παραγόντων. Αρχικά χρησιμοποιήθηκαν μέθοδοι θέρμανσης (dry heating) οι οποίες ήταν αποτελεσματικές για τον HIV αλλά όχι για τους ιούς με περίβλημα (Colombo M et al, 1985). Έτσι στη θέρμανση προστέθηκε η παστερίωση καθώς και η επεξεργασία με οργανικούς διαλύτες και απορρυπαντικά (Solvent/ Detergent), που αποδείχθηκε σε μελέτες ότι προστατεύουν τους αιμορροφιλικούς από μετάδοση ιών (Schimpf M et al 1987). Με τη χρήση παραγόντων που χρησιμοποιούν συνδυασμό τουλάχιστον 2 μεθόδων, μετά το 1986 δεν έχει αναφερθεί καμία νέα λοίμωξη (Tabor et al, 1999). Η πρόοδος της μοριακής βιολογίας και τεχνολογίας στο τέλος της δεκαετίας του 1980 οδήγησε στη δημιουργία των ανασυνδυασμένων συμπυκνωμένων παραγόντων (Schwartz et al, 1990), οι οποίοι με άριστη αποτελεσματικότητα και ασφάλεια χρησιμοποιούνται πλέον όλο και περισσότερο σαν θεραπεία υποκατάστασης των ατόμων με αιμορροφιλία. Οι βασικοί σταθμοί στην εξέλιξη της θεραπείας της αιμορροφιλίας παρουσιάζονται σχηματικά στην εικόνα 18.



**Εικόνα 18.** Σταθμοί στην εξέλιξη της θεραπείας υποκατάστασης της αιμορροφιλίας

### 4.3. ΑΙΜΟΡΡΟΦΙΛΙΑ ΚΑΙ ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ ΜΕΤΑΔΙΔΟΜΕΝΕΣ ΜΕ ΤΑ ΠΑΡΑΓΩΓΑ ΑΙΜΑΤΟΣ

#### 4.3.1 Ηπατίτιδα C και αιμορροφιλία

Με την εισαγωγή των συμπυκνωμένων παραγόντων πήξης στις αρχές της δεκαετίας του 1970 ένα μεγάλο ποσοστό οξείας ηπατίτιδας άρχισε να αναφέρεται σε πολλά κέντρα (Kasper and Kripnis 1972). Περίπου 50% των περιπτώσεων είχε ορολογικούς δείκτες συμβατούς με ηπατίτιδα B (Rickard K. et al 1982). Το μεγαλύτερο όμως ποσοστό των αιμορροφιλικών που πήραν συμπυκνωμένους παράγοντες εκείνη την εποχή παρουσίασε από την πρώτη χορήγηση βιοχημικά ευρήματα και ορολογικούς δείκτες συμβατούς με non A, non – B ηπατίτιδα (Fletcher et al 1983, Kernoff et al, 1985). Αρκετά σύντομα φάνηκε ότι σε ένα μεγάλο ποσοστό (20-80%) τα περιστατικά αυτά εξελίσσονταν προς χρόνια ηπατική νόσο (Hay et al, 1985). Μετά την περιγραφή του ιού της ηπατίτιδας C (Choo 1989, Kuο 1989) και την ανάπτυξη της ανοσοενζυμικής μεθόδου ανίχνευσης του ιού (Kuο 1989), διαπιστώθηκε ότι ποσοστό 60-100% των αιμορροφιλικών ατόμων που πήραν συμπυκνωμένα παράγωγα μεταξύ 1970 και 1986 είναι θετικοί σε αντισώματα για τον HCV (Brettler D et al, 1990, Rumi et al 1990). Διαφορές διαπιστώθηκαν μεταξύ διαφόρων χωρών που αντανακλούν τη διαφορετική χρήση ή και προέλευση των παραγόντων πήξης ενώ υψηλότερα ποσοστά διαπιστώθηκαν στα άτομα με μεγαλύτερη κατανάλωση (Makris M et al 1990). Οι ιδιαιτερότητες που παρουσιάζει η λοίμωξη στα άτομα με αιμορροφιλία – γνωστή ορομετατροπή, κατανομή γονοτύπων ανάλογα με την προέλευση του παραγώγου, ο κίνδυνος της χρήσης της βιοψίας ήπατος σαν μέσο παρακολούθησης, η συλλοίμωξη με HIV - έκαναν ενδιαφέρουσα τη μελέτη της φυσικής ιστορίας της

ηπατίτιδας C στην ομάδα αυτή ξεχωριστά από άλλες ομάδες HCV θετικών ασθενών.

#### **4,3.2. HCV/HIV συλλοίμωξη και αιμορροφιλία**

Το 1982 η αναφορά δύο περιπτώσεων λοίμωξης από *Pneumocystis Carinii* σε αιμορροφιλικούς ασθενείς (CDC,1982), ήταν η πρώτη ένδειξη για τη μετάδοση του HIV με τους συμπυκνωμένους παράγοντες πήξης. Υπολογίζεται ότι περίπου 50-90% μολύνθηκαν με τον HIV. Καθώς 70-90% από αυτούς είχαν ήδη μολυνθεί με τον HCV, η συλλοίμωξη HCV/HIV αποτελεί σημαντικό πρόβλημα μεταξύ των ατόμων με αιμορροφιλία. (Eyster et al 1993; Eyster et al 1994; Ragni et 1993). Μελέτες από κοόρτες αιμορροφιλικών έχουν δώσει αρκετές πληροφορίες για τη φυσική ιστορία των λοιμώξεων. Η παρακολούθηση των ασθενών σε εξειδικευμένα κέντρα και η διατήρηση σε αυτά αρχείου δειγμάτων, έδωσε τη δυνατότητα προσδιορισμού, του χρόνου ορομετατροπής των ασθενών αυτών. Οι περιορισμοί στις πληροφορίες που μπορούν να δώσουν οι κοόρτες των αιμορροφιλικών, αφορούν στο φύλο των ασθενών, καθώς είναι κυρίως άνδρες, και η ομοιομορφία στους γονοτύπους του HCV. Στις κοόρτες αυτές ο πιο συχνά αναφερόμενος γονότυπος είναι ο 1 που αντανακλά και την προέλευση των παραγόντων πήξης που έλαβε η κάθε ομάδα.

Οι αιμορροφιλικοί ασθενείς παρουσιάζουν ιδιαιτερότητες σε σχέση με άλλες ομάδες που μολύνθηκαν με άλλες οδούς, καθώς στους περισσότερους η HCV λοίμωξη προηγήθηκε της λοίμωξης με τον HIV. Πολλοί από αυτούς υπέστησαν επαναμολύνσεις λόγω επανειλημμένης έκθεσης, και έχουν παρατηρηθεί συνδυασμοί γονοτύπων (Eyster et al 1993; Ragni et al 2001). Λόγω του αυξημένου κινδύνου για αιμορραγία στην ηπατική βιοψία, λίγες πληροφορίες για την ηπατική ιστολογία είναι

διαθέσιμες (Aledort et al, 1985). Υπάρχουν παρόλα αυτά οι ενδείξεις για την ταχύτερη εξέλιξη της HCV λοίμωξης στους ασθενείς με συλλοίμωξη σε σύγκριση με τους μολυνθέντες μόνο με HIV.

Οι Eyster και συνεργάτες, απέδειξαν μεγαλύτερη συχνότητα ηπατικής ανεπάρκειας στους ασθενείς με συλλοίμωξη (8.8%), συγκριτικά με τους ασθενείς χωρίς HIV λοίμωξη (0%). Σε άλλο cohort 181 HCV+ αιμορροφιλικών (40% με συλλοίμωξη), μη αντιρροπούμενη κίρρωση αναπτύχθηκε σε 11 ασθενείς (10 με συλλοίμωξη), ενώ ο μέσος χρόνος από την πρώτη έκθεση στον παράγοντα πήξης ως την απώλεια της αντιρρόπησης ήταν 16.5 έτη (Telfer 1994).

Τα χαμηλά CD4 κύτταρα φαίνεται ότι αποτελούν ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα για ταχύτερη εξέλιξη της HCV λοίμωξης. Οι Goedert και συνεργάτες παρακολούθησαν 1,816 HCV+ αιμορροφιλικούς, από τους οποίους 1,192 (65.6%) ήταν HIV+. Στα 16 χρόνια η αθροιστική συχνότητα εμφάνισης ESLD στους αιμορροφιλικούς με συλλοίμωξη ήταν 14% (95% CI, 11.6-16.4%). έναντι 2.6% σε αυτούς με μόνο HCV (95% CI, 1.0-4.3%). Η συλλοίμωξη αύξησε τον κίνδυνο ανάπτυξης ESLD κατά 8 φορές (σχετικός κίνδυνος 7.9; 95% CI, 4.2-15.2). Ο κίνδυνος εξέλιξης σε ESLD μεταξύ εκείνων με αριθμό CD4 < 200 μl ήταν διπλάσιος (σχετικός κίνδυνος 2.1; 95% CI, 1.3-3.3) (Goedert 2002). Σε άλλη ομάδα, η Ragni και συνεργάτες διαπίστωσαν ότι ESLD σε αιμορροφιλικούς με συλλοίμωξη εμφανίζεται μόνο σε πολύ χαμηλά επίπεδα CD4. Παρακολουθώντας μία ομάδα 157 HCV θετικών αιμορροφιλικών από τους οποίους 85 με συλλοίμωξη, μεταξύ 1978 και 1999, διαπίστωσαν ότι 16% των ατόμων με συλλοίμωξη εξελίσσονται προς ESLD μετά από κατά μέσο όρο, 18 χρόνια από την HCV λοίμωξη. Δεν αναφέρθηκε ESLD σε ασθενείς με αριθμό CD4 >150/μL (Ragni 2001).

Αντίθετα δεν έχει αναφερθεί χειρότερη εξέλιξη της HIV λοίμωξης στους αιμορροφιλικούς ασθενείς σε σχέση με άλλες ομάδες HIV θετικών ασθενών.

#### **4.3.3. Θεραπεία ηπατίτιδας C στους αιμορροφιλικούς ασθενείς**

Οι πρώτες μελέτες που αφορούσαν θεραπεία HCV αιμορροφιλικών ασθενών χωρίς HIV λοίμωξη με ιντερφερόνη Α δεν είχαν ιδιαίτερα ενθαρρυντικά αποτελέσματα και οι περισσότερες ανέφεραν ποσοστά παρατεινόμενης ανταπόκρισης χαμηλότερα από τις άλλες ομάδες HCV ασθενών (<16%) (Hanley et al 1996, Rumi et al 1997, Laursen et al 1997). Η αιτία πιθανότατα ήταν η υπεροχή του γονότυπου 1 στις ομάδες αυτές. Η Sauleda και συνεργάτες ανέφεραν ανταπόκριση στο 35% των ασθενών που έλαβαν συνδυασμό Ιντερφερόνης Α 3εκ IU 3 φορές εβδομαδιαία και 800-1200 mg ριμπαβιρίνης /ημερησίως. Τέλος ο Franchini και συνεργάτες κάνοντας μεταανάλυση διαφόρων δημοσιευμένων μελετών συνδυασμένης θεραπείας τόσο με ιντερφερόνη Α όσο και πεγκυλιωμένη ιντερφερόνη συμπεραίνει ότι την μεγαλύτερη ανταπόκριση παρουσιάζουν οι ασθενείς με μόνο HCV λοίμωξη που πήραν συνδυασμένη θεραπεία με πεγκυλιωμένη ιντερφερόνη και ριμπαβιρίνη και κυμαίνεται από 45% για τον γονότυπο 1 ως 79% για τους υπόλοιπους γονότυπους. Ο γονότυπος 1 (Odds Ratio (OR), 0.15; 95% CI, 0.09–0.25) καθώς και η συλλοίμωξη HIV (OR, 0.25; 95% CI, 0.08–0.81) είναι ισχυροί αρνητικοί προγνωστικοί παράγοντες ανταπόκρισης στην αντι- HCV θεραπεία. (Franchini et al, 2008). Παρόλο που στις περισσότερες μελέτες οι ασθενείς με συλλοίμωξη παρουσιάζουν χαμηλή ανταπόκριση σε μελέτη του Mancuso και συνεργατών, οι ασθενείς με συλλοίμωξη είχαν συνολική ανταπόκριση 44% που κυμαινόταν ανάλογα με το γονότυπο, σε ποσοστό 37% για τους ασθενείς



με γονότυπο 1 και στο 60% για τους γονοτύπους 2/3.(Manusco et al 2009).

#### 4.4. Η ΑΙΜΟΡΡΟΦΙΛΙΑ ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ

Η διάγνωση του πρώτου αιμορροφιλικού ασθενούς στην Ελλάδα έγινε γύρω στο 1950 από τον αιματολόγο Ιπποκράτη Τσεβρένη, διευθυντή του Κέντρου Αιμοδοσίας του Γενικού Νοσοκομείου Αθηνών «Ιπποκράτειο» ο οποίος οργάνωσε και το 1<sup>ο</sup> Κέντρο Αιμορροφιλικών στην Ελλάδα.

Το δεύτερο Κέντρο αναπτύχθηκε από την αιματολόγο Τιτίκα Μανδαλάκη, η οποία έχοντας εξειδίκευση στην αιμόσταση, ανέλαβε τη διεύθυνση του Κέντρου Αιμοδοσίας του Γενικού Νοσοκομείου Αθηνών «Λαϊκό» το 1971. Το Κέντρο συγκέντρωσε τον μεγαλύτερο αριθμό ασθενών από όλη την Ελλάδα οργανώθηκε σαν Κέντρο παροχής Ολιστικής Φροντίδας στα άτομα με κληρονομικές αιμορραγικές διαταραχές (Comprehensive Haemophilia Centre) και από το 1996 ορίστηκε σαν Εθνικό Κέντρο Αναφοράς Συγγενών Αιμορρικών Διαθέσεων.

Μέχρι την εισαγωγή των σκευασμάτων συμπυκνωμένων παραγόντων πήξης η οποία ξεκίνησε το 1974, η θεραπεία υποκατάστασης των ασθενών βασιζόταν στο πρόσφατα κατεψυγμένο πλάσμα και κρυοκαθίζημα από Έλληνες δότες αίματος. Μέχρι το τέλος του 1979 οι συμπυκνωμένοι παράγοντες χρησιμοποιούντο περιστασιακά για αντιμετώπιση σοβαρών αιμορραγικών επεισοδίων ή χειρουργικών επεμβάσεων, ενώ από τον Ιανουάριο του 1980 άρχισε η χρήση τους σε τακτική βάση. Μετά το τέλος Αυγούστου 1985 οι ασθενείς θεραπεύονται αποκλειστικά με αδρανοποιημένα για ιούς σκευάσματα, ενώ από το 1992, τα πρώτα ανασυνδυασμένα σκευάσματα παραγόντων πήξης,

χρησιμοποιήθηκαν αρχικά για τους ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς και στη συνέχεια, με την αύξηση της διαθέσιμότητάς τους, σε όλους τους ασθενείς. Σήμερα ανασυνδασμένοι παράγοντες πήξης χρησιμοποιούνται σε ποσοστό >90% των αιμορροφιλικών ασθενών της Ελλάδας.

Ήδη από το 1974 είχαν παρατηρηθεί περιστατικά οξείας ικτερικής ηπατίτιδας μεταξύ των αιμορροφιλικών ασθενών και άρχισε συστηματική παρακολούθηση της ηπατικής τους λειτουργίας. Σε αρχική μελέτη 101 αιμορροφιλικών, στην οποία διερευνήθηκε η συχνότητα της ανίχνευσης ορολογικών δεικτών ηπατίτιδας Β (Yannitsiotis A et al, 1974), 83% των ασθενών βρέθηκαν να έχουν ορολογικούς δείκτες ηπατίτιδας Β θετικούς. Στη μελέτη αυτή διαπιστώθηκε ότι παρόλο που το 73% είχε αναπτύξει ανοσία έναντι του HBV, το 47% των ασθενών της μελέτης, από τους οποίους 28 με αντι- HBs θετικό και 9 χωρίς καθόλου ενδείξεις HBV λοίμωξης, είχαν παθολογικές ηπατικές δοκιμασίες, γεγονός που έθετε στους ασθενείς αυτούς την υποψία μη Α μη Β ηπατίτιδας.

Το 1985 η πρώτη ανοσοενζυμική μέθοδος ανίχνευσης αντισωμάτων έναντι του HIV, επέτρεψε την αναδρομική διερεύνηση δειγμάτων των ασθενών. Συνολικά 162 ασθενείς βρέθηκαν θετικοί σε αντισώματα έναντι του HIV. Η λοίμωξη επιβεβαιώθηκε με μέθοδο Western Blot. Από τους ασθενείς αυτούς, οι 158 που είχαν τακτική παρακολούθηση και γνωστή ημερομηνία HIV ορομετατροπής, αποτέλεσαν την Ελληνική κοόρτη HIV θετικών αιμορροφιλικών ασθενών, η οποία αναλυτικά περιγράφεται αλλού (Touloumi et al, 1997).

Το 1990, ο αναδρομικός έλεγχος δειγμάτων αρχείου με ανοσοενζυμικές μεθόδους ανίχνευσης αντισωμάτων έναντι του HCV, ανέδειξε συχνότητα HCV λοίμωξης μεγαλύτερη από 90% μεταξύ των αιμορροφιλικών που είχαν αντιμετωπιστεί με μη αδρανοποιηθέντα

παράγωγα. Τα ποσοστά ήταν 97,5% για τους HIV θετικούς ασθενείς.  
(Hatzakis A et al, 1992).



## **ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**



## 1. ΣΚΟΠΟΣ

Σκοπός της προοπτικής μελέτης αυτής ήταν να μελετηθεί η φυσική ιστορία της ηπατίτιδας C σε κοόρτη ασθενών με κληρονομικές αιμορραγικές διαθέσεις, οι οποίοι μολύνθηκαν λόγω της θεραπείας υποκατάστασης που έλαβαν, με μη αδρανοποιημένα σκευάσματα παραγόντων πήξης.

Στην ομοιογενή αυτή ομάδα ατόμων, που έχουν μολυνθεί με τον ίδιο τρόπο, η δυνατότητα εντοπισμού του χρόνου λοίμωξης και της τακτικής παρακολούθησης, επιτρέπει την μελέτη των παραγόντων που μπορεί να επηρεάσουν την εξέλιξη της νόσου.

Ιδιαίτερη έμφαση δόθηκε, στις διαφορές που παρουσιάζει η εξέλιξη της HCV λοίμωξης σε δύο ξεχωριστές ομάδες αιμορροφιλικών ασθενών. Εκείνων που μολύνθηκαν μόνο με τον HCV και εκείνων με συλλοίμωξη HCV και HIV. Ειδικότερα στους σκοπούς της μελέτης περιλαμβάνονται:

- Η εκτίμηση του κινδύνου εξέλιξης προς ESLD και θανάτου χωρίς εμφάνιση ESLD, συνολικά και συγκριτικά στις δύο ομάδες ασθενών και η αναζήτηση των παραγόντων που μπορεί να επηρεάσουν το ρυθμό της εξέλιξης της ηπατικής νόσου στις δύο ομάδες.
- Στην ομάδα των ασθενών με συλλοίμωξη, να διερευνηθεί η επίδραση της HIV λοίμωξης και της προκαλούμενης ανοσοκαταστολής, στην βαρύτητα της ηπατικής βλάβης.
- Να μελετηθεί η επίδραση της HAART -της θεραπείας που άλλαξε τη φυσική ιστορία της HIV λοίμωξης- στην εξέλιξη της HCV λοίμωξης.
- Τέλος να εκτιμηθεί η απάντηση στην αντι – HCV θεραπεία στις δύο ομάδες των ασθενών και η επίδρασή της στην εξέλιξη της λοίμωξης.

## 2. ΥΛΙΚΟ ΜΕΛΕΤΗΣ

Η μελέτη αυτή πραγματοποιήθηκε στο Εθνικό Κέντρο Αναφοράς Αιμορραγικών Διαθέσεων στο Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών «Λαϊκό». Στο κέντρο αυτό από τη σύστασή του, το 1972, παρακολουθούνται και αντιμετωπίζονται άτομα με κληρονομικές ελλείψεις παραγόντων πήξης.

Τα άτομα που εντάχθηκαν στην μελέτη, είναι άτομα με κληρονομικές αιμορραγικές διαθέσεις (αιμορροφιλία Α, Β και νόσο von Willebrand), τα οποία, πριν το 1986, είχαν λάβει θεραπεία υποκατάστασης με μη αδρανοποιημένα σκευάσματα παραγόντων πήξης και μολύνθηκαν από αυτά με τον ιό της ηπατίτιδας C. Σαν κριτήρια ένταξης ορίστηκαν τα εξής:

- Άτομα τα οποία ζούσαν την 1-1-1980
- Θετικά αντισώματα έναντι του HCV σε τουλάχιστον δύο διαφορετικές μετρήσεις
- Άτομα που από την ημερομηνία ένταξής τους στο κέντρο έως το τέλος της μελέτης, είχαν στους φακέλλους τους στοιχεία παρακολούθησης (τουλάχιστον μία επίσκεψη ανά 2 έτη).

Από το σύνολο των ασθενών που εντάχθηκαν στη μελέτη, δημιουργήθηκαν δύο ομάδες παρακολούθησης, εκείνοι με μόνο HCV λοίμωξη και εκείνοι που μεταξύ των ετών 1980 και 1986 μολύνθηκαν επίσης με τον ιό HIV. Οι ομάδες αυτές μελετήθηκαν συγκριτικά.

Η συλλογή και καταγραφή των στοιχείων έγινε αναδρομικά πριν το 1994, από τους φακέλους των ασθενών και τα αρχεία του Κέντρου, και προοπτικά από 1-1-1994 ως το τέλος του 2010 και περιλαμβάνει:



## **A. Επιδημιολογικά δεδομένα**

- Είδος Αιμορραγικής Διάθεσης και βαρύτητα
  - Συλλοίμωξη με HIV και HBV
  - Χρόνος HCV ορομετατροπής
  - Ηλικία κατά την HCV ορομετατροπή
  - Γονότυπος HCV
  - Χρόνος HIV ορομετατροπής
  - Ημερομηνία και αιτία θανάτου για τους θανόντες
- Ως HCV ορομετατροπή ορίστηκε η πρώτη έκθεση των ασθενών σε συμπτωκνωμένους παράγοντες πήξης σύμφωνα με τις καταγραφές των αρχείων του κέντρου. Για τους ασθενείς που στους φακέλους υπήρχαν πριν τη χορήγηση συμπτωκνωμένων παραγόντων υπήρχαν ενδείξεις προηγούμενης non A non B ηπατίτιδας, σαν ορομετατροπή θεωρήθηκε η πρώτη χορήγηση μεγάλης ποσότητας κρυοκαθιζήματος (π.χ. μεγάλο χειρουργείο).
- Ως HIV ορομετατροπή ορίστηκε η ημερομηνία του πρώτου HIV θετικού δείγματος για αντι – HIV αντισώματα όταν δεν υπάρχει τελευταίο αρνητικό, ή αλλιώς η μέση ημερομηνία μεταξύ πρώτου θετικού και τελευταίου αρνητικού δείγματος.

## **B. Εργαστηριακά δεδομένα παρακολούθησης**

Σε όλους τους ασθενείς συγκεντρώθηκαν διαχρονικά:

- Αιματοκρίτης (%)
- Λευκά Αιμοσφαίρια
- Αιμοπετάλια
- Ουρία
- Κρεατινίνη

- AST/ALT
- γGT
- ALP
- Χολερυθρίνη (άμεση/έμμεση)
- Αλβουμίνη
- Χρόνος προθρομβίνης

Επιπλέον στους HIV θετικούς ασθενείς τα επίπεδα των CD4 κυττάρων και το HIV –RNA.

### **Γ. Κλινικά δεδομένα παρακολούθησης**

Ελέγχθηκε διαχρονικά η ύπαρξη ηπατομεγαλίας, σπληνομεγαλίας, και σημείων μη αντιρροπούμενης ηπατικής νόσου. Συγκεκριμένα:

- ανάπτυξη ασκίτη τεκμηριωμένου υπερηχογραφικά ή κατόπιν παρακέντησης
- μη χολοστατικού ικτέρου (χολερυθρίνη >3 mg/dL, αφού αποκλειστεί άλλη αιτία αύξησής της)
- κιρσών οισοφάγου με ή χωρίς αιμορραγία (διαγνωσμένων κατόπιν ενδοσκόπησης)
- κλινικών σημείων ηπατικής εκγεφαλοπάθειας (επεισόδιο σύγχυσης, ή διαταραχής του προσανατολισμού ή πτερυγίζοντος τρόμου).

Στους ασθενείς με συλλοίμωξη HCV/HIV έγινε επιπλέον διαχρονική παρακολούθηση του σταδίου της HIV λοίμωξης κατά CDC.

Η διάγνωση του ΗΚΚ έγινε είτε με απεικονιστικές μεθόδους και επίπεδα AFP>500, είτε με ιστολογική διάγνωση σε βιοψικό υλικό.

### 3. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ

#### A. HCV Λοίμωξη

➤ *Προσδιορισμός HCV Αντισωμάτων*

Ο προσδιορισμός των αντισωμάτων έναντι του HCV έγινε με ανοσοενζυμική μέθοδο (ELISA) δεύτερης και τρίτης γενιάς (Abbott GmbH Diagnostika, Wiesbaden, FRG), σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή. Επιβεβαίωση των θετικών δειγμάτων έγινε με RIBA-2 (Chiron, Emeryville, Calif).

➤ *Προσδιορισμός HCV – RNA*

Ποιοτική μέθοδος: Αντίδραση αλυσιδωτής πολυμεράσης (RT-PCR: Amplicor HCV; Roche Diagnostic Systems Inc, Branchburg, NJ, USA).

Ποσοτική μέθοδος:

Amplicor HCV Monitor (Roche Molecular Systems)

b-DNA Assay

➤ *Γονότυπος HCV*

Ο γονότυπος του HCV ελέγχθηκε με μέθοδο Innolipa HCV; Innogenetics, N.V. Zwijwaarde, Belgium).

#### B. HIV λοίμωξη

➤ *Προσδιορισμός HIV αντισωμάτων*

Τα αντισώματα έναντι του HIV ελέγχθηκαν με ανοσοενζυμική μέθοδο (ELISA) (Pasteur Diagnostics και Abbott Laboratories, North Chicago, Ill). Τα θετικά δείγματα επιβεβαιώθηκαν με μέθοδο Western Blot.

➤ *Επίπεδα CD4+ T-λεμφοκυττάρων*

Οι μετρήσεις των T βοηθητικών λεμφοκυττάρων έγιναν με κυτταρομετρία ροής σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή

➤ *Μέτρηση HIV- RNA*

Ανάλογα με την περίοδο μελέτης χρησιμοποιήθηκαν οι κάτωθι μέθοδοι:

- Roche Amplicor Monitor 1.0
- bDNA 1.0, 2.0, και 3.0; Chiron Corporation Emerville, CA, USA)
- Cobas TAQMAN HIV

**Γ. Βιοψίες ήπατος**

Το υλικό των βιοψιών ήπατος εκτιμήθηκε σε μπλοκ παραφίνης με χρώσεις αιματοξυλίνης και ηωσίνης, κολλαγόνο Van Gieson και Gomori χρώση ρετικουλίνης και βασίστηκε στην ταξινόμηση κατά Ishak (Ishak et al. 1995). Η βαρύτητα της νεκροφλεγμονώδους δραστηριότητας χαρακτηρίστηκε σαν ελάχιστη (Histological activity index[HAI] 1-3), ελαφρά χρόνια ηπατίτιδα (HAI 4-7 και μέση χρόνια ηπατίτιδα (HAI 8-12). Το στάδιο της ίνωσης εκτιμήθηκε σε κλίμακα από 0-6 και για την ανάλυση ομαδοποιήθηκε σε 1 (0-2), 2 (3,4) και 3 (5,6).

Τα CD4 στον ηπατικό ιστό προσδιορίστηκαν ανοσοϊστοχημικά και εκτιμήθηκαν ημιποσοτικά και σε αναλογία με το συνολικό πληθυσμό των T λεμφοκυττάρων. Ο κατακερματισμός του DNA ανιχνεύτηκε με τη μέθοδο TUNEL και εκτιμήθηκε αριθμητικά.

#### 4. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ ΜΕΛΕΤΗΣ

Για την περιγραφή των ποιοτικών χαρακτηριστικών της παρούσας μελέτης χρησιμοποιήθηκαν απόλυτες (αριθμός παρατηρήσεων) και σχετικές (εκατοστιαίες αναλογίες) συχνότητες. Η περιγραφή των ποσοτικών χαρακτηριστικών βασίστηκε στον υπολογισμό της διαμέσου και του ενδοτεταρτημοριακού εύρους – ΕΤΕ (interquartile range – IQR). Αναφέρεται ότι η διάμεσος (50<sup>ο</sup> εκατοστημόριο) είναι η τιμή από την οποία το 50% των παρατηρήσεων έχει μικρότερη ή ίση τιμή. Το ενδοτεταρτημοριακό εύρος αντιστοιχεί στο 1<sup>ο</sup> και 3<sup>ο</sup> τεταρτημόριο, τα οποία εκφράζουν τις τιμές από τις οποίες το 25% και 75%, αντίστοιχα, των παρατηρήσεων έχει τιμή μικρότερη ή ίση.

Η στατιστική αξιολόγηση της σχέσης μεταξύ τύπου λοίμωξης (HCV, HCV/HIV) και ποιοτικών χαρακτηριστικών βασίστηκε στην δοκιμασία  $X^2$  του Pearson. Η στατιστική αξιολόγηση της διαφοροποίησης των ποσοτικών χαρακτηριστικών ανάλογα με τύπο λοίμωξης πραγματοποιήθηκε εφαρμόζοντας τον μη παραμετρικό έλεγχο Mann-Whitney.

Διαχρονικές μεταβολές δεικτών εξέλιξης της HCV λοίμωξης (π.χ. διαχρονικές τάσεις ALT), παρουσιάζονται μέσω διαγραμμάτων των διαιρέσεων τιμών του δείκτη σε όλα τα άτομα με μέτρηση σε κάθε χρονική στιγμή. Για τη στατική αξιολόγηση της σχέσης τιμών εκβάσεων (ηπατομεγαλία, ανταπόκριση στη θεραπεία, ηπατοτοξικότητα) με ποιοτικά χαρακτηριστικά, χρησιμοποιήθηκε η δοκιμασία  $\chi^2$  κατά Pearson, ενώ με ποσοτικά χαρακτηριστικά εφαρμόζοντας τον παραμετρικό έλεγχο Man-Whitney. Για τη διερεύνηση ανεξάρτητων προγνωστικών παραγόντων (πολυπαραγοντική ανάλυση) χρησιμοποιήθηκε λογαριθμική (logistic) εξάρτηση.

Για τη διερεύνηση παραγόντων που σχετίζονται με το χρόνο εμφάνισης σοβαρής ηπατοτοξικότητας της αντιρετροϊκής θεραπείας σε άτομα με συλλοίμωξη, χρησιμοποιήθηκαν τα μοντέλα αναλογικών κινδύνων κατά COX (Cox Proportional Hazards Models), ενώ για την εκτίμηση της αθροστικής επίπτωσης εμφάνισης σοβαρής ηπατοτοξικότητας, χρησιμοποιήθηκε καμπύλη επιβίωσης Kaplan-Meier.

Σαν τελικές εκβάσεις θεωρήθηκαν στη μελέτη αυτή, η εμφάνιση του πρώτου επεισοδίου ESLD, οριζόμενο ως το πρώτο επεισόδιο μη αντιρροπούμενης κίρρωσης ή διάγνωση ηπατοκυτταρικού καρκίνου ή θάνατος από ηπατικό αίτιο και του θανάτου χωρίς ESLD, οποιαδήποτε από τις δύο εμφανιστεί πρώτη.

Στην ομάδα των HCV+/HIV+ αιμορροφιλικών, η κλινική εξέλιξη της HCV λοίμωξης μελετήθηκε σε δύο περιόδους με κριτήριο την συστηματική χρήση στη θεραπεία της HIV λοίμωξης της τριπλής αντιρετροϊκής θεραπείας HAART. Η πρώτη περίοδος αφορά το χρόνο από την έναρξη της παρακολούθησης των ασθενών έως 31-12-1996, (περίοδος προ HAART) και η δεύτερη περίοδος εκτείνεται από 1-1-1997, έως το τέλος της παρακολούθησης (31/12/2010) και αφορά τη μετά HAART περίοδο. Η διάκριση αυτή έγινε καθώς η χρήση της HAART άλλαξε δραματικά τα δεδομένα της φυσικής ιστορίας της HIV λοίμωξης και επομένως και την HIV νοσηρότητα και θνητότητα της ομάδας, ενώ επιπλέον στη δεύτερη περίοδο μελετήθηκε αν και με πιο τρόπο η HAART επιδρά στην εξέλιξη της ηπατικής βλάβης των ασθενών με συλλοίμωξη.

Οι δύο κλινικές εκβάσεις (ESLD και θάνατος χωρίς ESLD) λειτουργούν ως ανταγωνιστικές εκβάσεις (η εμφάνιση της μιας έκβασης αποκλείει την εμφάνιση της άλλης). Για τα λόγο αυτό, για την εκτίμηση της επίπτωσης της τελικού σταδίου ηπατικής νόσου (ESLD) και του

θανάτου χωρίς ESLD, χρησιμοποιήθηκε μεθοδολογία ανταγωνιστικών κινδύνων (Bakoyannis G et al 2012). Συγκεκριμένα η εκτίμηση της αθροιστικής επίπτωσης των δυο εκβάσεων, βασίστηκε στον μη παραμετρικό εκτιμητή Aalen-Johansen (Aalen et al 1978). Επισημαίνεται ότι η εφαρμογή των γνωστών Kaplan –Meier καμπυλών επιβίωσης, όταν αναλύονται ανταγωνιστικά συμβάντα, οδηγεί σε εσφαλμένες εκτιμήσεις.

Το ημιπαραμετρικό μοντέλο αναλογικών ανά-αιτία κινδύνων, εφαρμόστηκε για την εκτίμηση της επίδρασης της συλλοίμωξης HCV/HIV και της σταθερής HAART στις επιμέρους εκβάσεις, διορθώνοντας παράλληλα και για δυνητικά συγχυτικούς παράγοντες. Δεδομένου ότι η ανάλυση αφορά τον χρόνο από την HCV ορομετατροπή έως την εμφάνιση κλινικής έκβασης και λαμβάνοντας υπ' όψη ότι η HCV λοίμωξη προηγείται ή συμπίπτει με την HIV λοίμωξη, η συλλοίμωξη με HIV και/ή η θεραπεία με HAART των HIV οροθετικών αιμορροφιλικών, έγινε κατά η διάρκεια του χρόνου παρακολούθησης, διαφοροποιείται δε από άτομο σε άτομο. Για το λόγο αυτό, η συλλοίμωξη HCV/HIV και η έναρξη σταθερής HAART χρησιμοποιήθηκαν στα μοντέλα σαν χρονικά μεταβαλλόμενες συμμεταβλητές. Η ανάλυση ορόσημων (landmark analysis) για διάφορα χρονικά σημεία, εφαρμόστηκε για την γραφική απεικόνιση της επίδρασης του χρονικά μεταβαλλόμενου (time-dependent) τύπου λοίμωξης (HCV μονολοίμωξης ή συλλοίμωξης) στην αθροιστική επίπτωση των δυο εκβάσεων (Cortese G et al, 2009). Η ταυτόχρονη ανάλυση και των δυο εκβάσεων κρίθηκε σκόπιμη για την καλύτερη κατανόηση των υπό μελέτη δεδομένων (Beyersmann et al, 2007).

## 5. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

### 5.1. Χαρακτηριστικά ασθενών μελέτης

Στην μελέτη εντάχθηκαν αρχικά 348 ασθενείς με θετικά αντισώματα έναντι του HCV στους οποίους υπήρχαν στοιχεία παρακολούθησης και στοιχεία για τη θεραπεία υποκατάστασης. Οι 158 από αυτούς ήταν ήδη γνωστό ότι μεταξύ 1981 και 1986 είχαν μολυνθεί με τον HIV και αποτελούσαν την Ελληνική κοόρτη των HIV θετικών Αιμορροφιλικών. Από τους 190 ασθενείς με μόνο HCV λοίμωξη στους 26 διαπιστώθηκε αρνητικό HCV – RNA σε δύο διαφορετικές μετρήσεις με απόσταση 6 μηνών και επομένως δεν εντάχθηκαν στη διαχρονική μελέτη των ασθενών με χρόνια ηπατίτιδα. Στην ομάδα των ασθενών με συλλοίμωξη προστέθηκαν δύο ασθενείς, οι οποίοι εντάχθηκαν στο κέντρο με την ενηλικίωσή τους και οι οποίοι είχαν γνωστές ημερομηνίες ορομετατροπής και για τις δύο λοιμώξεις. Στην τελική ανάλυση περιελήφθησαν 324 ασθενείς από τους οποίους 164 (50,62%) με μόνο HCV λοίμωξη και 160 (49,38%) με HCV/ HIV συλλοίμωξη. Τα βασικά χαρακτηριστικά των ασθενών καθώς και οι διαφορές μεταξύ των δύο ομάδων, φαίνονται στον Πίνακα 1.

Όσον αφορά την αιμορραγική διάθεση, οι 275 (84,87%) είχαν Αιμορροφιλία Α, οι 38 (11,73%) Αιμορροφιλία Β και οι 11 (3,40%) νόσο von Willebrand. Οι 313 ασθενείς με αιμορροφιλία Α ή Β βαριά νόσο είχαν 193 (60,7%), μέση 58(16,3%) και ήπια 62 (23%).

Η ορομετατροπή της ηπατίτιδας C εντοπίστηκε πριν το 1975 σε 53 (16,4%) ασθενείς, 128 (39,5%) μολύνθηκαν μεταξύ 1975 και 1979 και οι 143 (44,1%) από το 1980 έως τον Αύγουστο 1986 οπότε και εισήχθησαν τα αδρανοποιημένα σκευάσματα των παραγόντων πήξης.



Η διάμεση ηλικία των ασθενών κατά την HCV ορομετατροπή ήταν 17.0 έτη, (IQR: 6.7, 29.3), αποδεικνύοντας ότι οι αιμορροφιλικοί ασθενείς έχουν μολυνθεί με τον ιό της ηπατίτιδας C σε σχετικά νεαρή ηλικία. Σε όλους τους ασθενείς με συλλοίμωξη η λοίμωξη με τον HCV προηγήθηκε ή συνέπεσε με την HIV λοίμωξη. Συγκεκριμένα σε 118 (73,8%) προηγήθηκε η HCV λοίμωξη ενώ στους υπόλοιπους 42 (26,2%) η ορομετατροπή των δύο λοιμώξεων συνέπεσε. Ο διάμεσος χρόνος από την HCV ως την HIV λοίμωξη ήταν 3,8 έτη (IQR: 0,0, 6,8). Η συνολική διάμεση παρακολούθηση των ασθενών της μελέτης ήταν 23,7 (IQR 16,1, 30,5) έτη με συνολικό χρόνο από την λοίμωξη 7648,6 ανθρωπο-ετη (4531,2 για τους HCV+/HIV- και 3087,4 για τους HCV+/HIV+ ασθενείς) .

Επειδή η HCV λοίμωξη προήλθε από σκευάσματα φαρμακευτικών εταιριών των οποίων η πηγή πλάσματος προερχόταν από συγκεκριμένες χώρες, στην κατανομή των γονοτύπων προεξάρχει ο γονότυπος 1, ο οποίος ανιχνεύθηκε στο 71,3% των ασθενών. Ακολουθεί ο γονότυπος 3 στο 16,3% των ασθενών, ενώ σε μικρό αριθμό ασθενών βρέθηκαν οι υπόλοιποι γονότυποι. Σε λίγους HIV θετικούς ασθενείς διαπιστώθηκαν συνδυασμοί διαφορετικών γονοτύπων που αντανακλούν επανειλημμένες εκθέσεις του ασθενή στον HCV, από χρήση διαφορετικών σκευασμάτων παραγόντων πήξης.

Οι δύο ομάδες των ασθενών διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους στην χρονολογία της HCV λοίμωξης – οι ασθενείς που μολύνθηκαν νωρίτερα με ηπατίτιδα C φαίνεται ότι έχουν συλλοίμωξη σε μεγαλύτερη συχνότητα, ενώ αντίθετα μεγαλύτερο ποσοστό ασθενών που μολύνθηκε με HCV μετά το 1980, έχει μόνο HCV λοίμωξη. Τέλος οι ασθενείς με συλλοίμωξη έχουν μεγαλύτερη διάμεση ηλικία κατά την HCV ορομετατροπή (14.4 έναντι 19.0,  $p<0.001$ ).

Η συχνότητα ηπατίτιδας Β καθοριζόμενη από θετικό HBsAg ήταν πολύ χαμηλή και στις δύο ομάδες των ασθενών και δεν αναλύθηκε σαν παράγοντας επιβάρυνσης της χρόνιας ηπατίτιδας C.

*Αντι –HCV θεραπεία:* Συνολικά 89 ασθενείς (27,5) έλαβαν θεραπεία για την ηπατίτιδα C κατά τη διάρκεια της μελέτης από τους οποίους 69 (42,1%) είχαν μόνο HCV λοίμωξη ενώ 20 (12,5%) είχαν και λοίμωξη με τον HIV. Μονοθεραπεία με ιντερφερόνη Α καθώς και συνδυασμός της με ριμπαβιρίνη χρησιμοποιήθηκαν έως το 2000, ενώ στη συνέχεια το σχήμα θεραπείας περιελάμβανε πεγκυλιωμένη ιντερφερόνη και ριμπαβιρίνη.

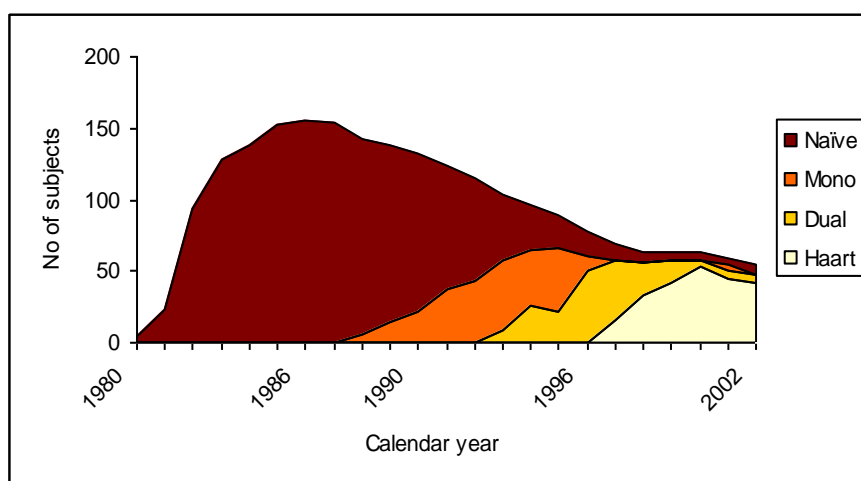
*Αντι – HIV θεραπεία:* Η αντιρετροϊκή θεραπεία για τους ασθενείς με HIV λοίμωξη χορηγήθηκε αρχικά τον Απρίλιο του 1987 σαν μονοθεραπεία με AZT. Διπλή αγωγή με δύο νουκλεοσιδικά ανάλογα (NRTI) άρχισε το 1995 και η τριπλή εντατικοποιημένη θεραπεία HAART άρχισε να χρησιμοποιείται τον Οκτώβριο του 1996 περιλαμβάνοντας 2 NRTIs και ένα αναστολέα πρωτεάσης (PI) ή NNRTI. Μετά το 2005 όλοι HIV + ασθενείς βρίσκονται υπό HAART. (Γράφημα 1). Συνολικά από τους 160 ασθενείς με HIV λοίμωξη, οι 95 (59,4%) δεν έλαβαν ποτέ τριπλή αντιρετροϊκή θεραπεία., ενώ οι υπόλοιποι ξεκίνησαν σταθερό σχήμα HAART, για χρόνο ίσο ή μεγαλύτερο των 3 μηνών, 15 χρόνια μετά την ορομετατροπή. (Πίνακας 2).

**Πίνακας 1.** Βασικά χαρακτηριστικά των ασθενών

|  | <b>Σύνολο</b>     | <b>HCV+/HIV-</b>  | <b>HCV+/HIV+</b>  | <b>p</b> |
|--|-------------------|-------------------|-------------------|----------|
|  | N(%)              | N(%)              | N(%)              |          |
|  | 324 (100)         | 164 (50,7)        | 160 (49,3)        |          |
| <b>Φύλο</b>                                |                   |                   |                   |          |
| <i>Άνδρες</i>                              | 321 (99)          | 161 (98)          | 160 (100)         | 0.217    |
| <i>Γυναίκες</i>                            | 3(1)              | 3(2)              | 0                 |          |
| <b>Αιμορραγική διάθεση</b>                 |                   |                   |                   |          |
| <i>Αιμορροφιλία Α</i>                      | 275 (84,87)       | 128 (46,5)        | 147 (53,4)        | <0.001   |
| <i>Αιμορροφιλία Β</i>                      | 38 (11,73)        | 29 (76,3)         | 9 (23,6)          |          |
| <i>Νόσος von Willebrand</i>                | 11 (3,40)         | 7 (63,6)          | 4 (36,4)          |          |
| <b>Βαρύτητα νόσου</b>                      |                   |                   |                   | <0,001   |
| <i>Βαριά</i>                               | 193(60,7)         | 70 (36,27)        | 123(63,73)        |          |
| <i>Μέση</i>                                | 58 (16,3)         | 38(65,5)          | 20(34,5)          |          |
| <i>Ήπια</i>                                | 62 (23)           | 49(79)            | 13 (21)           |          |
| <b>Ημερολογιακό έτος HCV ορομετατροπής</b> |                   |                   |                   | <0.001   |
| <i>&lt;1975</i>                            | 53 (16,4)         | 31 (18,9)         | 22 (13,8)         |          |
| <i>1975-1979</i>                           | 128 (39,5)        | 47 (28,7)         | 81 (50,6)         |          |
| <i>1980+</i>                               | 143 (44,1)        | 86 (52,4)         | 57 (35,6)         |          |
| <b>Γονότυπος HCV</b>                       |                   |                   |                   | 0.192    |
| <i>1</i>                                   | 159 (71,3)        | 65 (69,1)         | 94 (72,9)         |          |
| <i>2</i>                                   | 14 (6,3)          | 4 (4,3)           | 10 (7,8)          |          |
| <i>3</i>                                   | 36 (16,1)         | 21 (22,3)         | 15 (11,6)         |          |
| <i>4</i>                                   | 9 (4,0)           | 2 (2,1)           | 7 (5,4)           |          |
| <i>5</i>                                   | 3 (1,3)           | 2 (2,1)           | 1 (0,8)           |          |
| <i>1/4</i>                                 | 1 (0,4)           | 0 (0,0)           | 1 (0,8)           |          |
| <i>2/3</i>                                 | 1 (0,4)           | 0 (0,0)           | 1 (0,8)           |          |
| <b>Λήψη θεραπείας για HCV</b>              |                   |                   |                   | <0.001   |
| <i>Όχι</i>                                 | 235 (72,5)        | 95 (57,9)         | 140 (87,5)        |          |
| <i>Ναι</i>                                 | 89 (27,5)         | 69 (42,1)         | 20 (12,5)         |          |
| <b>HBsAg</b>                               |                   |                   |                   | 0.604    |
| <i>Αρνητικό</i>                            | 309 (95,4)        | 159 (97)          | 152 (95)          |          |
| <i>Θετικό</i>                              | 15 (4,6)          | 7 (3)             | 8 (5)             |          |
|  | Διάμεση (IQR)     | Διάμεση (IQR)     | Διάμεση (IQR)     |          |
| <b>Αρχικά επίπεδα AST (IU/L)</b>           | 36,0 (26,0, 52,0) | 32,0 (23,0, 43,0) | 51,5 (33,5, 77,0) | <0.001   |
| <b>Έτη από HCV έως HIV ορομετατροπή</b>    | 3,8 (0,0, 6,8)    |                   | 3,8 (0,0, 6,8)    |          |

**Πίνακας 2.** Χαρακτηριστικά ασθενών με HCV/HIV συλλοίμωξη.

|   | N (%)                |
|---|----------------------|
| <b>Τύπος HAART</b>  |                      |
| Όχι HAART   | 95 (59.4)            |
| 2 NRTIs + PI  | 51 (31.3)            |
| 2NRTIs +NNRTI   | 11 (6.9)             |
| 3NRTIs  | 3 (1.9)              |
| <b>Διάμεση (IQR)</b>  |                      |
| <b>Έτη από HIV ορομετατροπή ως την 1<sup>η</sup> έναρξη HAART</b> | 15,0 (14,2, 16,2)    |
| <b>Αρχικά CD4 (cells/μl)</b>                                      | 510,0 (274,0, 747,0) |
| <b>Ναδίρ CD4 (cells/μl)</b>                                       | 48,0 (9,0, 138,0)    |
| <b>CD4 κατά την έναρξη HAART (cells/μl)</b>                       | 160,5 (69,5, 286,0)  |
| <b>Αρχικό HIV-RNA (log10 copies/ml)</b>                           | 4,3 (3,7, 4,8)       |
| <b>HIV-RNA κατά την έναρξη HAART (log10 copies/ml)</b>            | 3,9 (3,6, 4,4)       |



**Γράφημα 1.** Αριθμός ασθενών σε διάφορα σχήματα ART στην εξέλιξη του χρόνου.

## **5.2. Οξεία ηπατίτιδα C**

Σε 48 από τους 348 ασθενείς (13,8%) με HCV αντισώματα μελέτης, η λοίμωξη εμφανίστηκε ως οξεία ικτερική μη-A, μη-B ηπατίτιδα, ενώ στους υπόλοιπους η οξεία λοίμωξη ήταν ασυμπτωματική. Οι ασθενείς με διάγνωση οξείας μη-A, μη-B ηπατίτιδας, όλοι βρέθηκαν θετικοί κατά τον αναδρομικό έλεγχο δειγμάτων για αντι-HCV αντισώματα ενώ από τους ασυμπτωματικούς ασθενείς, 92,9% βρέθηκαν θετικοί για αντι-HCV αντισώματα. Μεταξύ των 190 ασθενών με μόνο HCV λοίμωξη 26 εμφάνισαν κάθαρση του ιού, όπως φάνηκε από τη μέτρηση των επιπέδων του HCV- RNA.

## **5.3 Χρόνια ηπατίτιδα C**

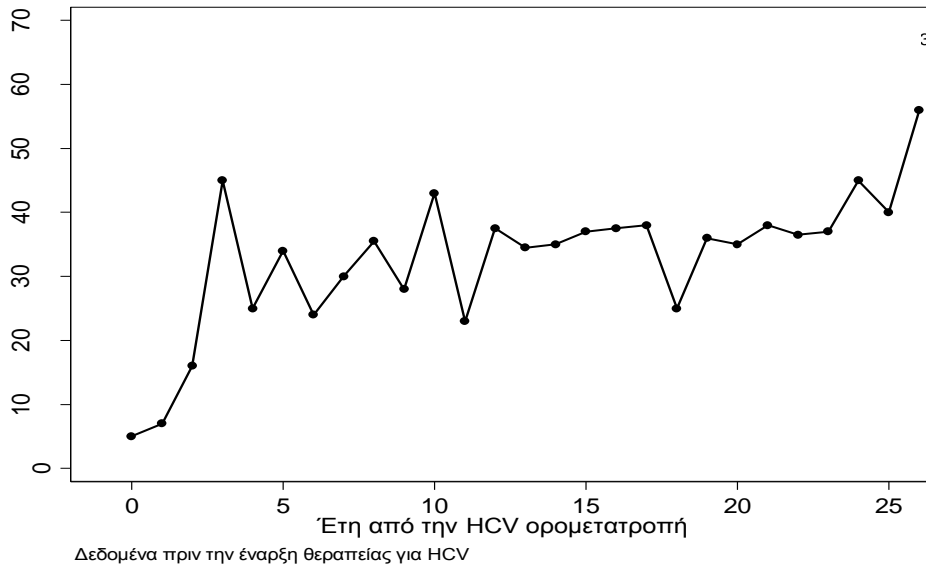
Συνολικά 324 ασθενείς με χρόνια HCV λοίμωξη, 164 με μόνο HCV λοίμωξη και 160 με συλλοίμωξη εντάχθηκαν στη μελέτη της διαχρονικής παρακολούθησης.

### **5.3.1. Επίπεδα ALT Διαχρονικά**

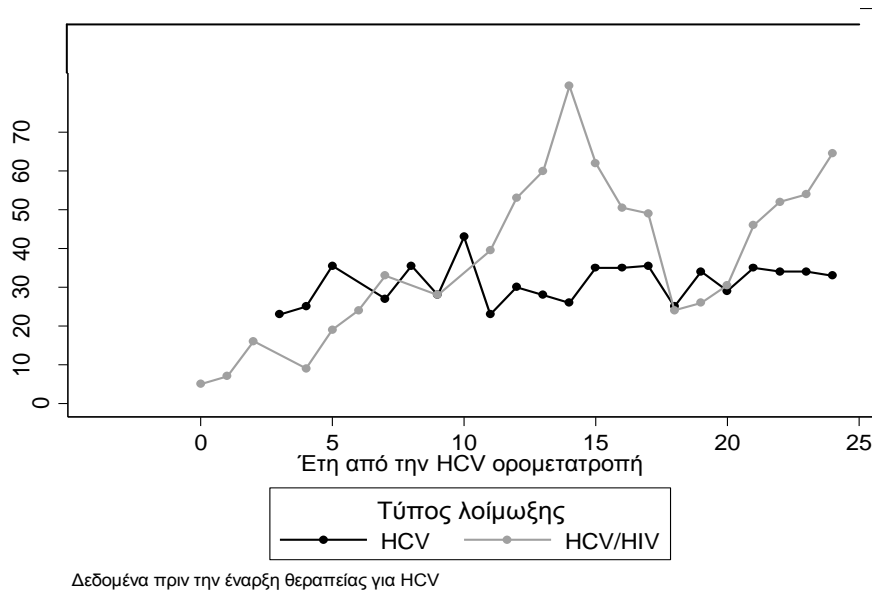
Μετά την HCV ορομετατροπή τρεις μορφές αύξησης τρανσαμινασών διαπιστώθηκαν: α) σταθερά αυξημένες τρανσαμινάσες (>45 U/L) για πάνω από 6 μήνες β) παθολογικές τιμές για περισσότερες από μία φορές που όμως δεν διαρκούσαν για πάνω από 6 μήνες και γ) φυσιολογικά επίπεδα τρανσαμινασών.

40 ασθενείς (12,2%) παρουσίαζαν σταθερά τιμές τρανσαμινασών πάνω από τις φυσιολογικές τιμές, 200 (61,8%) περιοδική αύξηση και 84 (26%) φυσιολογικά επίπεδα τρανσαμινασών. Στο γράφημα 2 παρουσιάζονται οι διάμεσες τιμές της ALT διαχρονικά από την HCV ορομετατροπή σε όλους τους ασθενείς μέχρι την έναρξη της HCV θεραπείας, ενώ στο γράφημα 3 παρουσιάζονται οι διαφορές μεταξύ των

δύο ομάδων των HCV+/HIV- και HCV+/HIV+. Η αύξηση που παρατηρείται στη δεύτερη ομάδα 15 περίπου χρόνια από την HCV ορομετατροπή συμπίπτει με την έναρξη της HAART. (βλ. ηπατοτοξικότητα μετά χορήγηση HAART)



**Γράφημα 2 .** Επίπεδα ALT από την HCV ορομετατροπή



**Γράφημα 3.** Επίπεδα ALT από την HCV ορομετατροπή, ανάλογα με τον τύπο λοίμωξης.

### 5.3.2 Εκτίμηση Ηπατομεγαλίας

Ηπατομεγαλία διαπιστώθηκε στο 22,5% των ασθενών. Μεγαλύτερη συχνότητα διαπιστώθηκε στους ασθενείς με συλλοίμωξη, 48 (30%) έναντι 10 (6%) των HIV αρνητικών, ( $p=0.0011$ ) και στους ασθενείς με μόνιμη αύξηση τρανσαμινασών: 32,% έναντι 26% και 10,7% εκείνων με παροδική αύξηση και με φυσιολογικές τιμές αντίστοιχα. Επίσης από τους HCV+/HIV+ ασθενείς οι ευρισκόμενοι σε στάδιο C HIV λοίμωξης είχαν ηπατομεγαλία σε ποσοστό 43,3% έναντι 25% των ασυμπτωματικών και των ασθενών σταδίου B HIV λοίμωξης. Η πολυπαραγοντική ανάλυση για διερεύνηση πιθανών παραγόντων που σχετίζονται με ηπατομεγαλία, ανέδειξε τη συνύπαρξη HIV λοίμωξης σαν τον πιο σημαντικό παράγοντα για ηπατομεγαλία ( $OR=7.2$ , 95% CI 2.0-22.3,  $p=0.0006$ ) (Πίνακας 3).

**Πίνακας 3.** Συχνότητα ηπατομεγαλίας ανάλογα με τα χαρακτηριστικά των ασθενών

|                     | <b>N</b>  | <b>Ηπατομεγαλία</b> | <b>P</b> |
|---------------------|-----------|---------------------|----------|
| HIV λοίμωξη         |           |                     |          |
| Όχι                 | 164       | 10 (6,01%)          | 0.0011   |
| ναι                 | 160       | 48 (30%)            |          |
| <b>HIV στάδιο</b>   |           |                     |          |
| A,B                 | 128       | 32 (25%)            | 0.093    |
| C                   | 30        | 13 (43,3%)          |          |
| <b>Επίπεδα ALT</b>  |           |                     |          |
| Φυσιολογικά         | 84        | 9 (10.71%)          | 0.048    |
| Παροδική αύξηση     | 200       | 52 (26%)            |          |
| Μόνιμη αύξηση       | 40        | 13 (32,5%)          |          |
|                     | <b>OR</b> | <b>95% CI</b>       | <b>P</b> |
| <b>HIV λοίμωξη</b>  | 7,2       | 2,0-22,3            | 0.0006   |
| <b>Αύξηση ALT</b>   |           |                     |          |
| Παροδική έναντι όχι | 2,8       | 1,0-8,0             | 0.050    |
| Μόμιμη έναντι όχι   | 3,8       | 1,0-14,7            | 0.050    |

### **5.3.3. Ηπατική νοσηρότητα**

Συνολικά 34 ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C ανέπτυξαν ESLD, ενώ 22 από τους ασθενείς που ανέπτυξαν ESLD ήταν ασθενείς με συλλοίμωξη, με τη διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων να είναι οριακά στατιστικά σημαντική ( $P=0.059$ ). Ο διάμεσος χρόνος εμφάνισης του επεισοδίου ήταν 23,7 (16,1,30,5) έτη από την HCV ορομετατροπή.

Η εμφάνιση μη αντιρροπούμενης κίρρωσης, ήταν το πιο συχνό πρώτο σύμβαμα (61,8%, 50% στους ασθενείς με μόνο HCV λοίμωξη και 68.2% σε εκείνους με συλλοίμωξη) (Πίνακας 4).

Αναλυτικά από τους 21 ασθενείς με πρώτο επεισόδιο μη αντιρροπούμενης κίρρωσης ασκίτη εμφάνισαν 8, κίρσους οισοφάγου 5, ίκτερο και εξέλιξη προς βαριά ηπατική ανεπάρκεια 6 και 2 ηπατική εγκεφαλοπάθεια.

Οι σχετιζόμενοι με το ήπαρ θάνατοι σαν πρώτο συμβάν (31,8%), παρατηρήθηκαν αποκλειστικά στην ομάδα των ασθενών με συλλοίμωξη την χρονική περίοδο πριν το 1996. Και οι 7 θάνατοι που συνέβησαν στην ομάδα των ασθενών με συλλοίμωξη συνέβησαν 1-5 ημέρες μετά οξεία ανάπτυξη σοβαρού ικτέρου και συμπτωματολογίας βαριάς ηπατικής ανεπάρκειας την περίοδο 1986-1991.

Αντίθετα όλα τα περιστασιακά ΗΚΚ διαγνώστηκαν στην ομάδα των HCV+/HIV- αιμορροφιλικών, σαν πρώτο επεισόδιο εμφάνισης ESLD και αποτελούσαν το 50% των συμβαμάτων της ομάδας αυτής.



#### **5.3.4. Θνησιμότητα**

Συνολικά εκατόν τριάντα τέσσερις ασθενείς (41,4%) πέθαναν κατά τη διάρκεια της μελέτης. Στους 61 (45,5%) οι αιτίες θανάτου σχετίζονταν με το AIDS. 22 (16,4%) ασθενείς απεβίωσαν από αιτία σχετιζόμενη με το ήπαρ από τους οποίους 6 (3,7%) ήταν HCV+/HIV- και 51 (38,06%) από άλλο αίτιο από τους οποίους οι 18 (11%) μεταξύ των HIV αρνητικών.

Χρονολογικά την περίοδο από την έναρξη της παρακολούθησης έως 31-12-1996 (προ HAART περίοδος) απεβίωσαν 80 άτομα από τα οποία 79 είχαν HIV λοίμωξη. Σχετιζόμενοι με το AIDS ήταν 56 θάνατοι ενώ σχετιζόμενοι με το ήπαρ ήταν 7 θάνατοι στους HIV+ ασθενείς και σε έναν HIV αρνητικό ασθενή που απεβίωσε από ΗΚΚ.

Μεταξύ των ετών 1996-2003 με την είσοδο της HAART υπήρξε δραματική πτώση των επεισοδίων AIDS (μέσος ρυθμός ανάπτυξης AIDS 15.0 vs 41.4 την προ και μετά HAART περίοδο αντίστοιχα). Αντίθετα αυξήθηκε η συχνότητα των μη AIDS θανάτων. Από τους συνολικά 10 μη AIDS θανάτους που συνέβησαν στην περίοδο αυτή οι 4 οφείλονταν σε ESLD.

Τα κλινικά συμβάντα ανά τύπο λοίμωξης και οι θάνατοι παρουσιάζονται στον πίνακα 4.

**Πίνακας 4.** Κλινικά συμβάντα κατά τη διάρκεια της παρακολούθησης ανά ομάδα ασθενών

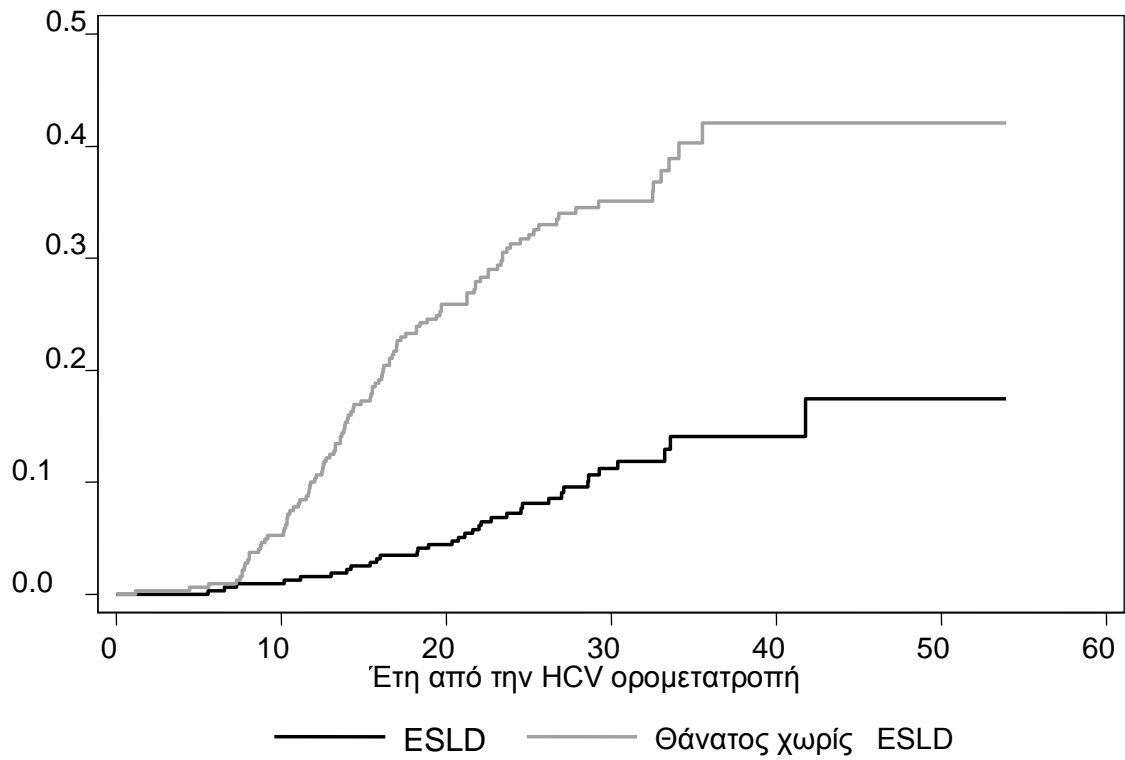
|                                    | Τύπος λοίμωξης |            | Σύνολο     | p      |
|------------------------------------|----------------|------------|------------|--------|
|                                    | HCV            | HCV/HIV    |            |        |
|                                    | N (%)          | N (%)      |            |        |
| <b>Συμβάντα ESLD</b>               |                |            |            | 0.059  |
| <i>Όχι</i>                         | 152 (92.7)     | 138 (86.3) | 290 (89.5) |        |
| <i>Ναι</i>                         | 12 (7.3)       | 22 (13.8)  | 34 (10.5)  |        |
| <b>Τύπος συμβάντος</b>             |                |            |            |        |
| <i>Όχι επεισόδιο</i>               | 152 (92.7)     | 138 (86.3) | 290 (89.5) | 0.001  |
| <i>Μη αντιρροπούμενη κίρρωση</i>   | 6 (3.7)        | 15 (9.4)   | 21 (6.5)   |        |
| <i>ΗΚΚ</i>                         | 6 (3.7)        | 0 (0.0)    | 6 (1.9)    |        |
| <i>Θάνατος από ηπατικό αίτιο</i>   | 0 (0.0)        | 7 (4.4)    | 7 (2.2)    |        |
| <b>Θάνατος</b>                     |                |            |            | <0.001 |
| <i>Ζωντες</i>                      | 140 (85.4)     | 50 (31.3)  | 190 (58.6) |        |
| <i>Σχετιζόμενος με ήπαρ</i>        | 6 (3.7)        | 16 (10.0)  | 22 (6.8)   |        |
| <i>Άλλο</i>                        | 18 (11.0)      | 33 (20.6)  | 51 (15.7)  |        |
| <i>Σχετιζόμενος με HIV λοίμωξη</i> | 0 (0.0)        | 61 (38.1)  | 61 (18.8)  |        |

### ***5.3.5. Εξέλιξη σε ESLD και θάνατο χωρίς ESLD***

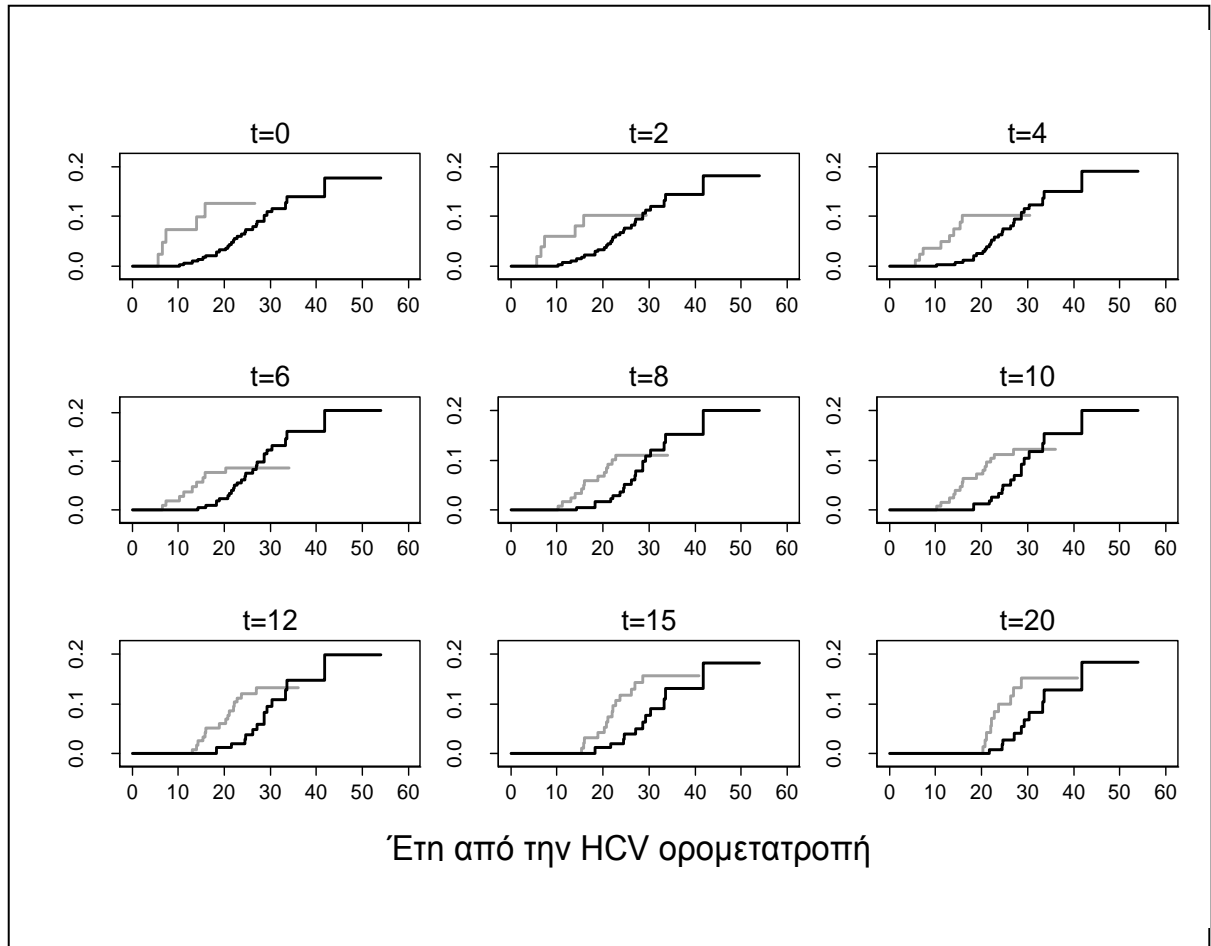
Η εκτιμώμενη αρθροιστική επίπτωση (95% CI) εμφάνισης ESLD σε 10, 15, 20 και 30 χρόνια μετά την HCV λοίμωξη ήταν 0.9% (0.3%, 2.5%), 2.5% (1.2%, 4.7%), 4.4% (2.5%, 7.1%) και 11.8% (4.2%, 15.8%) αντίστοιχα. (Γράφημα 4). Η αρθροιστική συχνότητα ESLD ήταν υψηλότερη στους HCV+/HIV+ ασθενείς σε σχέση με τους HCV+/HIV- ανεξάρτητα από τα έτη που έχουν περάσει από την HCV ορομετατροπή (Γράφημα 5). Στα 20 χρόνια η επίπτωση για τους HIV αρνητικούς ασθενείς είναι 1.29% vs 8,12% για τους ασθενείς με συλλοίμωξη ενώ στα 30 χρόνια οι τιμές είναι 7,64% vs 14,61% αντίστοιχα.

Η εκτιμώμενη αρθροιστική επίπτωση (95% CI) θανάτου χωρίς προηγούμενο επεισόδιο ESLD σε 10, 15 και 20 χρόνια μετά την HCV ορομετατροπή ήταν 5.3% (3.2%, 8.1%), 17.3% (13.3%, 21.6%) και 25.9% (21.2%, 30.8%), αντίστοιχα. Η αρθροιστική επίπτωση ήταν υψηλότερη στους HCV+/HIV+ και αντανακλά τους θανάτους από αίτια σχετιζόμενα με το AIDS. (Γράφημα 6).

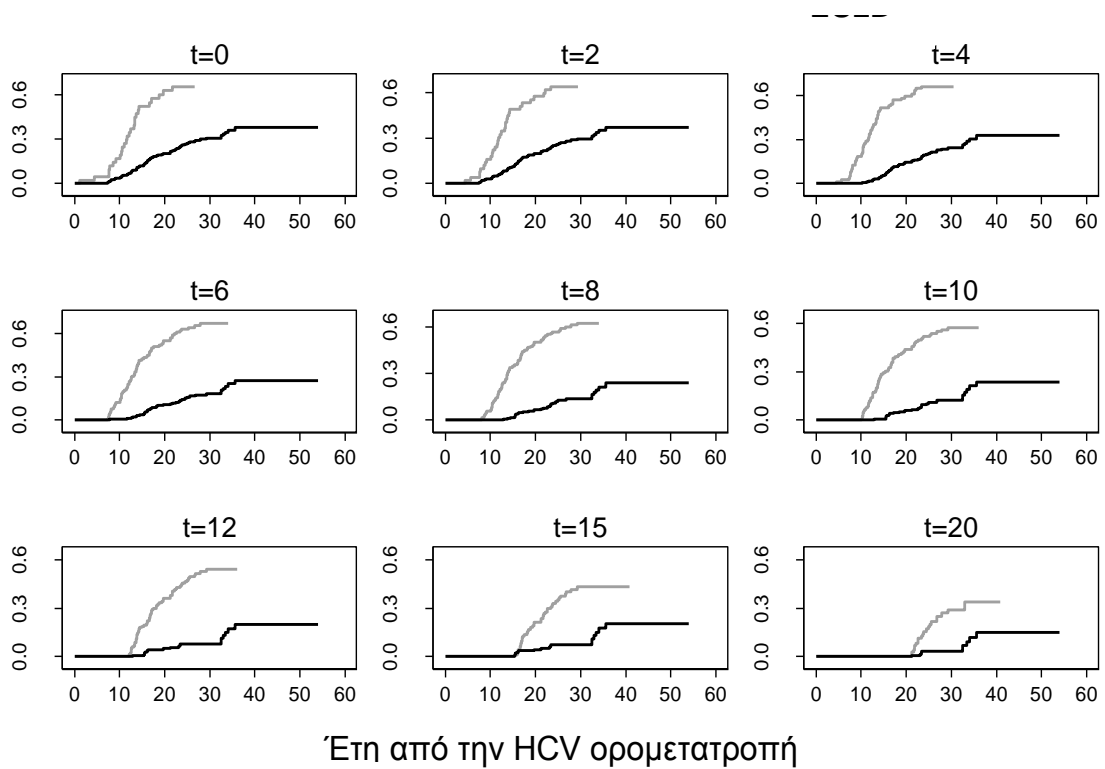
**Γράφημα 4.** Αθροιστική επίπτωση σοβαρού συμβάματος σχετιζόμενου με το ήπαρ και θανάτου.



**Γράφημα 5.** Αθροιστική επίπτωση ESLD, ανάλογα με τον τύπο λοίμωξης (HCV: μαύρες γραμμές, HCV/HIV: γκρι γραμμές). Απο τελέσματα από ανάλυση ορόσημων (landmark analysis).



**Γράφημα 6.** Αθροιστική επίπτωση θανάτου χωρίς ESLD, ανάλογα με τον τύπο λοίμωξης (HCV: μαύρες γραμμές, HCV/HIV: γκρι γραμμές). Αποτελέσματα από ανάλυση ορόσημων (landmark analysis)



\*

## **5.4. Διευρέυνση της επίδρασης της HIV λοίμωξης στην εξέλιξη της HCV λοίμωξης**

### **5.4.1. Ιστολογική μελέτη ήπατος στους ασθενείς με HCV/HIV λοίμωξη. Η επίδραση της ανοσοκαταστολής**

Στην ομάδα των αιμορροφιλικών με συλλοίμωξη έγινε διερεύνηση της βαρύτητας της ηπατικής βλάβης ιστολογικά, καθώς και του αποπτωτικού θανάτου των ηπατοκυττάρων. Τα ιστολογικά ευρήματα συσχετίστηκαν με την ανοσολογική κατάσταση των ασθενών και τα επίπεδα της HCV και HIV ιαμίας, ώστε να διαπιστωθούν πιθανές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των δύο ιών που να οδηγούν σε ταχύτερη εξέλιξη της HCV λοίμωξης.

Είκοσι έξι από τους 80 ασθενείς που το 1995 ήταν ζώντες, δέχθηκαν να υποβληθούν σε διαδερμική βιοψία ήπατος

Η διάμεση ηλικία των ασθενών ήταν 35 έτη (IQR: 23-47). Σ' αυτή τη χρονική περίοδο 12 ασθενείς (57,1%) ήταν σε HIV στάδιο A , 6 (28,6%) B και 3 (14,3%) C. Ο διάμεσος χρόνος από την HCV ορομετατροπή κατά τον χρόνο της βιοψίας ήταν 21.5 (IQR: 6-27) έτη και από την HIV ορομετατροπή 12 (6-15) έτη. Όλοι οι ασθενείς έπαιρναν αντι HIV θεραπεία με ένα ή δύο αντιρετροϊκά φάρμακα και κανείς δεν είχε πάρει HAART, ή αντι-HCV θεραπεία. Δεν εντάχθηκαν στην τελική ανάλυση 5 ασθενείς λόγω ανεπαρκούς βιοψικού υλικού. Συνολικά αναλύθηκαν 21 βιοψίες.

Η ιστολογική εκτίμηση απέδειξε ελάχιστη ηπατίτιδα σε 5 ασθενείς (24%), ελαφρά σε 10 (48% και μέση σε 6 (28%). Όσον αφορά την ίνωση καθόλου ή ήπια ίνωση διαπιστώθηκε σε 7 (33%) ασθενείς, ενώ αρχόμενη ή εγκατεστημένη κίρρωση διαπιστώθηκε σε 6 ασθενείς (29%). Τα

χαρακτηριστικά των ασθενών στον χρόνο της βιοψίας φαίνονται στον Πίνακα 5.

Διαπιστώθηκε τάση για το HCV-RNA να είναι υψηλότερο στους ασθενείς με χαμηλότερα CD4 λεμφοκύτταρα, το εύρημα αυτό όμως δεν ήταν στατιστικά σημαντικό ( $p=0.16$ ). Ο έλεγχος της απόπτωσης των ηπατοκυττάρων έγινε με ανίχνευση του κατακερματισμού του DNA σε 15 από τις 21 βιοψίες και εκτιμήθηκε αριθμητικά. Κατακερματισμός παρατηρήθηκε σε 0-1 ηπατοκύτταρα σε 8 περιπτώσεις (53%), 2-4 σε 4 (27%) και  $\geq 5$  σε 3 (20%).

**Πίνακας 5.** Χαρακτηριστικά των ασθενών κατά το χρόνο της ηπατικής βιοψίας

|                         | N  | %    |
|-------------------------|----|------|
| Στάδιο HIV              |    |      |
| – A                     | 12 | 57,1 |
| – B                     | 6  | 28,6 |
| – C                     | 3  | 14,3 |
| CD4 (κύτταρα / $\mu$ L) |    |      |
| – <50                   | 3  | 14,3 |
| – 50-200                | 11 | 52,4 |
| – >200                  | 7  | 33,3 |
| Γονότυπος HCV           |    |      |
| – 1                     | 13 | 61,9 |
| – όχι 1                 | 8  | 38,1 |
| Βαθμός ηπατίτιδας       |    |      |
| – Ελάχιστη              | 5  | 24   |
| – Ήπια                  | 10 | 48   |
| – Μέτρια                | 6  | 28   |
| Στάδιο ίνωσης           |    |      |
| – 0-2                   | 7  | 33,3 |
| – 3-4                   | 8  | 38,1 |
| – 5-6                   | 6  | 28,6 |



| Βαθμός ηπατίτιδας   |                  |                  |                  |       |
|---|------------------|------------------|------------------|-------|
| Χαρακτηριστικά  | Ελάχιστη (%)     | Ελαφρά (%)       | Μέση (%)         | P     |
| HIV στάδιο  |                  |                  |                  | 0.003 |
| A   | 0                | 8 (66,7)         | 4 (33,3)         |       |
| B   | 4 (66.7)         | 2 (33.3)         | 0                |       |
| C   | 1 (33.3)         | 0                | 2 (66.7)         |       |
| CD4(κύτταρα/μL)   |                  |                  |                  | 0.033 |
| ≤50   | 3 (100)          | 0                | 0                |       |
| 50-200  | 2 (18.2)         | 5 (45.4)         | 4(36.4)          |       |
| > 200   | 0                | 5 (71.4)         | 2 (28.6)         |       |
| HCV γονότυπος   |                  |                  |                  | 0.368 |
| 1   | 2 (15.4)         | 6 (46.2)         | 5 (38.5)         |       |
| Άλλο  | 3 (37.5)         | 4 (50.0)         | 1 (12.5)         |       |
|   | Διάμεση (IQR)    | Διάμεση (IQR)    | Διάμεση (IQR)    | P     |
| Ηλικία στη βιοψία (έτη)   | 33 (25-41)       | 37 (28-50)       | 38 (29-44)       | 0.666 |
| Χρόνος από HCV SC (έτη)   | 23 (10-25)       | 21 (10-26)       | 22 (8-28)        | 0.678 |
| Χρόνος από HIV SC (έτη)   | 12 (7-14)        | 12 (6-18)        | 12 (7-14)        | 0.572 |
| HCV-RNA log <sup>10</sup> (equin mL <sup>-1</sup> )               | 7.87 (6,96-7,80) | 6.76 (5,93-7,57) | 6.77 (6,1-7,44)  | 0.372 |
| HIV-RNA log <sup>10</sup> <sub>1</sub> (copies mL <sup>-1</sup> ) | 3.76 (3,0-5,2)   | 3.46 (2,80-5,72) | 3.63 (3,82-4,88) | 0.860 |
| SC: ορομετατροπή  |                  |                  |                  |       |

**Πίνακας 6.** Συσχέτιση του βαθμού ηπατίτιδας με τα χαρακτηριστικά των ασθενών στη βιοψία

Ο βαθμός της ηπατίτιδας συσχετίστηκε σημαντικά με το στάδιο της HIV λοίμωξης και την ανοσοκαταστολή. Ηπατίτιδα ελαχίστων αλλοιώσεων διαπιστώθηκε μόνο στους ασθενείς σε HIV στάδιο Β και C, ενώ 80% των ασθενών με ελαφρά ηπατίτιδα και 67% εκείνων με μέση ήταν σε ασυμπτωματικό HIV στάδιο ( $p=0.003$ ). Επίσης όλοι οι ασθενείς με ελάχιστη ηπατίτιδα είχαν χαμηλά CD4 κύτταρα τόσο στο περιφερικό αίμα όσο και στον ηπατικό ιστό, ενώ αντίθετα ασθενείς με  $>200$  CD4 είχαν ελαφρά και μέση ηπατίτιδα (Πίνακας 6). Η απόπτωση των ηπατοκυττάρων συσχετίστηκε σημαντικά με το φορτίο του HCV ( $p=0.013$ ), αλλά δεν είχε καμία συσχέτιση με το στάδιο ηπατίτιδας ούτε με τα επίπεδα των CD4 κυττάρων, μία ισχυρή ένδειξη άμεση παθογενετικής συσχέτισης της δραστηριότητας του HCV με τον αποπτωτικό κυτταρικό θάνατο.

Αντίθετα δεν βρέθηκε συσχέτιση του σταδίου ίνωσης και του σταδίου της HIV νόσου ή της ανοσοκαταστολής αφού περιστατικά με κίρρωση βρέθηκαν στην ίδια συχνότητα τόσο στο στάδιο Α (42%) όσο και στο στάδιο C (33%). Σημαντική συσχέτιση του βαθμού της ίνωσης διαπιστώθηκε μόνο με τον γονότυπο 1, καθώς 84,6% των ασθενών με γονότυπο 1 βρέθηκαν σε στάδιο ίνωσης  $>3$ , ενώ 62,5% των αιμορροφιλικών με γονότυπο διαφορετικό του 1 ήταν σε στάδιο 1 ή 2. ( $p=0.04$ ).

Παρόλο που ο γονότυπος 1 συσχετίστηκε με μεγαλύτερη διάρκεια της HCV λοίμωξης (23 έναντι 18 έτη,  $p=0.074$ ), τα αποτελέσματα της πολυπαραγοντικής ανάλυσης έδειξαν ότι παραμένει σημαντικός προγνωστικός παράγοντας για εύρεση προχωρημένου σταδίου ηπατίτιδας  $>3$ . Οι ασθενείς με στάδιο 0-2 είχαν μέση διάρκεια HCV λοίμωξης σχετικά μικρότερη, το εύρημα όμως αυτό δεν ήταν στατιστικά σημαντικό (Πίνακας 7.)

**Πίνακας 7.** Στάδιο ηπατίτιδας C ανάλογα με τα χαρακτηριστικά των ασθενών στη βιοψία

| Στάδιο ηπατίτιδας                                    |                  |                  |                  |       |
|--|------------------|------------------|------------------|-------|
| Χαρακτηριστικά                                       | 0-2 n (%)        | 3-411 (%)        | 5-6 n (%)        | P     |
| HIV στάδιο   |                  |                  |                  | 0.219 |
| A  | 2 (16,7)         | 5 (41,7)         | 5 (41,7)         |       |
| B  | 3 (60,0)         | 2 (40,0)         | 0                |       |
| C  | 1 (33,3)         | 1 (33,3)         | 1 (33,3)         |       |
| CD4(κύτταρα/μL)                                      |                  |                  |                  | 0.136 |
| = 50   | 2 (66,7)         | 1 (33,3)         | 0                |       |
| 50-200   | 4 (36,4)         | 2 (18,2)         | 5 (45,5)         |       |
| > 200  | 1 (14,3)         | 5 (71,4)         | 1 (14,3)         |       |
| HCV γονότυπος  |                  |                  |                  | 0.04  |
| 1  | 2 (15,4)         | 6 (46,2)         | 5 (38,5)         |       |
| Άλλο   | 5 (62,5)         | 2 (25,0)         | 1 (12,5)         |       |
|  | Διάμεση (IQR)    | Διάμεση (IQR)    | Διάμεση (IQR)    | P     |
| Ηλικία στη βιοψία (έτη)                              | 33 (24-42)       | 39 (32-46)       | 37 (30-44)       | 0.298 |
| Χρόνος από HCV SC (έτη)                              | 17 (8-26)        | 24 (18-29)       | 22 (16-30)       | 0.182 |
| Χρόνος από HIV sq (έτη)                              | 11 (9-13)        | 13 (8-15)        | 11 (8-12)        | 0.453 |
| HCV-RNA log <sup>10</sup> (equiv mL <sup>-1</sup> )  | 6,67 (5,92-7,42) | 7,27 (6,45-7,89) | 6,72 (6,03-7,21) | 0.118 |
| H1V-RNA log <sup>10</sup> (copies mL <sup>-1</sup> ) | 3,71 (2,89-4,96) | 3,10 (2,71-4,83) | 4,09 (3,52-5,58) | 0.056 |
| SC: ορομετατροπή                                     |                  |                  |                  |       |

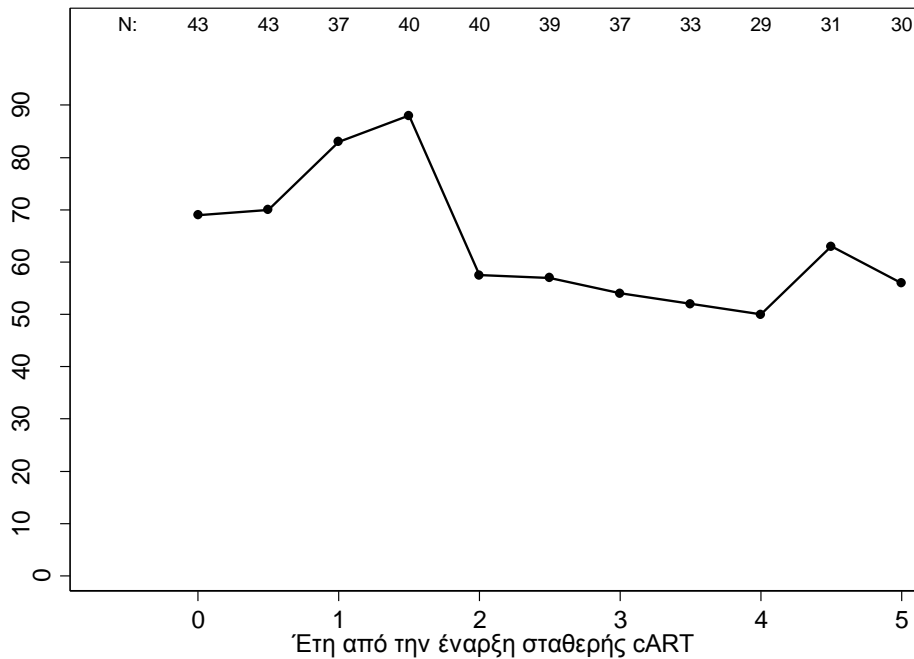
#### **5.4.2. Ηπατοτοξικότητα μετά χορήγηση HAART**

Τους πρώτους μήνες μετά την έναρξη της HAART παρατηρήθηκε αύξηση του επιπέδου των τρανσαμινασών σε αρκετούς ασθενείς. (Γράφημα 7). Η αύξηση αυτή μελετήθηκε ώστε να εκτιμηθεί η πιθανή τοξική δράση των σχημάτων HAART και να διερευνηθούν πιθανοί παράγοντες που μπορεί να προδιαθέτουν στην ανάπτυξη ηπατοτοξικότητας μετά χορήγηση HAART. Από τους 70 ζώντες HCV+/HIV+ ασθενείς την 1/1/1997, 58 οι οποίοι έλαβαν HAART και που είχαν επιπλέον επαρκή στοιχεία για την ηπατική τους λειτουργία την περίοδο αυτή, (μετρήσεις AST/ALT εντός τριμήνου πριν την έναρξη της HAART), εκτιμήθηκαν για πιθανή ανάπτυξη ηπατοτοξικότητας.

Σαν ηπατοτοξικότητα ορίστηκε αύξηση τιμών AST ή ALT κατά τουλάχιστον 1,5 φορά σε σχέση με τις τιμές έναρξης, ενώ σοβαρή ηπατοτοξικότητα χαρακτηρίστηκε όταν η αύξηση ήταν τουλάχιστον 3 φορές πάνω από τα αρχικά επίπεδα. Από τους 58 ασθενείς οι 47 ελάμβαναν 2 NRTIs και ένα PI και οι υπόλοιποι 11, 2 NRTIs και ένα NNRTI.

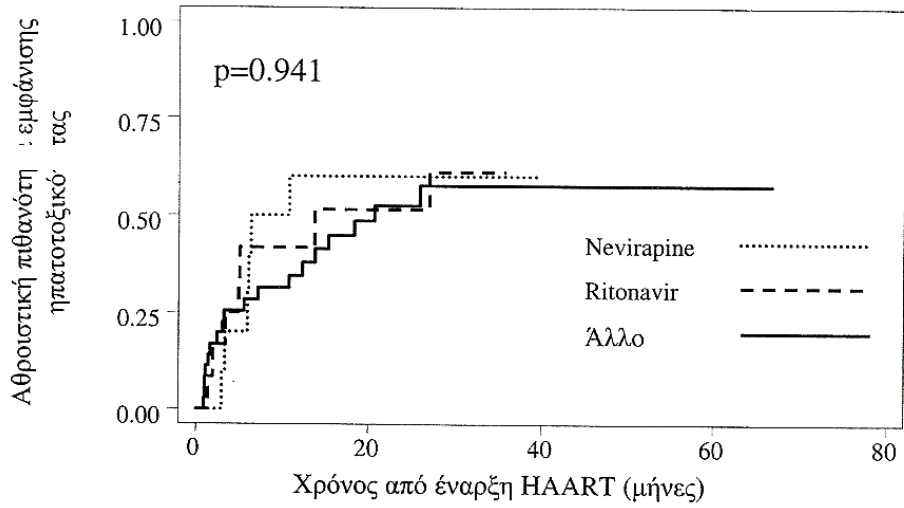
Ο διάμεσος χρόνος παρακολούθησης των ασθενών ήταν 2,2 έτη (1 μήνα - 5,6). Ήπια ηπατοτοξικότητα εμφάνισαν 23 ασθενείς (39,7%), ενώ σοβαρή 8 (13,8%). Ο χρόνος εμφάνισης της ήπιας ηπατοτοξικότητας κυμαινόταν από 1 μέχρι 27 (διάμεση τιμή 5.6) μήνες, ενώ της σοβαρής από 1 μέχρι 20,3 (διάμεση τιμή 8,5 μήνες) μήνες. Στους 3 από τους 8 ασθενείς με σοβαρή ηπατοτοξικότητα αυτή παρατηρήθηκε ενός 4 μηνών από την έναρξη της HAART. Σε σχέση με το είδος του θεραπευτικού σχήματος διαπιστώθηκε μικρότερος χρόνος εμφάνισης της ηπατοτοξικότητας στα σχήματα που περιείχαν νεβιραπίνη (NVP) (6,4 μήνες), ή ριτοναβίρη (RTV) (13,8 μήνες) σε σχέση με τα υπόλοιπα

**Γράφημα 7.** Επίπεδα ALT μετά την έναρξη σταθερής HAART

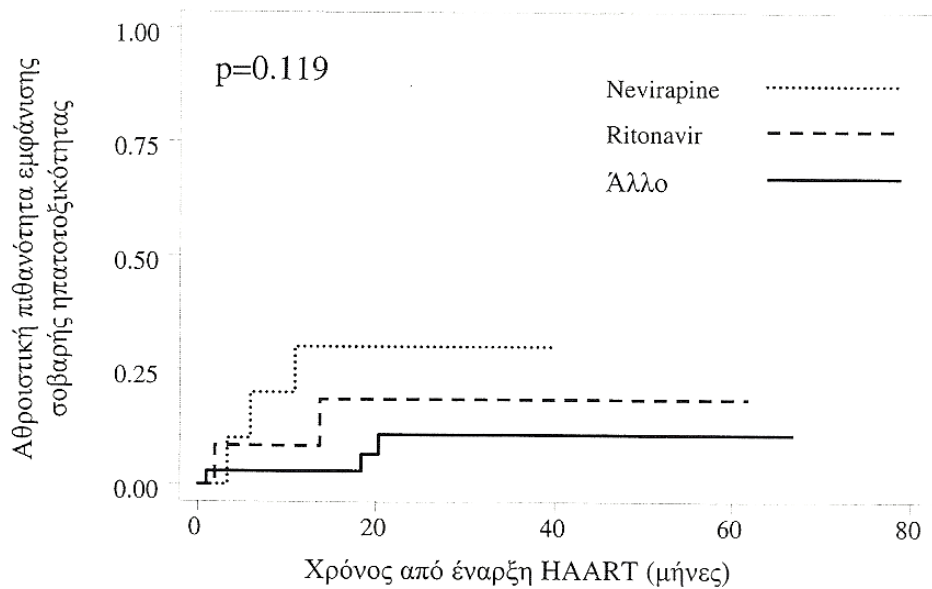


σχήματα (20,7 μήνες), η διαφορά όμως δεν ήταν στατιστικά σημαντική ( $P=0.941$ ) (Γράφημα 8). Επικεντρώνοντας στη σοβαρή ηπατοτοξικότητα, διαπιστώθηκε ότι η αθροιστική επίπτωση εμφάνισης σοβαρής ηπατοτοξικότητας ήταν 30% για τα άτομα που έπαιρναν NVP, ενώ ήταν μικρότερη για τα άλλα σχήματα χωρίς όμως η διαφορά να φτάνει τα επίπεδα της συμβατικής σημαντικότητας ( $P=0.119$ ) (Γράφημα 9). Ο σχετικός κίνδυνος για ανάπτυξη σοβαρής ηπατοτοξικότητας ήταν τετραπλάσιος για τα σχήματα με NVP, ενώ για το RTV διπλάσιος σε σχέση με τα υπόλοιπα σχήματα. Ο κίνδυνος ηπατοτοξικότητας δεν φαίνεται να επηρεάζεται σημαντικά ούτε από τα αρχικά επίπεδα των CD4 κυττάρων, ούτε από την ανοσολογική ανταπόκριση στη HAART. (Πίνακας 8).

**Γράφημα 8.** Αθροιστική πιθανότητα εμφάνισης όποιου βαθμού ηπατοτοξικότητας ανάλογα με τα σχήματα της αντιρετροϊκής αγωγής



**Γράφημα 9.** Αθροιστική πιθανότητα εμφάνισης σοβαρής ηπατοτοξικότητας ανάλογα με τα σχήματα της αντιρετροϊκής αγωγής



**Πίνακας 8.** Σχετικός κίνδυνος εμφάνισης σοβαρής ηπατοτοξικότητας ανάλογα με το θεραπευτικό σχήμα, τα αρχικά επίπεδα των CD4 λεμφοκυττάρων και την ανοσολογική ανταπόκριση. Αποτελέσματα από μονοπαραγοντική (Αδρός σχετικός κίνδυνος) και πολυπαραγοντική (Σταθμισμένος κίνδυνος) ανάλυση

|   | <i>Αδρός σχετικός κίνδυνος (95% CI)</i> | <i>P</i> | <i>Σταθμισμένος σχετικός κίνδυνος (95%CI)</i> | <i>P</i> |
|---|---|----------|---|----------|
| Θεραπευτικό σχήμα HAART   |   |          |   |          |
| Nevirapine/Άλλο   | 4,23 (0,85-21,11)                       | 0.079    | 5,41(0,96-30,45)                              | 0.055    |
|   | 2.13                                    |          |   |          |
| Ritonavir /Άλλο   | 2,13 (0,36-12,75)                       | 0.408    | 4,13 (0,60-28,65)                             | 0.151    |
| CD4 κατά την έξαρση της HAART (Ανά 100 κύτταρα/μl αύξηση)                 | 1,24 (0,81-1,89)                        | 0.326    | 1,25 (0,77-2,02)                              | 0.373    |
| Ανοσολογική ανταπόκριση (αύξηση 200 κύτταρα/μl σε σχέση με τα αρχικά CD4) | 1,29 (0,32-5,22)                        | 0.726    | 1,40 (0,33-5,92)                              | 0.650    |

## 5.5. Θεραπεία ηπατίτιδας C.

Συνολικά σε όλη τη διάρκεια της μελέτης 89 ασθενείς (27.9%) έλαβαν αντι HCV θεραπεία με 127 θεραπευτικά σχήματα. Ο μέσος χρόνος από την HCV ορομετατροπή έως την λήψη του πρώτου θεραπευτικού σχήματος ήταν 21,1 (18,2, 26,2) έτη.

Από αυτούς 69 (42,1%) είχαν μόνο HCV λοίμωξη ενώ οι 20 (12,5%) είχαν HCV/HIV συλλοίμωξη.

Ανάλογα με τη χρόνο έναρξης της θεραπείας χορηγήθηκε μονοθεραπεία με IFN-α σε 52 ασθενείς, συνδυασμός IFN-α /RIB σε 22 και συνδυασμός PegIFN/RIB σε 53.

Από τους 89 ασθενείς που έλαβαν αντι- HCV θεραπεία οι 70 (78,8%) την ολοκλήρωσαν σε συνολικά 94/127 σχήματα. Από τους 19 (21,2%) ασθενείς που δεν ολοκλήρωσαν την αγωγή, χρειάστηκε να διακόψουν λόγω μη ανταπόκρισης 14 (73,68%) σε συνολικά 22 σχήματα, λόγω παρενεργειών 4 (21,05%), και μη συμμόρφωσης 1(5,27%).

Σαν ανταπόκριση στην θεραπεία εκτιμήθηκε η αρνητικοποίηση του ιικού φορτίου στο τέλος της θεραπείας (End of treatment virological response –ETR) και η διατήρηση αρνητικού φορτίου 6 μήνες μετά την ολοκλήρωση της θεραπείας (sustain virological response- SVR).

Συνολικά από τους 89 ασθενείς που έλαβαν από 1-4 θεραπευτικά σχήματα, εμφάνισαν ETR 47(55.3%) και οι 35 (39,32%) SVR.

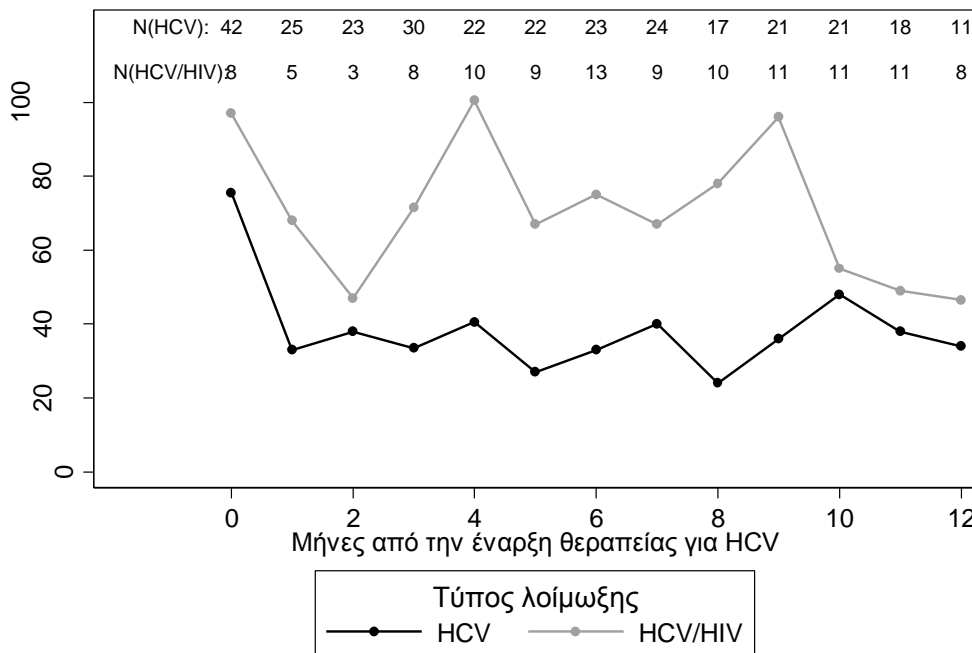
Από τους 35 ασθενείς που διαχρονικά εμφάνισαν SVR, οι 33 είχαν μόνο HCV λοίμωξη, έτσι στην ομάδα αυτή το ποσοστό SVR συνολικά ανέρχεται στο 65,2%. Αντίθετα οι ασθενείς με συλλοίμωξη παρουσίασαν ιδιαίτερα χαμηλά ποσοστά ιολογικής ανταπόκρισης. Μόνο 2 από τους 20 συνολικά θεραπευθέντες με συλλοίμωξη πέτυχε SVR (Πίνακας 9). Στο γράφημα 10 παρουσιάζεται η διαχρονική πορεία των τρανσαμινασών



κατά τη διάρκεια της αντι- HCV θεραπείας στις δύο ομάδες των ασθενών. Παρατηρείται η εμφάνιση υποτροπής της τρανσαμινασαιμίας στους ασθενείς με συλλοίμωξη μετά την αρχική καταστολή κατά τους δύο πρώτους μήνες θεραπείας.

Ο γονότυπος του HCV αποδείχθηκε ως σημαντικός προγνωστικός παράγοντας ανταπόκρισης στη θεραπεία. Μόνο το 25,42% των ασθενών με γονότυπο 1 ή 4 ανταποκρίθηκε συνολικά στη θεραπεία έναντι 70,83% των ασθενών με άλλο γονότυπο ( $p < 0.001$ ). Η αρνητική προγνωστική σημασία των γονοτύπων 1 και 4 αποδείχθηκε και στην πολυπαραγοντική ανάλυση (OR:0.113 95% CI 0,036, 0.353,  $p < 0.001$ ), ενώ η μικρότερη ηλικία κατά την HCV ορομετατροπή παρουσίασε οριακά στατιστική σημαντικότητα σαν προγνωστικός δείκτης ανταπόκρισης της HCV θεραπείας. (OR ανά 5 έτη :0.84 95% CI 0.648, 0.998,  $p = 0.048$ )

**Γράφημα 10.** Επίπεδα ALT κατά τη θεραπεία για HCV, ανάλογα με τον τύπο λοίμωξης



P-value διαφοράς στα αρχικά επίπεδα: <0.001

**Πίνακας 9.** Σχήματα αντι – HCV θεραπείας , αποτελεσματικότητα και ανεπιθύμητες αντιδράσεις στις δύο ομάδες των ασθενών

| <b>Λήψη θεραπείας έναντι HCV</b> | Σύνολο<br>N (%) | HCV+/HIV-<br>N (%) | HCV+/HIV+<br>N (%) | <0.001 |
|----------------------------------|-----------------|--------------------|--------------------|--------|
| <i>Όχι</i>                       | 235 (72,5)      | 95 (57,9)          | 140 (87,5)         |        |
| <i>Ναι</i>                       | 89 (27,5)       | 69 (42,1)          | 20 (12,5)          |        |
| <b>Ανταπόκριση</b>               |                 |                    |                    | <0.001 |
| ETR                              | 47(52,8)        | 44 (63,7)          | 3(15)              |        |
| SVR                              | 35(39,3)        | 33(47,2)           | 2(10)              |        |
| <b>Θεραπευτικά Σχήματα</b>       | 127(100)        | 77 (60,6)          | 50 (39,4)          |        |
| INFa                             | 52 (41)         | 30 (39.1)          | 22(44)             |        |
| INFa +Ribavirin                  | 22(17,3)        | 13(16,9)           | 9(18)              |        |
| Peg-INFa +<br>Ribavirin          | 53(41,7)        | 34(44)             | 19 (38)            |        |
| <b>Ολοκληρωμένα σχήματα</b>      | 95 (74,8)       | 59(76,6)           | 36(72)             |        |
| <b>Αίτια διακοπής</b>            |                 |                    |                    |        |
| Μη ανταπόκριση                   | 22 (68,75)      | 15(83,4)           | 7(50)              |        |
| Παρενέργειες                     | 8(25)           | 1(5,5)             | 7(50)              |        |
| Μη συμμόρφωση                    | 2 (6,25)        | 2(11,1)            | 0                  |        |

Η αποτελεσματικότητα και ασφάλεια των διαφορετικών σχημάτων θεραπείας εκτιμήθηκε σε διαφορετικές χρονικά μελέτες οι οποίες αναφέρονται αναλυτικά:

#### **5.5.1. Μονοθεραπεία με ιντερφερόνη Α. (IFN-α).**

Αρχική μελέτη της ανταπόκρισης των αιμορροφιλικών ασθενών στην αντι- HCV θεραπεία έγινε με χορήγηση IFN-α σε 52 αιμορροφιλικούς από τους οποίους 30 HIV – και 22 HIV +. Στη μελέτη διερευνήθηκαν επίσης πιθανοί προγνωστικοί παράγοντες ανταπόκρισης της θεραπείας.

**Κριτήρια ένταξης:** Θετικό HCV- RNA και επίπεδα ALT >1.5 φορές τις φυσιολογικές τιμές.

**Σχήμα θεραπείας:** Όλοι οι HIV θετικοί ασθενείς και 13 από τους 30 HIV- έλαβαν 3 εκατομμύρια IU/3 φορές εβδομαδιαίως, ενώ οι υπόλοιποι 17 από τους ασθενείς με μόνο HCV λοίμωξη έλαβαν 6 εκατομμύρια IU/3 φορές εβδομαδιαίως για 6 μήνες και στη συνέχεια 3 εκατομμύρια IU/ 3 φορές εβδομαδιαίως.

**Διάρκεια θεραπείας:** Η ανταπόκριση στην θεραπεία εκτιμήθηκε στους 12 μήνες. Οι ασθενείς με αρνητικό ιϊκό φορτίο συνέχισαν την αγωγή για συνολικά 18 μήνες ενώ διεκόπη για τους έχοντες θετικό HCV-RNA.(Non Responders NR)

**Αποτελέσματα:** Οι δύο ομάδες των ασθενών δεν διάφεραν ως προς τα βασικά χαρακτηριστικά στην έναρξη της μελέτης (ηλικία, επίπεδα τρανσαμινασών κατά την έναρξη, γονότυπο και επίπεδα HCV-RNA.). Μόνο ένας από τους HIV + ασθενείς παρουσίασε ETR αλλά υποτροπίασε μετά τη διακοπή της θεραπείας. Αντίθετα στην ομάδα των HIV-, 16(55%) είχαν ETR και 9 από αυτούς (31%) διατήρησαν SVR. Μόνο ο γονότυπος του HCV (7.7% για το γονότυπο 1 και 38.4% για τους

άλλους γονοτύπους,  $p=0.050$ ) και το αρχικό HCV- RNA (μέση τιμή  $6,04 \log^{10}$  equin mL<sup>-1</sup> για τους ασθενείς με SVR και  $6.63 \log^{10}$  equin mL<sup>-1</sup> για τους NR,  $p= 0.052$ ) συσχετίστηκαν με την ανταπόκριση. Δεν υπήρξε διαφορά στην ανταπόκριση μεταξύ των δύο χρησιμοποιηθέντων δόσεων.

### ***5.5.2. Ιντερφερόνη Α και ριμπαβιρίνη σε HCV +/-HIV-αιμορροφιλικούς μη ανταποκριθέντες σε μονοθεραπεία με IFNα***

Δεατρείς από τους ασθενείς με μόνο HCV λοίμωξη που δεν ανταποκρίθηκαν στην μονοθεραπεία με ιντερφερόνη, εντάχθηκαν σε συνδυασμένο σχήμα θεραπείας με ιντερφερόνη Α και ριμπαβιρίνη.

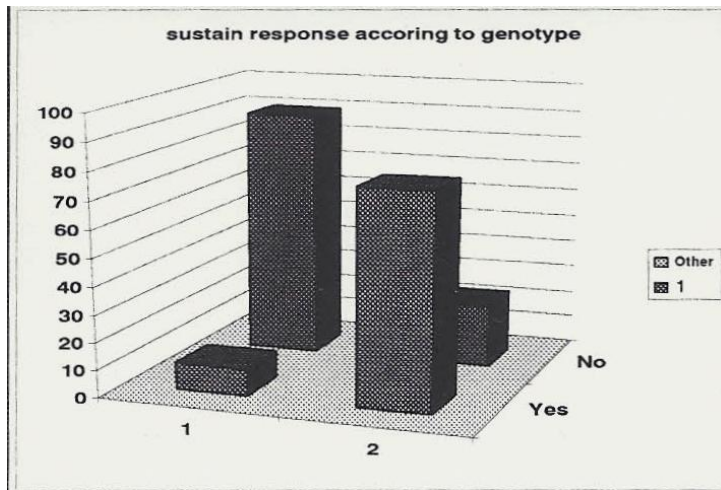
Το σχήμα της θεραπείας αυτής ήταν περισσότερο εντατικοποιημένο:

Ιντερφερόνη Α χορηγήθηκε σε δόση 5 MU/ ημερησίως για 4 εβδομάδες και στη συνέχεια 5MU 3 φορές εβδομαδιαίως για 20 εβδομάδες.

Ριμπαβιρίνη 1000-1200 mg ημερησίως ανάλογα με το σωματικό βάρος.

Η διάμεση ηλικία τους ήταν 48 έτη (IQR: 27-58), το διάμεσο HCV-RNA στην έναρξη  $6.8 \log^{10}$  copies/ml, ενώ 9/13 (69%) είχαν γονότυπο 1, 3 γονότυπο 3 και 1 γονότυπο 2.

***Αποτελέσματα:*** 6 ασθενείς (46%) παρουσίασαν ETR, ενώ 4 (30,8%) ήταν N, όλοι με γονότυπο 1. Από τους ασθενείς με ETR, 5 (28,4%) πέτυχαν SVR. Από αυτούς 2 είχαν γονότυπο 1 (22%) ενώ 3 (75%) άλλο γονότυπο. (Γράφημα 11).



**Γράφημα 11.** Παρατεινόμενη ανταπόκριση ανάλογα με το γονότυπο σε ασθενείς με HCV μονολοίμωξη που έλαβαν θεραπεία με ιντερφερόνη Α και ριμπαβιρίνη

Οι ανεπιθύμητες αντιδράσεις που παρατηρήθηκαν σε 10/13 ασθενείς ήταν γενικά ήπιες. Κανένας ασθενής δεν διέκοψε τη θεραπεία λόγω παρενεργειών, ενώ μείωση της δόσης της ιντερφερόνης απαιτήθηκε σε έναν ασθενή λόγω πτώσης των λευκών αιμοσφαιρίων  $<1500 /L$  και της ριμπαβιρίνης σε 2 ασθενείς λόγω  $Hb < 10gr/dl$ .

### 5.5.3. Πεγκολιωμένη ιντερφερόνη (Peg- IFN) και ριμπαβιρίνη

Μεταξύ 2000 και 2004 όταν ο συνδυασμός Peg- IFN και ριμπαβιρίνης έγινε η θεραπεία εκλογής για τη θεραπεία της ηπατίτιδας C, έγινε μελέτη στην οποία εκτιμήθηκε η ασφάλεια και αποτελεσματικότητα του συνδυασμού συγκριτικά στις δύο ομάδες αιμορροφιλικών ασθενών τους HIV- και τους HIV+. Στη μελέτη εντάχθηκαν 50 ασθενείς από τους οποίους 19 ήταν HCV+/HIV+.

**Κριτήρια ένταξης:** Επίπεδα ALT  $>1.5$  των φυσιολογικών τιμών και HCV-RNA θετικό. Για τους HIV+ ασθενείς επιπλέον τα κριτήρια ένταξης περιελάμβαναν σταθερή κλινική κατάσταση HIV λοίμωξης, επίπεδα CD4 κυττάρων  $>200/\mu l$  και HIV-RNA χαμηλότερο από 10.000 copies/ $\mu l$ .

**Σχήμα θεραπείας:** Όλοι οι HIV+ και 15 από τους 31 HIV- ασθενείς έλαβαν Peg- IFN  $\alpha$  -2b (Pegintron, Schering- Plough) σε δόση

1.5 μg/kg/ εβδομαδιαίως, ενώ 16 HIV- έλαβαν Peg- IFN α -2a (Pegasys, Roche) 180 μg εβδομαδιαίως. Και τα δύο σκευάσματα συνδυάστηκαν με ριμπαβιρίνη σε δόσεις 800 mg ημερησίως για τους γονότυπους 2 και 3, ενώ για τους γονότυπους 1 και 4 ανάλογα με το βάρος σώματος (<75 kg, 800 mg/d, 75-85 kg, 1000 mg/d και >85 kg, 1.200 mg/d.)

Παρακολούθηση των ασθενών έγινε στις εβδομάδες 0, 1, και 2 και κατόπιν μηνιαία για αιματολογικές παραμέτρους και ηπατική λειτουργία.

Ποσοτική μέτρηση του HCV RNA έγινε στην αρχή της θεραπείας και στην 12<sup>η</sup> εβδομάδα για την εκτίμηση της πρώιμης ανταπόκρισης (EVR) σαν προγνωστικού δείκτη για SVR.. Ποιοτικές μετρήσεις του HCV RNA έγιναν τις εβδομάδες 24, 48 και 72.

**Διάρκεια θεραπείας:** Όλοι οι HIV+ ασθενείς έλαβαν θεραπεία για 48 εβδομάδες, ανεξάρτητα γονοτύπου και ανεξάρτητα από την ανταπόκρισή τους στις 24 εβδομάδες. Οι ασθενείς χωρίς HIV λοίμωξη με γονότυπους 2 και 3 έλαβαν θεραπεία 24 εβδομάδων, ενώ εκείνοι με γονότυπους 1 και 4 εκτιμήθηκαν στις 24 εβδομάδες και οι ανταποκριθέντες (HCV- RNA αρνητικό) συνέχισαν για 48 εβδομάδες.

**Αποτελέσματα:** Οι δύο ομάδες ασθενών είχαν παρόμοια χαρακτηριστικά εκτός από το αρχικό HCV – RNA το οποίο ήταν σημαντικά υψηλότερο στους HIV+ ασθενείς. (p=0.047). Επικρατούσε ο γονότυπος 1(72%) και η κατανομή των γονοτύπων δεν διέφερε μεταξύ των δύο ομάδων. Οι περισσότεροι από τους HIV + ασθενείς ήταν σε ασυμπτωματικό στάδιο HIV λοίμωξης (79,5%) και όλοι έπαιρναν HAART με διάφορους συνδυασμούς φαρμάκων που περιελάμβαναν AZT σε 7 ασθενείς, D4T σε 9, 3TC σε 10, ddI σε 66, EFV σε 4 και PI σε 8 (Πίνακας 10).

Συνολικά 22/50 ασθενείς (43,8%) είχαν αρνητικό HCV-RNA στο τέλος της θεραπείας (ETR) ενώ 20/50 (40%) πέτυχαν SVR. Η

ανταπόκριση ήταν σαφώς υψηλότερη στους HIV- ασθενείς με 20 (65,5%) να πετυχαίνουν ETR και 18 (58,6%) SVR αντίστοιχα. Από την ομάδα των HIV+ μόνο δύο ασθενείς είχαν SVR (10.5%). Μετά την εξαίρεση των ασθενών που διέκοψαν τη θεραπεία, τα ποσοστά SVR ήταν 47,6% συνολικά, 65,5% στην ομάδα των HIV- και 15,4 % στους ασθενείς με συλλοίμωξη, γεγονός που αντανακλά το υψηλό ποσοστό διακοπής της θεραπείας στην δεύτερη ομάδα.

**Ανεπιθύμητες αντιδράσεις:** 42 από τους 50 ασθενείς (84%) συμπλήρωσαν τη θεραπεία, ενώ 8 (16%) διέκοψαν λόγω παρενεργειών. Ο μοναδικός HIV- ασθενής που διέκοψε τη θεραπεία εμφάνισε σοβαρή καταθλιπτική συνδρομή 4 μήνες μετά την έναρξη της θεραπείας.

Από τους 7 HIV+ ασθενείς που διέκοψαν τη θεραπεία, 2 παρουσίασαν σοβαρή αιμολυτική αντίδραση στο 2<sup>ο</sup> μήνα θεραπείας, σε δύο εμφανίστηκε νόσημα που καθορίζει το AIDS (NHL και σοβαρή πνευμονία) 1 ασθενής διέκοψε λόγω σοβαρής γριππώδους συνδρομής ενώ 1 ασθενής εμφάνισε μη αντιρροπούμενη κίρρωση (σοβαρός ασκίτης), 3 μήνες μετά την έναρξη της θεραπείας. Μείωση της δόσης της ριμπαβιρίνης απαιτήθηκε σε 5 ασθενείς, (3 HIV+ και 2 HIV- ) ενώ της Peg-IFN σε 2 ασθενείς λόγω πτώσης των λευκών αιμοσφαιρίων  $<1 \times 10^9/l$ . Συγκεντρωτικά οι ανεπιθύμητες αντιδράσεις ανά ομάδα ασθενών ανεξάρτητα βαρύτητας, παρουσιάζονται στον Πίνακα 11.

#### ***Προγνωστικοί παράγοντες σχετιζόμενοι με SVR***

Η μείωση του HCV RNA στις 12 εβδομάδες ήταν ισχυρός προγνωστικός δείκτης για SVR. Ποσοστό 55 % όλων των ασθενών και 72% των HIV- με EVR την 12<sup>η</sup> εβδομάδα θεραπείας πέτυχαν SVR ( $p=0.001$ ). Άλλοι παράγοντες που θεωρούνται προγνωστικοί για την απάντηση στην αντι HCV θεραπεία δεν αποδείχθηκαν στατιστικά σημαντικοί στη μελέτη αυτή. Παρόλο που οι ασθενείς με γονότυπο

διαφορετικό του 1 είχαν υψηλότερα ποσοστά ανταπόκρισης (75% έναντι 55,6%) η διαφορά δεν ήταν στατιστικά σημαντική (p=0.462)

**Πίνακας 10.** Βασικά χαρακτηριστικά των δύο ομάδων ασθενών που έλαβαν συνδυασμένη θεραπεία Peg- IFN και ριμπαβιρίνη.

|                                     | HIV-             | HIV+             |       |
|-------------------------------------|------------------|------------------|-------|
| Ασθενείς                            | 31               | 19               |       |
| Γονότυπος 1                         | 26(52)           | 10(20)           |       |
| 2                                   | 2(4)             | 3(6)             |       |
| 3                                   | 7(14)            | 4(8)             |       |
| 4                                   | 1(2)             | 2(4)             |       |
| Στάδιο HIV A                        |                  | 15(79)           |       |
| B                                   |                  | 3(15.8)          |       |
| C                                   |                  | 1(5.2)           |       |
|                                     | Median ( IQR)    | Median IQR       | P     |
| Ηλικία (έτη)                        | 36 (18-68)       | 35 (22-64)       | 0.830 |
| Διάρκεια HCV λοίμωξης (έτη)         | 22 (14-32)       | 20 (17-30)       | 0.815 |
| Διάρκεια HIV λοίμωξης (έτη)         |                  | 19 (16-21)       |       |
| HCV RNA log <sub>10</sub> IU/ml     | 5.98 (5.17-6.68) | 6.30 (5.38-6.96) | 0.040 |
| HIV RNA log <sub>10</sub> copies/ml |                  | 2.70 (1.70-5.35) |       |
| CD4 κύτταρα/μl                      |                  | 455 (201-773)    |       |
| ALT IU/L                            | 65 ( 50-289)     | 85 (52-288)      | 0.169 |

**Πίνακας 11.** Ανεπιθύμητες αντιδράσεις στην συνδυασμένη αντι – HCV θεραπεία με PegINF και ριμπαβιρίνη στις δύο ομάδες ασθενών.

|                                     | HIV-     | HIV+        |
|-------------------------------------|----------|-------------|
| Τοπική αντίδραση στο σημείο έγχυσης | 20       | 10          |
| Γριπώδες σύνδρομο                   | 27       | 18 (1§)     |
| Αναιμία                             | 6 (2*)   | 10 (2*, 3§) |
| Λευκοπενία                          | 3(1*)    | 6 (1*)      |
| Απώλεια βάρους                      | 8        | 12 (7<5 kg) |
| Διαταραχή θυρεοειδικής λειτουργίας  | 2 (2#)   | 2           |
| Ψυχιατρικά συμπτώματα               | 3 (1#,§) | 2 (1#)      |
| Εξέλιξη HIV ή HCV νόσου             | -        | 3(1§, 2 ^)  |

§ Διακοπή θεραπείας, \* ελάττωση δόσης #ανάγκη για ειδική αγωγή, ^ θάνατος



## 5.6. Παράγοντες που σχετίζονται με τον κίνδυνο ανάπτυξης ESLD

Με παραμετρικό μοντέλο ανά αιτία κινδύνων, αναλύθηκαν οι παράγοντες που μπορεί να σχετίζονται με αύξηση του κινδύνου για εμφάνιση ESLD. Σε μονοπαραγοντική ανάλυση, από τους παράγοντες που αναλύθηκαν, η ύπαρξη συλλοίμωξης, η ημερολογιακή περίοδος της HCV ορομετατροπής καθώς και η μεγαλύτερη ηλικία κατά τη λοίμωξη ήταν οι παράγοντες που βρέθηκε να αυξάνουν σημαντικά τον κίνδυνο ανάπτυξης ESLD. Η διάμεση ηλικία κατά την HCV ορομετατροπή ήταν 25 έτη (IQR: 13,0-37,6) στην ομάδα με ESLD, έναντι 15,6 (IQR: 5,9-28,0) σε εκείνους χωρίς εμφάνιση ESLD ( $p=0.001$ ). Επιπλέον οι ασθενείς στους οποίους η HCV ορομετατροπή συνέβη σχεδόν ταυτόχρονα με την HIV ορομετατροπή παρουσίασαν μικρότερα ποσοστά ESLD (4,9%) έναντι των ασθενών στους οποίους η HCV λοίμωξη προηγήθηκε (15%) ( $p=0.014$ ).

Στην πολυπαραγοντική ανάλυση η μεγαλύτερη ηλικία κατά την HCV ορομετατροπή και η συλλοίμωξη παρέμειναν ανεξάρτητοι παράγοντες κινδύνου για εμφάνιση ESLD. (Πίνακας 12). Ο σχετικός κίνδυνος [(cause-specific hazard (CSH)] για κάθε 5 χρόνια αύξηση στην ηλικία ήταν 1.439 (95% CI 1,252, 1,647) ( $p\text{-value}<0.001$ ). Οι ασθενείς με συλλοίμωξη είχαν 9.6 φορές υψηλότερο κίνδυνο για ESLD από τους HIV αρνητικούς ( $p\text{-value}<0.001$ ). Αντίθετα οι HCV+/HIV+ ασθενείς με ιστορικό σταθερής HAART είχαν μόνο περίπου 1.5 φορά (CSH: 1.655) υψηλότερο κίνδυνο ανάπτυξης ESLD συγκριτικά με τους HIV αρνητικούς. Επομένως η χορήγηση HAART μείωσε τον κίνδυνο για ESLD στους αιμορροφιλικούς με συλλοίμωξη κατά 83.3% ( $p\text{-value}=0.0081$ ), ώστε τελικά να μη διαφέρει σημαντικά από αυτόν των

HIV αρνητικών ασθενών. Τέλος, η θεραπεία για την HCV λοίμωξη στην μελέτη δεν αποδείχθηκε ότι ελαττώνει τον κίνδυνο για ESLD .

**Πίνακας 12.** Παράγοντες που επηρεάζουν τον κίνδυνο εμφάνισης ESLD. Αποτελέσματα πολυπαραγοντικής ανάλυσης

|   | <b>ΣΚ*</b> | <b>95% CI</b>   | <b>p-value</b> |
|---|------------|-----------------|----------------|
| <b>Ηλικία κατά την HCV ορομετατροπή</b>   |            |                 |                |
| <i>ανά 5 έτη</i>                          | 1.436      | (1.252, 1.647)  | <0.001         |
| <b>Τύπος λοίμωξης</b>                     |            |                 |                |
| <i>HCV</i>                                | 1          |                 |                |
| <i>HCV/HIV</i>                            | 9.901      | (4.161, 23.561) | <0.001         |
| <i>HCV/HIV με ιστορικό σταθερής HAART</i> | 1.655      | (0.448, 6.118)  | 0.45           |
| <b>Ιστορικό θεραπείας για HCV</b>         |            |                 |                |
| <i>Όχι</i>                                | 1          |                 |                |
| <i>Ναι</i>                                | 1.012      | (0.339, 3.021)  | 0.983          |

\*Σχετικός κίνδυνος

## 6. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η ηπατίτιδα C είναι μια χρόνια λοίμωξη που οφείλεται σε ένα μικρό RNA ιό ο οποίος ανακαλύφθηκε το 1989 και σήμερα αποτελεί ένα σημαντικό παράγοντα νοσηρότητας παγκόσμια. (Shepard et al, 2005). Σ' αυτόν αποδόθηκε το μεγαλύτερο ποσοστό περιστατικών μη A μη B ηπατίτιδας. Η μετάδοση του γίνεται κυρίως παρεντερικά, για το λόγο αυτό μεγάλη συχνότητα λοίμωξης έχει αναφερθεί σε άτομα τα οποία έλαβαν πολλαπλές μεταγγίσεις αίματος και παραγώγων πριν το 1992. Η ανάπτυξη του ειδικού αντιδραστηρίου για την ανίχνευση των ειδικών αντι-HCV αντισωμάτων (Kuo G et al 1989) και η καθιέρωση σ' όλον τον αναπτυγμένο κόσμο του ελέγχου των μονάδων αίματος, είχε σαν αποτέλεσμα τη δραματική ελάττωση των κρουσμάτων από μετάγγιση αίματος και παραγώγων του. Σήμερα ο παγκόσμιος επιπολασμός της νόσου να ανέρχεται περίπου στο 3% και στην Ελλάδα υπολογίζεται περίπου στο 2% ενώ εμφανίζει ευρεία γεωγραφική κατανομή (Koulentaki et al, 1999, Goritsas et al 2000, Gogos et al 2003).

Τα υψηλά ποσοστά ασυμπτωματικής διαδρομής της οξείας λοίμωξης καθώς και ανάπτυξης χρονιότητας η οποία διαδράμει υποκλινικά, καθιστά δύσκολη την μελέτη της φυσικής ιστορίας της νόσου.

Τα άτομα με κληρονομική αιμορραγική διάθεση και κυρίως εκείνα με αιμορροφιλία A και B μετά το 1964 άρχισαν να χρησιμοποιούν σαν θεραπεία υποκατάστασης συμπτκνωμένα παράγωγα πλάσματος ενώ από το 1972 σκευάσματα λυοφιλοποιημένων συμπτκνωμένων παραγόντων πήξης παρασκευασμένων από δεξαμενές πλάσματος πολλών δοτών αίματος. Το τίμημα ήταν η μεγάλη συχνότητα ανάπτυξης ηπατίτιδας C η οποία ανέρχεται σε ποσοστά 60-100% στις διάφορες

μελέτες (Brettler D et al, 1990, Makris M et al 1990, Rumi et al 1990). Τα χαρακτηριστικά της HCV λοίμωξης στα άτομα με κληρονομική αιμορραγική διάθεση, διαφέρουν από εκείνα σε άλλες ομάδες κινδύνου. Έχουν όλοι την ίδια οδό μόλυνσης που συνέβη σε συγκεκριμένη χρονική περίοδο (αρχές δεκαετίας 1970 έως 1986). Υπάρχει η πιθανότητα επανειλημμένων εκθέσεων στον ιό σε κάθε χρήση συμπυκνωμένων παραγόντων. Επιπλέον ένα αρκετά μεγάλο ποσοστό ατόμων με συγγενείς αιμορραγικές διαθέσεις μόλυνθηκαν στη συνέχεια ή ταυτόχρονα μέσω της θεραπείας υποκατάστασης, με τον ιό της επίκτητης ανοσοανεπάρκειας (HIV). Η λοίμωξη αυτή έγινε μεταξύ των ετών 1980-1985 στις περισσότερες χώρες.

Στην Ελλάδα η πρώτη αναδρομική μελέτη που έγινε σε δείγματα αιμορροφιλικών ασθενών για ανίχνευση αντισωμάτων έναντι του HCV απέδειξε το ίδιο υψηλά ποσοστά λοίμωξης με τις άλλες χώρες (>90%). (Hatzakis et al, 1992), ενώ πλησίαζε το 100% στους ασθενείς που είχαν μολυνθεί επίσης με τον HIV.

Τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά της ομάδος, καθώς και η δυνατότητα αφ' ενός του καθορισμού του χρονικού σημείου των δύο λοιμώξεων, αφ'ετέρου της τακτικής παρακολούθησης στα κέντρα αιμορροφιλικών, απαραίτητων στοιχείων για την μελέτη της φυσικής ιστορίας ενός χρόνιου νοσήματος, προσδίδουν στην ομοιογενή αυτή ομάδα ιδιαίτερο ενδιαφέρον και την ανάγκη της ξεχωριστής, από τις άλλες ομάδες HCV ασθενών, μελέτης τους, τόσο από την πλευρά της εξέλιξης της ηπατίτιδας C, όσο και του τρόπου επίδρασης του HIV και της θεραπείας του, στη εξέλιξη της HCV λοίμωξης.

Στην μελέτη αυτή μελετήθηκε ένας μεγάλος αριθμός ασθενών με συγγενή αιμορραγική διάθεση και HCV λοίμωξη, από τους οποίους το 50% είχε επιπλέον λοίμωξη με HIV. Ο αριθμός αυτός είναι

αντιπροσωπευτικός του Ελληνικού πληθυσμού των ατόμων με συγγενείς αιμορραγικές διαθέσεις καθώς περιλαμβάνει ποσοστό μεγαλύτερο του 90% των ασθενών που μολύνθηκαν με ηπατίτιδα C από παράγωγα αίματος στην Ελλάδα και σχεδόν 100% των ασθενών με συλλοίμωξη HCV/HIV.

Σαν χρόνος έναρξης της παρακολούθησής τους ορίστηκε όπως σε όλες σχεδόν τις κοόρτες των αιμορροφιλικών ασθενών η ημέρα στην οποία εκτέθηκαν για πρώτη φορά σε μεγάλη ποσότητα συμπυκνωμένου παράγοντα VIII η οποία θεωρείται πρακτικά και η πρώτη έκθεσή τους στον HCV, ενώ ο χρόνος παρακολούθησής τους ήταν από τους μεγαλύτερους σε κοόρτη αιμορροφιλικών ασθενών.

Το μεγαλύτερο ποσοστό μολύνσεων με τον HCV συνέβη μετά το 1975 όταν τα σκευάσματα των συμπυκνωμένων παραγόντων άρχισαν να χρησιμοποιούνται συστηματικά, ενώ μετά το 1980 μολύνθηκαν οι νεώτεροι ασθενείς, και εκείνοι με πιο ήπιες μορφές νόσου, που περιστασιακά χρειάστηκαν θεραπεία υποκατάστασης. Οι ασθενείς με αιμορροφιλία A και B έχουν μεγαλύτερα ποσοστά μολύνσεων από τους ασθενείς με νόσο von Willebrand, γεγονός που αποδίδεται την μεγαλύτερη κατανάλωση παραγόντων πήξης στους ασθενείς αυτούς (Hatzakis et al, 1992).

Ο γονότυπος που προεξάρχει στην ομάδα αυτή είναι ο γονότυπος 1, ο οποίος εμφανίζεται σε υψηλότερα ποσοστά από αυτά που αναφέρονται στον Ελληνικό πληθυσμό την εποχή εκείνη. Οι αιμορροφιλικοί ασθενείς μολύνθηκαν από σκευάσματα συμπυκνωμένων παραγόντων που εισήχθησαν την εποχή εκείνη από Αμερική και Γαλλία, έτσι η κατανομή των γονοτύπων της ομάδας αντανακλά τους προεξάρχοντες γονοτύπους την εποχή της λοίμωξης στις χώρες προέλευσης.

Στη μελέτη αυτή διαπιστώθηκε υψηλό ποσοστό χρονιότητας των ασθενών που μολύνθηκαν με HCV, υψηλότερο από το αναφερόμενο παγκοσμίως (Alter et al 1992, Puoti et al, 1992). Το γεγονός αυτό μπορεί να οφείλεται στο ότι ο πληθυσμός της μελέτης ήταν σχεδόν αποκλειστικά ανδρικός και ο προεξάρχον γονότυπος ήταν ο 1, παράγοντες που έχουν συσχετιστεί με ελαττωμένη δυνατότητα κάθαρσης του HCV. (Lehmann M et al, 2004). Μία βασική αιτία του συνολικά υψηλού ποσοστού χρονιότητας είναι το μηδενικό ποσοστό κάθαρσης που εμφανίζουν οι ασθενείς με συλλοίμωξη. Έχει αποδειχθεί ότι η ειδική κυτταρική ανοσιακή απάντηση των CD4 λεμφοκυττάρων είναι καθοριστική για την κάθαρση του ιού. Στους αιμορροφιλικούς ασθενείς η HCV λοίμωξη συνήθως έχει προηγηθεί ή συμπίπτει με την HIV λοίμωξη. Υπάρχουν ενδείξεις από μελέτες που παρακολούθησαν διαχρονικά την ειδική αντι-HCV απάντηση των CD4 λεμφοκυττάρων μετά από HIV λοίμωξη διαπίστωσαν ότι αυτή σταδιακά υποχωρεί με αποτέλεσμα, υποτροπή της HCV λοίμωξης να έχει σαν αποτέλεσμα χρονιότητα. Μία πιθανή λοιπόν ερμηνεία για το υψηλό ποσοστό χρονιότητας που εμφανίζουν τα άτομα με συλλοίμωξη, είναι ότι ακόμα και αν κάποιοι αρχικά είχαν πετύχει κάθαρση του ιού, η ταχεία ελάττωση του αριθμού των T βοηθητικών λεμφοκυττάρων και η ανοσοκαταστολή που επέφερε η λοίμωξη που ακολούθησε με τον HIV, να οδήγησαν σε απώλεια της ειδικής κυτταρικής ανοσίας και επανεμφάνιση HCV- RNA σε επόμενη έκθεση με τον HCV. (Kim et al, 2009).

#### *Εξέλιξη χρόνιας HCV λοίμωξης.*

Στην παρούσα μελέτη φάνηκε ότι οι αιμορροφιλικοί ασθενείς 30 χρόνια μετά την HCV λοίμωξη ανέπτυξαν τελικού σταδίου ηπατική νόσο (ESLD) σε ποσοστό 12%. Η επίπτωση αυτή διέφερε σημαντικά στην

ομάδα των ασθενών με συλλοίμωξη HCV/HIV, το ποσοστό της οποίας ήταν διπλάσιο από εκείνο των αιμορροφιλικών με μόνο HCV λοίμωξη (14,61% έναντι 7,64%) αποδεικνύοντας ότι η συλλοίμωξη είναι καθοριστικός παράγοντας έκβασης της νόσου. Υπάρχουν πολλές αναφορές στις οποίες περιγράφεται η φυσική ιστορία της HCV λοίμωξης σε άτομα με αιμορραγικές διαθέσεις. (Tefler et al, 1994, Makris et al, 1996, Darby et al, 1997, Yee et al, 2000, Goedert et al, 2002, Posthouwer et al, 2007). Στις μελέτες αυτές υπάρχουν αντικρουόμενα αποτελέσματα, αλλά αυτό πιθανώς οφείλεται στον τρόπο με τον οποίο ορίζεται η ηπατική νοσηρότητα, ή στις επιδημιολογικές διαφορές μεταξύ των ασθενών στις διάφορες σειρές. Σε κάποιες μελέτες σαν σοβαρή ηπατική βλάβη ορίζεται η κίρρωση, διαπιστωμένη είτε με κλινικά και απεικονιστικά κριτήρια είτε ιστολογικά. Παρά την ασυμφωνία αυτή φαίνεται ότι στις περισσότερες μελέτες, επιβεβαιώνεται η σχετικά χαμηλή συχνότητα εξέλιξης σε ESLD, καθώς και η διαφορά μεταξύ των ασθενών με και χωρίς HIV λοίμωξη. (Goedert et al, 2002, Postouwer et al, 2007).

Στην μελέτη αυτή επίσης διαπιστώθηκε ότι η θνησιμότητα χωρίς την εμφάνιση ESLD, που μελετήθηκε σαν παράγοντας ανταγωνιστικού κινδύνου, διέφερε επίσης σημαντικά μεταξύ των δύο ομάδων σε όλα τα χρονικά σημεία, γεγονός που αντανακλά τη μεγάλη θνησιμότητα της ομάδας των αιμορροφιλικών με συλλοίμωξη από σχετιζόμενα με το AIDS αίτια.

Όλα τα ανωτέρω αποτελούν ενδείξεις ότι οι δύο ομάδες των ασθενών ακολουθούν μία διαφορετική φυσική ιστορία, η οποία στην ομάδα των ασθενών με συλλοίμωξη επηρεάζεται από γεγονότα που καθορίζουν την πορεία της HIV λοίμωξης μεταξύ των οποίων η ανοσολογική απάντηση παίζει καθοριστικό ρόλο. Αυτή η διαφορετική

πορεία σε ασθενείς με συλλοίμωξη είχε παρατηρηθεί νωρίς στην πορεία της HIV λοίμωξης και σε άλλες ομάδες κινδύνου όπως οι ομοφυλόφιλοι και οι χρήστες ενδοφλέβιων ουσιών (Soto et al, 1997).

Η διαφορετική εξέλιξη της χρόνιας ηπατίτιδας C ήταν εμφανής από τα πρώτα χρόνια της παρακολούθησης των δύο ομάδων, όπως φαίνεται και από τα υψηλότερα ποσοστά επίμονης τρανσαμινασαιμίας στην ομάδα των ασθενών με συλλοίμωξη ή την συσχέτιση της ανοσοκαταστολής με την ηπατομεγαλία.

Εξέλιξη σε ESLD και θάνατο από ηπατικό αίτιο εμφάνισαν νωρίς στην πορεία της HCV λοίμωξης μόνο οι ασθενείς με συλλοίμωξη. Παρόλο που μέχρι το 1996 οι κύριες αιτίες θανάτου των ασθενών με συλλοίμωξη ήταν ευκαιριακές λοιμώξεις, μεταξύ των αιτιών θανάτου που δεν σχετίζονταν με το AIDS, πιο συχνές ήταν η ηπατική ανεπάρκεια και η εγκεφαλική αιμορραγία. Την περίοδο αυτή, πριν την έναρξη της HAART, 7 ασθενείς απεβίωσαν λόγω ηπατικής ανεπάρκειας (Touloumi et al, 1998). Όλοι είχαν πολύ χαμηλά CD4, κανείς όμως δεν είχε εμφανίσει AIDS. Σαν πιθανή αιτία της οξείας επιβάρυνσης της ηπατικής λειτουργίας σε 5 από αυτούς θεωρείται η τοξική δράση του AZT. Πολλές αναφορές στη βιβλιογραφία συσχετίζουν τη χορήγηση AZT με μιτοχονδριακή τοξικότητα μαζική λιπώδη διήθηση και γαλακτική οξέωση (Sundar etl al. 1997, Chariot P et al 1999).

### *Συσχέτιση της ανοσοκαταστολής με την βαρύτητα της ηπατικής βλάβης*

Διάφορες μελέτες διαπιστώνουν ταχύτερη εξέλιξη σε ίνωση των ασθενών με συλλοίμωξη, χωρίς να υπάρχουν σαφείς ενδείξεις για την παθοφυσιολογία της ταχύτερης εξέλιξης. Με σκοπό να μελετήσουμε τον τρόπο επίδρασης των διαφόρων παραμέτρων της ανοσολογικής



κατάστασης των ασθενών με συλλοίμωξη στην ταχύτερη εξέλιξη σε ίνωση, διερευνήσαμε τη βαρύτητα της ηπατικής ιστολογίας σε 21 ασθενείς που δέχθηκαν να υποβληθούν σε διαδερμική βιοψία ήπατος. Στην ιστολογική αυτή μελέτη των ασθενών με συλλοίμωξη, 20 χρόνια μετά την HCV λοίμωξη, 29% των ασθενών είχαν αναπτύξει κίρρωση, και 28% είχαν αλλοιώσεις μέτριας ηπατίτιδας συχνότητα διπλάσια της αναφερόμενης σε μελέτη ανοσοεπαρκών ασθενών στην Ελλάδα (Delladetsima et al, 1996). Δεν ήταν δυνατή η συγκριτική μελέτη με τους HIV αρνητικούς αιμορροφιλικούς ασθενείς γιατί αποφασίστηκε να μην εκτεθούν οι ασθενείς σε κίνδυνο αιμορραγίας. Παρόλο που από πολύ νωρίς η αυξημένη συχνότητα λοιμώξεων με ιούς ηπατίτιδας κατέστησε επιστημονικά αναγκαία της διερεύνησης της ηπατικής ιστολογίας με αποτέλεσμα αρκετές αναφορές (Mannucci PM et al, 1978, Preston et al, 1978), η διαδερμική βιοψία ήπατος αποτέλεσε για χρόνια αντικείμενο συζήτησης, λόγω της αυξημένης πιθανότητας αιμορραγίας (Aledort et al, 1985, Hanley et al, 1996) και του κόστους της θεραπείας υποκατάστασης. Έχουν προταθεί διάφορες εναλλακτικές μη επεμβατικές μέθοδοι διερεύνησης της ηπατικής δυσλειτουργίας, τα τελευταία όμως χρόνια, η ηπατική ίνωση στους αιμορροφιλικούς ασθενείς, εκτιμάται με μη επεμβατικές μεθόδους όπως είναι η ελαστογραφία (Maor Y, 2010, Kitson M, 2011).

Σύμφωνα με βιβλιογραφικά δεδομένα τα επίπεδα του HCV –RNA αυξάνουν σημαντικά μετά την HIV λοίμωξη και συσχετίζονται αρνητικά με τα επίπεδα των CD4 (Eyster, 1994). Στην μελέτη αυτή τα επίπεδα του HCV- RNA ήταν υψηλότερα στους ασθενείς με βαρύτερη ανοσοκαταστολή. Παρόλα αυτά όπως και σε άλλες μελέτες (Ahmed M, 1999), η βαρύτητα της νεκροφλεγμονώδους δραστηριότητας δεν συσχετίστηκε με τα επίπεδα του HCV- RNA , ένδειξη ότι δεν υπάρχει

άμεση παθογενετική συμμετοχή του ιού. Αντίθετα, η απουσία γονοτύπου 1 συσχετίστηκε με λιγότερο προχωρημένο στάδιο ίνωσης, ακόμα και όταν ελήφθη υπόψη η διάρκεια της HCV λοίμωξης. Ενώ είναι σαφής η αρνητική προγνωστική αξία του γονοτύπου 1 στην απάντηση στην αντι-HCV θεραπεία, υπάρχουν αντικρουόμενα αποτελέσματα όσον αφορά την επίδραση του γονοτύπου στην εξέλιξη της ηπατίτιδας (Romeo R, 1996, Gordon FD, 1997). Εκτός από τον πιθανό ρόλο του γονοτύπου 1 σε μια ταχύτερη πορεία της HCV λοίμωξης, φαίνεται ότι και άλλοι παράγοντες μπορεί να εμπλέκονται στην παθογενετική εξέλιξη.

Ένα σημαντικό εύρημα που προέκυψε από τη μελέτη αυτή είναι η θετική συσχέτιση μεταξύ του αριθμού των CD4 κυττάρων, τόσο του περιφερικού αίματος, όσο και του ηπατικού ιστού, με την νεκροφλεγμονώδη δραστηριότητα. Ειδικότερα ηπατίτιδα ελάχιστων αλλοιώσεων βρέθηκε μόνο σε ασθενείς με πολύ χαμηλά CD4, ενώ οι βιοψίες των ασθενών με CD4 >200 παρουσίαζαν ήπια και μέτρια ηπατίτιδα. Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν και με άλλη μελέτη στην οποία άτομα με CD4 <400/μL, παρουσίασαν σημαντικά χαμηλότερο βαθμό πυλαίας φλεγμονής και περιπυλαίας ηπατίτιδας (Guido et al, 1994). Τα ευρήματα αυτά προσφέρουν ενδείξεις για ανοσολογικού τύπου ηπατική βλάβη που συμβαίνει στα πρώτα στάδια της HIV λοίμωξης και ενισχύουν την άποψη ότι η συνύπαρξη των δύο ιών επιβαρύνει την πορεία την ηπατίτιδας μέσω ανοσολογικού μηχανισμού. Η άποψη αυτή ενισχύεται από τις παρατηρήσεις αύξησης των τρανσαμινασών και περιστατικών μη αντιρροπούμενης κίρρωσης μετά την έναρξη της HAART ταυτόχρονα με την αύξηση των CD4 και των CD8 λεμφοκυττάρων (Sulkowski et al 2002). Αντίθετα ο αποπτωτικός θάνατος των ηπατικών κυττάρων δεν συσχετίστηκε με την δραστηριότητα της ηπατίτιδας και την ανοσοκαταστολή, αλλά με το φορτίο του HCV.

Τελευταίες μελέτες έχουν αποδείξει ότι η συνύπαρξη των δύο ιών προάγει τον αποπτωτικό θάνατο των ηπατοκυττάρων κυρίως μέσω δράσης του υψηλού φορτίου του HCV και επιδεινώνει την ίνωση (Jang JY et al. 2011).

#### *Επίδραση της HAART στην πορεία της HCV λοίμωξης*

Σημαντική χρονική στιγμή στην επιβίωση των HIV θετικών ασθενών ήταν η εισαγωγή της εντατικοποιημένης τριπλής αντιρετροϊκής θεραπείας (HAART). Μετά την έναρξη της χορήγησης HAART στα άτομα με HIV λοίμωξη, άλλαξε δραματικά η φυσική ιστορία της (Mocroft et al, 1998, Palella et al, 1998), καταστέλλοντας τον πολλαπλασιασμό του HIV και προκαλώντας αποκατάσταση του ανοσολογικού συστήματος, με αποτέλεσμα την ελάττωση των ευκαιριακών λοιμώξεων και τη θνησιμότητα από AIDS (Bonnet et al, 2002).

Στην Ελλάδα η χορήγηση HAART ξεκίνησε το δεύτερο εξάμηνο του 1996 και στους αιμορροφιλικούς ασθενείς χορηγήθηκε από τον Οκτώβριο 1996. Παρόλο που η θνησιμότητα από AIDS μειώθηκε κατά 56% σε περίοδο 7 χρόνων σε σχέση με την περίοδο προ HAART (Katsarou et al. 2005), στο χρονικό αυτό διάστημα, παρατηρήθηκε, αύξηση των μη AIDS θανάτων κατά 4 φορές. Η αύξηση αυτή αφορούσε όλες τις ηλικιακές ομάδες, ενώ προεξάρχουσα αιτία θανάτου ήταν η ESLD. Την περίοδο εκείνη τρεις από τους μη AIDS θανάτους οφείλονταν σε σηπτικό σοκ. Καθώς το σηπτικό σοκ δεν είναι συνήθης αιτία θανάτου σε HIV θετικούς ασθενείς, ιδιαίτερα στη μετά HAART περίοδο, οι θάνατοι αυτοί μπορούν να αποδοθούν στην σοβαρή ηπατική νόσο των ασθενών. Η σήψη σε συνδυασμό με ηπατική δυσλειτουργία, δημιουργούν ένα προφλεγμονώδες περιβάλλον, το οποίο οδηγεί σε διαταραχές της

κυκλοφορίας, ισχαιμική βλάβη και τέλος σε πολυοργανική ανεπάρκεια, όπου η δυσλειτουργία των επινεφριδίων έχει κομβικό ρόλο (Harry R et al, 2002,). Λαμβάνοντας υπόψη τους ανωτέρω μηχανισμούς, οι θάνατοι με αίτιο το σηπτικό σοκ μπορούν να ενταχθούν στα περιστατικά ESLD στην παθοφυσιολογική βάση της οξείας – επι – χρόνιας ηπατικής ανεπάρκειας (Sen S et al 2002).

Πολλές μελέτες ανέφεραν επίσης αύξηση των θανάτων από ESLD μετά την έναρξη της HAART (Greub G et al, 2000, Bonnet et al, 2002). Η αύξηση της ηπατικής νοσηρότητας μετά HAART θα μπορούσε να αποδοθεί στην αύξηση της επιβίωσης από την HIV λοίμωξη, παρόλα αυτά η εμφάνιση επιβάρυνσης της ηπατικής λειτουργίας σε σχετικά μικρό χρόνο μετά την έναρξη της HAART και λαμβάνοντας υπόψιν αναφορές για αυξημένη ηπατοτοξικότητα (Den Brinker et al, 2000, Nuner et al, 2001), θεωρήθηκε αναγκαία στη μελέτη η διερεύνηση πιθανής ηπατοτοξικότητας από χορήγηση HAART και των αιτίων της.

#### *Ηπατοτοξικότητα μετά χορήγηση HAART*

Ένα αρκετά μεγάλο ποσοστό ασθενών (40%) μετά την έναρξη της HAART παρουσίασε ήπια αύξηση τρανσαμινασών. Το ποσοστό αυτό στους αιμορροφιλικούς ασθενείς με συλλοίμωξη, ήταν αρκετά υψηλότερο από αυτό που αναφέρθηκε σε ασθενείς με μόνο HIV λοίμωξη (Sulkowski et al, 2000, Kovari et al, 2010). Αντίθετα σοβαρή ηπατοτοξικότητα παρουσιάστηκε σε μικρό αριθμό ασθενών, ενώ λίγοι ήταν και αυτοί που χρειάστηκε να διακόψουν τη θεραπεία. Τα ποσοστά αυτά ήταν παρόμοια με αυτά που αναφέρονται σε άλλες ομάδες κινδύνου όπως οι χρήστες ενδοφλέβιων ουσιών (Puoti et a, 2003).

Τα σχήματα που μελετήθηκαν συγκριτικά δεν διέφεραν ως προς την ήπια ηπατοτοξικότητα. Αντίθετα παρατηρήθηκε σαφής αύξηση των

ποσοστών σοβαρής τοξικότητας, στους ασθενείς που έλαβαν το μη νουκλεοσιδικό ανάλογο νεβιραπίνη. Ο κίνδυνος εμφάνισης μεγάλης αύξησης τρανσαμινασών ήταν τετραπλάσιος μετά χορήγηση νεβιραπίνης και διπλάσιος μετά χορήγηση του αναστολέα πρωτεάσης ritonavir σε σχέση με τα άλλα θεραπευτικά σχήματα. Καθώς η νεβιραπίνη, έχει συσχετιστεί με αντιδράσεις υπερευαισθησίας, η αύξηση των τρανσαμινασών μετά λήψη νεβιραπίνης, θεωρείται συμπτωματολογία του αλλεργικού αυτού συνδρόμου (Stern J et al 2003).

Η αύξηση αυτή των τρανσαμινασών μετά χορήγηση HAART, αποδόθηκε από κάποιους ερευνητές, στην ανοσιακή απάντηση που προκαλείται μετά την αποκατάσταση του ανοσολογικού συστήματος από την αύξηση των CD4, αναφέρεται δε σαν ένα αίτιο συνδρόμου ανοσολογικής αποκατάστασης (IRIS). (Chung et al. 2002). Άλλοι έχουν συσχετίσει την αύξηση των τρανσαμινασών με τον γονότυπο 3 (Maida et al., 2006), σαν εκδήλωση λιπώδους διήθησης. Στους ασθενείς μας η μελέτη προγνωστικών παραγόντων δεν απέδειξε θετική συσχέτιση με την αύξηση των CD4, ενώ η επίδραση του γονοτύπου δεν ήταν δυνατό να διερευνηθεί λόγω του μικρού αριθμού ασθενών με γονότυπο 3. Στις περισσότερες περιπτώσεις ήπιας ηπατοτοξικότητας η αύξηση των τρανσαμινασών ήταν παροδική και επανήλθε στα προ HAART επίπεδα.

#### *Αντι- HCV θεραπεία*

Η θεραπεία για την ηπατίτιδα C ακολούθησε χρονικά τις διεθνείς κατευθυντήριες οδηγίες και για την ομάδα των ασθενών με μόνο HCV λοίμωξη, είχε τα ίδια ποσοστά ανταπόκρισης με αυτά που αναφέρονται σε άλλες διεθνείς μελέτες σε άτομα με συγγενή αιμορραγική διάθεση. (Mancuso M et al 2006, Rahmani M et al 2009, Alavian SM et al 2010). Συνολικά 65,2% των ασθενών χωρίς HIV λοίμωξη εμφάνισαν SVR σε

διάφορα θεραπευτικά σχήματα, ποσοστό παρόμοιο με αυτό στο γενικό πληθυσμό. (Manns M et al, 2001, Fried M et al, 2002). Οι περισσότεροι ολοκλήρωσαν τα θεραπευτικά σχήματα χωρίς σοβαρές παρενέργειες.

Αντίθετα υπήρξε πτωχή ανταπόκριση στην ομάδα των ασθενών με συλλοίμωξη HCV/HIV. Τα ποσοστά ανταπόκρισης στην ομάδα αυτή ήταν χαμηλότερα από τα αναφερόμενα σε μελέτες μη αιμορροφιλικών ασθενών με συλλοίμωξη (Carrat F et al, 2004, Torriani F et al. 2004). Στην χαμηλή αυτή ανταπόκριση συνέβαλε το υψηλό ποσοστό διακοπής της θεραπείας λόγω ανεπιθύμητων αντιδράσεων, όπου η σύγχρονη χορήγηση HAART έπαιξε καθοριστικό ρόλο. Η συνδυασμένη χρήση D4T ή DDI με ριμπαβιρίνη έχει συσχετισθεί με μιτοχονδριακή τοξικότητα, και επιβάρυνσης της ηπατικής λειτουργίας (Garcia – Benayas et al, 2002, Mauss et al 2004, Bani-Sadr F et al 2008). Επιπλέον η χρήση του AZT ταυτόχρονα με την αντι-HCV θεραπεία, πολλαπλασιάζει τις αιματολογικές διαταραχές και αναγκάζει σε ελάττωση της δόσης με συνέπεια κακή ανταπόκριση (Mc Hutchison J et al 2002). Οι παρατηρήσεις αυτές οδήγησαν σε σύνταξη και δημοσίευση κατευθυντήριων οδηγιών για τη σωστή αντιμετώπιση των ασθενών (Soriano et al, 2004), που δημοσιεύθηκαν μετά την χορήγηση θεραπείας στους αιμορροφιλικούς ασθενείς μας. Επιπλέον στην ομάδα των ασθενών πέραν της συλλοίμωξης με τον HIV συνυπήρχαν πολλαπλοί αρνητικοί προγνωστικοί παράγοντες για ανταπόκριση στη θεραπεία. Οι ασθενείς ήταν όλοι άνδρες, με προχωρημένη ίνωση, όπως είχε αποδειχθεί ήδη από προηγούμενη ιστολογική μελέτη (Delladetsima et al, 1996), με μακροχρόνια HCV λοίμωξη και με προεξάρχοντα γονότυπο 1 (53%). Άλλη μια αιτία πτωχής ανταπόκρισης στην αντι HCV θεραπεία είναι το μεταβολικό σύνδρομο και η αντίσταση στην ινσουλίνη. Τελευταίες μελέτες έχουν αποδείξει ότι το μεταβολικό σύνδρομο είναι ένας από τους

σημαντικότερους παράγοντες κακής ανταπόκρισης (Romero-Gomez et al 2005, Younossi et al, 2009). Οι ασθενείς με συλλοίμωξη έχει αποδειχθεί ότι παρουσιάζουν αντίσταση στην ινσουλίνη απότοκη της αντιρετροϊκής θεραπείας (Palacios R et al, 2006, Loko M et al, 2011). Στη μελέτη του Loko και συνεργατών, που έγινε σε 670 ασθενείς με συλλοίμωξη, φάνηκε ότι η προχωρημένη ίνωση συσχετίστηκε με ανδρικό φύλο, μεγαλύτερο χρόνο αντιρετροϊκής θεραπείας και αντίσταση στην ινσουλίνη.

Παρόμοια χαμηλά ποσοστά ανταπόκρισης και τοξικότητας στην αντι- HCV θεραπεία με αυτά της μελέτης μας, έχουν βρεθεί και σε άλλες μελέτες σε αιμορροφιλικούς ασθενείς με συλλοίμωξη (Maor et al 2008).

Λόγω της χαμηλής ανταπόκρισης των ασθενών με συλλοίμωξη, η διερεύνηση των γνωστών προγνωστικών παραγόντων για ανταπόκριση στη θεραπεία αφορά κυρίως την ομάδα των HIV αρνητικών ασθενών. Στην ομάδα αυτή οι γονότυποι 1 και 4 συσχετίστηκαν με κακή ανταπόκριση συγκριτικά με τους άλλους γονοτύπους. Στους ασθενείς που αντιμετωπίστηκαν με Peg IFN και ριμπαβιρίνη, η μείωση του ιικού φορτίου  $>2 \log^{10}$  στις 12 εβδομάδες ήταν ο πιο ισχυρός παράγοντας για SVR.

#### *Διερεύνηση προγνωστικών παραγόντων στην εξέλιξη της HCV λοίμωξης*

Από τους παράγοντες που διερευνήθηκαν με πολυπαραγοντική ανάλυση η ηλικία κατά την HCV ορομετατροπή αποδείχθηκε ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου για ανάπτυξη ESLD, ενώ η συλλοίμωξη με τον HIV αποδείχθηκε ως ο πλέον σοβαρός κίνδυνος για δυσμενή εξέλιξη εφόσον αυξάνει κατά 10 περίπου φορές τον κίνδυνο για εμφάνιση επεισοδίου ESLD. Το ενθαρυντικό όμως στην ανάλυση αυτή είναι η μεγάλη ελάττωση του κινδύνου αυτού στους ασθενείς που έχουν πάρει σταθερή θεραπεία με HAART. Όταν η ομάδα αυτή αναλύθηκε

ξεχωριστά βρέθηκε ότι η σταθερή χρήση HAART για περίοδο πάνω από 3 μήνες ελαττώνει τον κίνδυνο ανάπτυξης ESLD περισσότερο από 80%. Ευνοϊκές ενδείξεις από τη χρήση της HAART στην εξέλιξη της ηπατικής ίνωσης έχουν ανακοινωθεί σε αρκετές μελέτες (Quirshi et al 2003, Brau et al 2006, Pineda et al, 2009), ενώ ανασκόπηση μελετών από τους Thein και συνεργάτες, διαπίστωσε ταχύτερη εξέλιξη σε κίρρωση σε ασθενείς με συλλοίμωξη που δεν έλαβαν HAART έναντι εκείνων που έλαβαν (Thein H et al, 2008). Ανάλογη μελέτη σε κοόρτη αιμορροφιλικών ασθενών είχε παρόμοια ευρήματα. Στη μελέτη αυτή ο διάμεσος χρόνος χωρίς ESLD ήταν 30 χρόνια για τους ασθενείς που πήραν HAART, παρόμοια με των HIV αρνητικών ασθενών, έναντι των 20 χρόνων για τους ασθενείς χωρίς HAART. (Ragni M et al, 2009). Οι μηχανισμοί που προκαλούν αυτή την ευεργετική επίδραση της HAART στην εξέλιξη της HCV λοίμωξης δεν είναι ακόμα πλήρως διευκρινισμένοι. Υπάρχουν όμως ενδείξεις, ότι ελαττώνει την νεκροφλεγμονώδη δραστηριότητα στο ήπαρ (Pascual-Pareja J et al, 2009). Πιθανοί μηχανισμοί μπορεί να είναι η ελάττωση του πολλαπλασιασμού του HIV στο ήπαρ, ή/και η μείωση των επιπέδων των προφλεγμονωδών κυτταροκινών που παράγονται από τη συνάθροιση των CD8 κυττάρων (Sitia G et al, 2006, Kuntzen T et al, 2008).

Στη μελέτη αυτή δεν καταδείχθηκε ότι η θεραπεία της HCV λοίμωξης, ελαττώνει σημαντικά τον κίνδυνο για ανάπτυξη ESLD, είναι όμως πιθανό το αποτέλεσμα να οφείλεται στο μικρό αριθμό των συνολικά θεραπευθέντων και στα πολύ χαμηλά ποσοστά ολοκλήρωσης της θεραπείας και ανταπόκρισης στην ομάδα των HIV θετικών ατόμων.



## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Σε ομάδα 324 HCV θετικών ασθενών με συγγενή αιμορραγική διάθεση από τους οποίους 160 είχαν συλλοίμωξη με HIV και γνωστές ημερομηνίες οροετατροπής και για τις δύο λοιμώξεις, μελετήθηκε η φυσική ιστορία της χρόνιας ηπατίτιδας για διάμεσο χρόνο 23,7 (IQR 16,1, 30,5) έτη από την HCV ορομετατροπή και τελικό σημείο έκβασης το πρώτο επεισόδιο ESLD ή θάνατο χωρίς εμφάνιση ESLD.

— Η αθροιστική συχνότητα εμφάνισης ESLD σε διάστημα 30 χρόνων από την ορομετατροπή, ήταν στην ομάδα των αιμορροφιλικών σχετικά χαμηλή (12%), αλλά ήταν διπλάσια στους ασθενείς με HIV συλλοίμωξη. Από την ιστολογική μελέτη των βιοψιών ήπατος των ασθενών με συλλοίμωξη, διαπιστώθηκε θετική συσχέτιση της νεκροφλεγμονώδους δραστηριότητας του ήπατος με τον αριθμό των CD4 κυττάρων, ένδειξη για επιβάρυνση της ηπατικής λειτουργίας μέσω ανοσολογικού μηχανισμού.

— Η μελέτη των παραγόντων κινδύνου για ανάπτυξη ESLD, απέδειξε σαν ανεξάρτητους παράγοντες κινδύνου την ηλικία κατά την HCV ορομετατροπή και η HIV λοίμωξη.

— Δεν διαπιστώθηκε σοβαρή ηπατοξικότητα από την χρήση HAART. Αντίθετα η χορήγηση σταθερού σχήματος HAART για περισσότερο από 3 μήνες, ελάττωσε τον κίνδυνο για ESLD στους ασθενείς με συλλοίμωξη πάνω από 80%.

— Η θεραπεία έναντι της HCV λοίμωξης είχε παρόμοια ασφάλεια και αποτελεσματικότητα με τις άλλες ομάδες κινδύνου μόνο στους ασθενείς χωρίς HIV λοίμωξη. Αντίθετα η ομάδα των ασθενών με συλλοίμωξη παρουσίασε πολύ χαμηλά ποσοστά ανταπόκρισης και αυξημένη τοξικότητα.

— Τα ευρήματα αυτά της μελέτης συνηγορούν για ευεργετική επίδραση έγκαιρης και αποτελεσματικής HAART στην ομάδα των

ασθενών με συλλοίμωξη. Τα πρωτόκολλα της αντι – HCV θεραπείας έχουν θέση στην αντιμετώπιση των αιμοροφιλικών χωρίς HIV λοίμωξη, ενώ για τους HIV θετικούς ασθενείς απαιτούνται αυστηρά κριτήρια ένταξης.

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η χρόνια ηπατίτιδα C (CHC) καθώς και η συλλοίμωξη με HIV αποτελούν συχνές αιτίες νοσηρότητας και θνησιμότητας στην ομάδα των αιμορροφιλικών ασθενών. Σκοπός της μελέτης αυτής ήταν να μελετηθεί η φυσική ιστορία της ηπατίτιδας C, σε κοόρτη HCV θετικών Ελλήνων αιμορροφιλικών και να διερευνηθεί η επίδραση της HIV λοίμωξης στην εξέλιξή της.

Μελετήθηκαν προοπτικά 324 ασθενείς με χρόνια HCV λοίμωξη από τους οποίους 160 (49,4%) με HIV συλλοίμωξη. Εκτιμήθηκε η αθροιστική πιθανότητα της εμφάνισης σοβαρής ηπατικής νοσηρότητας (ESLD) και του μη σχετιζόμενου με το ήπαρ θανάτου, συγκριτικά στις δύο ομάδες με τη μεθοδολογία ανταγωνιστικών κινδύνων. Στους ασθενείς με συλλοίμωξη διερευνήθηκαν η σημασία ιολογικών και επιδημιολογικών παραγόντων στη βαρύτητα της ιστολογικής βλάβης και η επίδραση της HAART στην εξέλιξη της HCV λοίμωξης. Εφαρμόστηκε ημιπαραμετρικό μοντέλο αναλογικών ανά-αιτία κινδύνων, για την εκτίμηση της επίδρασης διαφόρων παραγόντων στην εξέλιξη της CHC. Τέλος εκτιμήθηκε η ανταπόκριση των δύο ομάδων στην αντι- HCV θεραπεία.

Ο αθροιστικός κίνδυνος (95% CI) ανάπτυξης ESLD 30 χρόνια από την HCV λοίμωξη, ανήλθε συνολικά στο 12% (4,2%,15,8%). Η HIV λοίμωξη ήταν καθοριστικός παράγοντας κακής εξέλιξης. Οι ασθενείς με συλλοίμωξη παρουσίασαν μεγαλύτερο ποσοστό συμβάντων ESLD από τους ασθενείς με μόνο HCV λοίμωξη, [22 (13,8%) vs. 12 (7,3%)] και στατιστικά υψηλότερο κίνδυνο για ESLD σε 20 (1,29% vs. 8,12%), 25 ((3.92 % vs. 12.37 %) και 30 (7.64 % vs. 14.61 %) χρόνια από την HCV

ορομετατροπή. ΗΚΚ διαπιστώθηκε σε ποσοστό 1,9% των ασθενών αποκλειστικά στην ομάδα των HIV αρνητικών. Η θετική συσχέτιση του βαθμού ηπατίτιδας με τα επίπεδα των CD4 στην ιστολογική μελέτη των HIV θετικών, αποτελεί ένδειξη ότι η ηπατική βλάβη προκαλείται στο ήπαρ μέσω ανοσολογικού μηχανισμού στη φάση της ανοσοεπάρκειας. Η επίδραση της HAART στους ασθενείς με συλλοίμωξη ήταν ευεργετική στην εξέλιξη της HCV λοίμωξης. Παρά την ήπια παροδική ηπατοτοξικότητα στους πρώτους μήνες χορήγησης, η αποκατάσταση του ανοσολογικού συστήματος οδήγησε σε σημαντική ελάττωση του κινδύνου (81,9%) για ESLD ( $p=0.001$ ), ώστε να πλησιάζει αυτόν των HIV αρνητικών. Η ασφάλεια και αποτελεσματικότητα της HCV θεραπείας στους ασθενείς με μονολοίμωξη ήταν παρόμοια με τις άλλες ομάδες HCV θετικών ασθενών. Αντίθετα στην ομάδα των HIV θετικών, η απάντηση ήταν πτωχή με μεγάλα ποσοστά τοξικότητας. Συμπεράσματα: Οι Έλληνες αιμορροφιλικοί παρουσιάζουν υψηλή συχνότητα HCV λοίμωξης και χρόνιας ηπατίτιδας C. Η συνολική πιθανότητα εμφάνισης ESLD 30 χρόνια μετά τη λοίμωξη είναι σχετικά χαμηλή (12%), σαφώς μεγαλύτερη όμως στους ασθενείς με συλλοίμωξη. Η συνεργική δράση των δύο ιών στην ομάδα αυτή επιταχύνει την ηπατική βλάβη νωρίς στη φάση της ανοσοεπάρκειας, επομένως έγκαιρη και αποτελεσματική αντι- HIV θεραπεία, μπορεί να ελαττώσει τον κίνδυνο της HCV σχετιζόμενης νοσηρότητας και θανάτου. Η αντι-HCV θεραπεία έχει παρόμοια ασφάλεια και αποτελεσματικότητα με τις άλλες ομάδες κινδύνου, μόνο στην ομάδα των ασθενών με μονολοίμωξη.

## **ABSTRACT**

Chronic hepatitis C (CHC) is a common cause of morbidity and mortality among haemophiliacs. Coinfection with HIV, almost at the same time point, aggravates the course of HCV infection to ESLD and HCC. Aim of this study was to evaluate the natural history of HCV infection in a cohort of Greek haemophilia patients and investigate the impact of HIV infection in HCV progression.

A total of 324 haemophilia patients with CHC and known seroconversion dates were followed up prospectively, among them 160 (49,4%) coinfecting with HIV. The cumulative incidence of ESLD and death without ESLD was estimated using competing risks methodology. In coinfecting patients, the relative importance of several virological and epidemiological factors in the histologically determined severity of CHC was investigated. The Cox proportional hazards model was used to investigate factors' effects on the cause-specific hazards of both endpoints. Finally the response to different anti- HCV regimen was evaluated in both groups.

The estimated cumulative incidence (95% CI) of ESLD at 30 years was 12%. (4,2%,15,8%) In total, 34 (10.5%) patients progressed to ESLD, 22 of them among the coinfecting. HIV infection was a strong determinant of negative outcome. Cumulative incidence of ESLD was higher in HCV/HIC coinfecting than in HCV monoinfected patients irrespectively of the years passed from HCV seroconversion. HCC was diagnosed in 1,9% of the patients, exclusively in the HIV negative group.

In liver histology a significant positive association of hepatitis grade with CD4 level was observed, suggesting that coinfection may aggravate the

course of hepatitis, most probably through an immune mediated process. The impact of HAART in coinfecting patients had beneficial effect in HCV infection course. While a mild transient hepatotoxicity was observed during the first months after HAART initiation, immune recovery resulted in significant reduction (81,9%) of cause specific hazard for ESLD ( $p=0.001$ ). In fact, there was no statistically significant difference in CSH of ESLD between monoinfected individuals and HCV/HIV coinfecting patients with stable HAART ( $p\text{-value}=0.413$ ). Treatment for HCV infection was found to be safe and effective in HIV negative patients, with response rates similar to other HCV positive groups, in contrast to coinfecting patients, where, very low response rate and high incidence of adverse events was found.

Conclusions: Greek Haemophilia patients present a high incidence of HCV infection and CHC. The cumulative incidence of ESLD 30 years after HCV infection is relatively low, but higher among coinfecting patients. An early and potent anti-HIV therapy in this group of patients, before the occurrence of immunosuppression, may reduce the rate of HCV morbidity and mortality. Anti-HCV therapy has similar safety and response rate to other risk groups only in monoinfected patients.

## BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ

- Aalen O and Johansen S.(1978) An empirical transition matrix for non-homogeneous Markov chains based on censored observations. *Scandinavian Journal of Statistics*; **5**:141–150.
- Ahmed MM, Mutimer DJ, Martin B, Elias E, Wilde JT. (1999) Hepatitis C viral load, genotype and histological severity in patients with bleeding disorders. *Haemophilia*. Jan;5 (1):49-55
- Alavian SM, Tabatabaei SV, Keshvari M, Behnava B, Miri SM, Elizee PK, Lankarani KB.(2010) Peginterferon alpha-2a and ribavirin treatment of patients with haemophilia and hepatitis C virus infection: a single-centre study of 367 cases. *Liver Int*. 30(8):1173-80.
- Aledort LM, Levine PH, Hilgartner M, Blatt P, Spero JA, Goldberg JD, Bianchi L, Desmet V, Scheuer P, Popper H, & Berck P. (1985).A study of liver biopsies and liver disease among hemophiliacs.*Blood* ;**66**:367-72.
- Aledort LM. (2007) History of haemophilia. *Haemophilia*. Dec;13 Suppl 5:1-2.
- Alter MJ, Margolis HS, Krawczynski K, Judson FN, Mares A, Alexander WJ, Hu PY, Miller JK, Gerber MA, Sampliner RE, (1992). The natural history of community-acquired hepatitis C in the United States. *N Engl J Med*;**327**:1899-905
- Agnello V, De Rosa FG. (2004) Extrahepatic disease manifestations of HCV infection: some current issues. *J Hepatol*; **40**: 341-352.
- Aranzabal L, Casado JL, Moya J, et al. (2005). Influence of liver fibrosis on HAART- associated hepatotoxicity in patients with HIV and HCV coinfection. *Clin Infect Dis* 40:588-93.
- Bakoyannis G and Touloumi G. (2012) Practical methods for competing risks data: A review. *Statistical Methods in Medical Research*; **21**:257–272.
- Bani-Sadr F, Lapidus N, Bedossa P, De Boever CM, Perronne C, Halfon P, Pol S, Carrat F, Cacoub P; (2008) French National Agency for Research on AIDS; Viral Hepatitis-HC02-Ribavirin Study Team. Progression of fibrosis in HIV and hepatitis C virus-coinfected patients treated with interferon plus ribavirin-based therapy: analysis of risk factors. *Clin Infect Dis*, 46(5):768-74.

- Beyersmann J, Dettenkofer M, Bertz H and Schumacher M. (2007) A competing risks analysis of bloodstream infection after stem-cell transplantation using subdistribution hazards and cause-specific hazards. *Statistics in Medicine*; **26**:5360–5369.
- Bedossa P, Poynard T. The METAVIR cooperative study group. (1996). An Algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C. *Hepatology*; **24**:289-293.
- Benhamou Y, Bochet M, Di Martino V, Charlotte F, Azria F, Coutellier A, Vidaud M, Bricaire F, Opolon P, Katlama C, Poynard T. (1999) Liver fibrosis progression in human immunodeficiency virus and hepatitis C virus coinfecting patients. The Multivirc Group. *Hepatology*. Oct; **30**(4):1054-8.
- Bica I, McGovern B, Dhar R, Stone D, McGowan K, Scheib R, (2001). Increasing mortality due to end-stage liver disease inpatients with human immunodeficiency virus infection. *Clin Infect Dis*; **32**:492–497.
- Birkus G, Hitchcock M, Cihlar T. ((2002). Assessment of mitochondrial toxicity in human cells treated with tenofovir: comparison with other nucleoside reverse transcriptase inhibitors. *Antimicrob Agents Chemother*, **46**:716-23.
- Bonnet F, Morlat P, Chêne G, Mercié P, Neau D, Chossat I, Decoin M, Djossou F, Beylot J, Dabis F; Groupe d'Epidémiologie Clinique du SIDA en Aquitaine (GECSA). (2002) Causes of death among HIV-infected patients in the era of highly active antiretroviral therapy, Bordeaux, France, 1998-1999. *HIV Med*, **3**(3):195-9
- Borrow P, Lewicki H, Hahn BH, Shaw GM, Oldstone MB. (1994) Virus-specific CD8+ cytotoxic T-lymphocyte activity associated with control of viremia in primary human immunodeficiency virus type 1 infection. *J Virol*. Sep; **68**(9):6103-10.
- Brettler D, Alter J, Dienstag J, Forsberg A & Levine P. (1990) Prevalence of Hepatitis C Virus Antibody in a cohort of Hemophilia patients, *Blood*; **76**:254-256.
- Brettler D., Levine P, (1994). Clinical Manifestations and Therapy of Inherited Coagulation Factor Deficiencies, Hemostasis and Thrombosis, Basic Principles and Clinical Practice.



- Brenchley JM, Schacker TW, Ruff LE, (2004) *et al.* CD4+ T cell depletion during all stages of HIV disease occurs predominantly in the gastrointestinal tract. *J Exp Med*;200:749-59
- Brillanti S, Garson J, Foli M, Whitby K, E al, (1994) A pilot study of Combination Therapy with Ribavirin plus Interferon Alfa for Interferon Alfa – Resistant Chronic Hepatitis C, *Gasternterology*;107:812-817
- Bruno R. Sacchi P. Puoti M. et al. HCV chronic hepatitis in patients with HIV: clinical management issues. (2002) *American Journal of Gastroenterology*.; 97:1598-606
- Burger S, Poles MA. (2003) Natural history and pathogenesis of human immunodeficiency virus infection. *Semin Liver Dis* May;23(2):115-24.
- Carrat F, Bani-Sadr F, Pol S, Rosenthal E, Lunel-Fabiani F, Benzekri A, et al. A (2004) Randomized Controlled Trial of Pegylated Interferon alfa-2b plus Ribavirin versus Standard Interferon alfa-2b plus Ribavirin for Initial Treatment of Chronic Hepatitis C in HIV-infected Patients (RIBAVIC-ANRS HC02). *JAMA*;292:2839–48
- Centers for Disease Control. (1982) Pneumocystis carinii pneumonia among persons with hemophilia A. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*; 31: 365–7
- Centers for Disease Control and Prevention. (1992) 1993 revised classification system for HIV infection and expanded surveillance case definition for AIDS among adolescents and adults. *MMWR Recomm Rep*; 41(RR-17):1-19
- Chariot P, Drogou I, de Lacroix-Szmania I, Eliezer-Vanerot MC, Chazaud B, Lombès A, Schaeffer A, Zafrani ES. (1999) Zidovudine-induced mitochondrial disorder with massive liver steatosis, myopathy, lactic acidosis, and mitochondrial DNA depletion. *J Hepatol.* 30(1):156-60
- Chung RT, Evans SR, Yang Y, Theodore D, Valdez H, Clark R, Shikuma C, Nevin T, Sherman KE; . (2002) AIDS Clinical Trials Group 383 Study Team. Immune recovery is associated with persistent rise in hepatitis C virus RNA, infrequent liver test flares, and is not impaired by hepatitis C virus in co-infected subjects. *AIDS* 27;16(14):1915-23.
- Chung RT, Andersen J, Volberding P, Robbins GK, Liu T, Sherman KE, et al. (2004) PEG-interferon-alfa-2a plus ribavirin versus interferon-alfa-2a plus

- ribavirin for chronic hepatitis C virus infection in HIV-co-infected persons. *N Engl J Med*;351:451–9.
- Cooper DA, Gold J, Maclean P, Donovan B, Finlayson R, Barnes TG, Michelmore HM, Brooke P, Penny R. (1985) Acute AIDS retrovirus infection. Definition of a clinical illness associated with seroconversion. *Lancet*. Mar 9;1(8428):537-40.
- Cortese G and Anderen PK. (2009) Competing risks and time-dependent covariates. *Biometrical Journal*; **51**:138–158.
- Colombo M, Mannucci PM, Carnelli V, Savidge GF, Gazengel C, Schimpf K. (1985) Transmission of non-A non-B hepatitis by heat treated factor concentrates. *Lancet*;2:1-4
- Concorde: MRC/ANRS randomised double-blind controlled trial of immediate and deferred zidovudine in symptom-free HIV infection. (1994) Concorde Coordinating Committee. *Lancet*. Apr 9;343(8902):871-81
- Cribier B, Rey D, Schmitt C, Lang JM, Kirm A, StollKeller F. (1995) High hepatitis C viremia and impaired antibody response in patients coinfecting with HIV. *AIDS*, 9: 1131-6.
- Daar E, Lynn H, Donfield S. (2001) HCV load is associated with HIV-1 disease progression in hemophiliacs. *J Infect Dis*, 183: 589–595
- Dalglish AG, Beverley PC, Clapham PR, Crawford DH, Greaves MF, Weiss RA. (1984) The CD4 (T4) antigen is an essential component of the receptor for the AIDS retrovirus. *Nature*.;312:763-7.
- Darby SC, Ewart DW, Giangrande PL, Spooner RJ, Rizza CR, Dusheiko GM, et al. (1997) Mortality from liver cancer and liver disease in haemophilic men and boys in UK given blood products contaminated with hepatitis C. UK Haemophilia Centre Directors' Organisation. *Lancet*;350:1425–31.
- Davis GL, Balart LA, Schiff ER, Lindsay K, Bodenheimer HC Jr, Perrillo RP, Carey W, Jacobson IM, Payne J, Dienstag JL, (1989). Treatment of chronic hepatitis C with recombinant interferon alfa. A multicenter randomized, controlled trial. Hepatitis Interventional Therapy Group. *N Engl J Med*. 30;321(22):1501-6.

- Davis GL (1994) Prediction of response to interferon treatment of chronic hepatitis C *J Hepatol*;21:1-3.
- Delladetsima JK, Rassidakis G, Tassopoulos NC, Papatheodoridis GV, Smyrnoff T Vafiadis I (1996). Histopathology of chronic hepatitis C in relation to epidemiological factors. *J Hepatol*.;24(1):27-32
- den Brinker M, Wit FW, Wertheim-van Dillen PM, Jurriaans S, Weel J, van Leeuwen R, Pakker NG, Reiss P, Danner SA, Weverling GJ, Lange JM. (2000) Hepatitis B and C virus co-infection and the risk for hepatotoxicity of highly active antiretroviral therapy in HIV-1 infection. *AIDS*. Dec 22;14(18):2895-902.
- De Luca A, Bugarini R, Lepri AC, et al. (2002). Coinfection with hepatitis viruses and outcome of initial antiretroviral regimens in previously naïve HIV – infected subjects. *Arch intern Med*, 162:2125-2132
- Di Bisceglie AM, Martin P, Kassianides C, Lisker-Melman M, Murray L, Waggoner J, Goodman Z, Banks SM, Hoofnagle JH. (1989) Recombinant interferon alfa therapy for chronic hepatitis C. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *N Engl J Med*. 30;321(22):1506-10
- Di Bisceglie AM, Shindo M, Fong TL, Fried MW, Swain MG, Bergasa NV, Axiotis CA, Waggoner JG, Park Y, Hoofnagle JH (1992). A pilot study of ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *Hepatology*. 16(3):649-54
- Donahue JG, Muñoz A, Ness PM, Brown DE Jr, Yawn DH, McAllister HA Jr, Reitz BA, Nelson KE. (1992) The declining risk of post-transfusion hepatitis C virus infection. *N Engl J Med*. Aug 6;327(6):369-73.
- Evans D.I.K(1997)Twenty-one Years of Haemophilia, *Haemophilia*:3(sup 1) 17-39.
- Eyster ME, Diamondstone LS, Lien JM, Ehmann WC, Quan S, Goedert JJ. (1993) Natural history of hepatitis C virus infection in multitransfused hemophiliacs. Effect of coinfection with human immunodeficiency virus. Multicenter Hemophilia Cohort Study. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol*;6:602-610
- Eyster ME, Fried MW, Di Bisceglie AM, et al. (1994) Increasing hepatitis C virus RNA levels in hemophiliacs: relationship to human immunodeficiency virus infection and liver disease. Multicenter Hemophilia Cohort Study. *Blood* 84(4):1020-3,.

- Farci P, Purcell RH. (2000) Clinical significance of hepatitis C virus genotypes and quasispecies. *Semin Liver Dis.*;20(1):103-26.
- Federici AB, Berntorp E, Lee CA. (2006) The 80th anniversary of von Willebrand's disease: history, management and research. *Haemophilia*. Nov;12(6):563-72.
- Fletcher ML, Trowell JM, Craske J, Pavier K, Rizza CR. (1983) Non-A non-B hepatitis after transfusion of factor VIII in infrequently treated patients. *Br Med J (Clin Res Ed)*. 10;287:1754-7
- Franchini M, Mengoli C, Veneri D, Mazzi R, Lippi G, Cruciani M.(2008) Treatment of chronic hepatitis C in haemophilic patients with interferon and ribavirin: a meta-analysis. *J Antimicrob Chemother*. Jun, 61(6):1191-200.
- Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR, Smith C, Marinos G, Gonçalves FL Jr, Häussinger D, Diago M, Carosi G, Dhumeaux D, Craxi A, Lin A, Hoffman J, Yu J. (2002) Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 26;347(13):975-82.
- Galossi A Guarisco R, Bellis L, Puoti C (2007) Extrahepatic Manifestations of Chronic HCV Infection *J Gastrointest Liver Dis* ;16: 65-73
- Garcia-Benayas T, Blanco F, Soriano V. (2002) Weight loss in HIV-infected patients. *N Engl J Med*. 347(16):1287-8.
- Garcia-Samaniego J, Rodriguez M, Berenguer J, Rodriguez- Rosado R, Carbo J, Asensi V, et (2001). Hepatocellular carcinoma in HIV-infected patients with chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol*; 96:179–183.
- Garson JA, Brillanti S, Ring C, Perini P, Miglioli M, Barbara L. (1992) Hepatitis C viraemia rebound after "successful" interferon therapy in patients with chronic non-A, non-B hepatitis. *J Med Virol*. ;37(3):210-4.
- Ghany MG, Strader DB, Thomas DL, Seeff LB; (2009) AASLD Proactice Guidelines Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C: an update. *Hepatology*. Apr;49(4):1335-74

- Goedert J, Hatzakis A, Sherman K, Eyster M, (2001). Lack of association of HCV load and genotype with risk of end-stage liver disease in patients with HIV coinfection. *J Infect Dis*, 184: 1202-5.
- Goedert JJ, Eyster ME, Lederman MM, Mandalaki T, De Moerloose P, White GC 2nd, Angiolillo AL, Luban NL, Sherman KE, Manco-Johnson M, Preiss L, Leissinger C, Kessler CM, Cohen AR, DiMichele D, Hilgartner MW, Aledort LM, Kroner BL, Rosenberg PS, Hatzakis A. (2002) End-stage liver disease in persons with hemophilia and transfusion-associated infections. *Blood*.;100:1584-9
- Gogos CA, Fouka KP, Nikiforidis G, Avgeridis K, Sakellaropoulos G, Bassaris H, (2003). Prevalence of hepatitis B and C virus infection in the general population and selected groups in South-Western Greece. *Eur J Epidemiol.*; 18: 551-557
- Gordon FD, Poterucha JJ, Germer J, Zein NN, Batts KP, Gross JB Jr, Wiesner R, Persing D. (1997) Relationship between hepatitis C genotype and severity of recurrent hepatitis C after liver transplantation. *Transplantation*. 27;63(10):1419-23
- Goritsas C, Plerou I, Agaliotis S, Spinthaki R, Mimidis K, Velissaris D, (2000) . HCV infection in the general population of a Greek island: prevalence and risk factors. *Hepatogastroenterology.*; 47: 782-785.
- Greub G, Ledergerber B, Battegay M et al. (2000). Clinical progression, survival, and immune recovery during antiretroviral therapy in patients with HIV-1 and HCV coinfection: the Swiss HIV Cohort Study. *Lancet*, 356:1800-5.
- Guido M, Rugge M, Fattovich G, Rocchetto P, Cassaro M, Chemello L, Noventa F, Giustina G, Alberti A. (1994) Human immunodeficiency virus infection and hepatitis C pathology. *Liver.* ;14(6):314
- Gupta KK. (1993) Acute immunosuppression with HIV seroconversion. *N Engl J Med*. Jan 28;328(4):288-299
- Hamilton JD, Hartigan PM, Simberkoff MS, Day PL, Diamond GR, Dickinson GM, Drusano GL, Egorin MJ, George WL, Gordin FM, et al. (1992) A controlled trial of early versus late treatment with zidovudine in symptomatic human immunodeficiency virus infection. Results of the Veterans Affairs Cooperative Study. *N Engl J Med*. Feb 13;326(7):437-43.

- Hammer SM, Katzenstein DA, Hughes MD, Gundacker H, Schooley RT, Haubrich RH, Henry WK, Lederman MM, Phair JP, Niu M, Hirsch MS, Merigan TC (1996). A trial comparing nucleoside monotherapy with combination therapy in HIV-infected adults with CD4 cell counts from 200 to 500 per cubic millimeter. AIDS Clinical Trials Group Study 175 Study Team. *N Engl J Med.* Oct 10;335(15):1081-90.
- Hanley JP, Jarvis LM, Andrews J, Dennis R, Lee R, Simmonds P, Piris J, Hayes P, Ludlam CA (1996). Investigation of chronic hepatitis C infection in individuals with haemophilia: assessment of invasive and non-invasive methods. *Br J Haematol.* Jul;94(1):159-65
- Harrington M, Carpenter CC. (2000) Hit HIV-1 hard, but only when necessary *Lancet.* Jun 17;355(9221):2147-52. Review.
- Harry R, Auzinger G, Wendon J. (2002) The clinical importance of adrenal insufficiency in acute hepatic dysfunction. *Hepatology.*36(2):395-402.
- Hatzakis A, Polychronaki H, Miriagou V, Yannitsiotis A, Chrispeels J, Troonen H, Karafoulidou A, Gialeraki A, Katsouyanni K, Mandalaki T. (1992) Antibody responses to hepatitis C virus by second-generation immunoassays in a cohort of patients with bleeding disorders. *Vox Sang.*,63(3):204-9
- Hoofnagle JH, Mullen KD, Jones DB, Rustgi V, Di Bisceglie A, Peters M, Waggoner JG, Park Y, Jones EA.(1986).Treatment of chronic non-A,non-B hepatitis with recombinant human alpha interferon. A preliminary report. *N Engl J Med* 18;315(25):1575-8.
- Hoyer Leon , (1994) Haemophilia A, *N.England J of Medicine*, 330;, 38-47
- Ishak K, Baptista A, Bianchi L, Callea F, De Groote J, Gudat F, Denk H, Desmet V, Korb G, MacSween RNM, Phillips MJ, Portmann BG, Poulsen H, Scheuer PJ, Schmid M, Thaler H (1995). Histological grading and staging of chronic hepatitis. *J of Hepatology*;22:696-699.
- Jang JY, Shao RX, Lin W, Weinberg E, Chung WJ, Tsai WL, Zhao H, Goto K, Zhang L, Mendez-Navarro J, Jilg N, Peng LF, Brockman MA, Chung RT. (2011) HIV infection increases HCV-induced hepatocyte apoptosis. *J Hepatol* ;54(4):612-20.

- Kahn JO, Walker BD. (1998) Acute human immunodeficiency virus type 1 infection. *N Engl J Med* Jul 2;339(1):33-9
- Kasper CK, Kipnis SA. (1972) Hepatitis and clotting- factor concentrates, *JAMA*, 221:510.
- Kernoff PB, Lee CA, Karayiannis P, Thomas HC (1985). High risk of non-A non-B hepatitis after a first exposure to volunteer or commercial clotting factor concentrates: effects of prophylactic immune serum globulin. *Br J Haematol.*;60(3):469-79.
- Kilmarx PH.(2009) Global epidemiology of HIV. *Curr Opin HIV AIDS*4(4):240-6
- Kim A, Lauer G, Ouchi K, et al. (2005). The magnitude and breadth of HCV-specific CD8+ T-cells depend on absolute CD4+ T-cell count in individuals coinfecting with HIV-1. *Blood*, 105:1170-8
- Kim AY, Chung RT. (2009) Coinfection with HIV-1 and HCV--a one-two punch. *Gastroenterology*. 137(3):795-814
- Kitson M, Roberts S, Kemp W, Iser D, Walsh M, McCarthy P, Street A, Tran H. (2011) The prevalence of significant liver fibrosis and cirrhosis in haemophilia patients infected with hepatitis C using FibroScan. *Haemophilia*. 17(2):316-7
- Kuo G, Choo QL, Alter HJ, Gitnick GL, Redeker AG, Purcell RH, Miyamura T, Dienstag JL, Alter MJ, Stevens CE. (1989) An assay for circulating antibodies to a major etiologic virus of human non-A, non-B hepatitis. *Science*. 21; 244(4902):362-4.
- Knodell RG, Ishak KG, Black WC, Chen TS, Craig R, Kaplowitz N, Kiernan TW, Wollmann J (1981). Formulation and application of numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis. *Hepatology*;19:1513-1520.
- Koulentaki M, Spanoudakis S, Kantidaki E, Drankakis P, Tzagarakis N, Biziagos E, (1999) . Prevalence of hepatitis B and C markers in volunteer blood donors in Crete. A 5-year study. *J Viral Hepat.*; 6: 243-248.
- Kovari H, Ledergerber B, Battegay M, Rauch A, Hirschel B, Foguena AK, Vernazza P, Bernasconi E, Mueller NJ, Weber R. (2010) Incidence and risk factors for chronic elevation of alanine aminotransferase levels in HIV-infected

- persons without hepatitis b or c virus co-infection. *Clin Infect Dis.* 15;50(4):502-11.
- Kuntzen T, Tural C, Li B, Feldmann G, Kupfer B, Nischalke HD, *et al.* (2008) Intrahepatic mRNA expression in hepatitis C virus and HIV/hepatitis C virus co-infection: infiltrating cells, cytokines, and influence of HAART. *AIDS*; 22:203-210.
- Laguno M, Murillas J, Blanco JL, Martinez E, Miquel R, Sanchez-Tapias JM, *et al* (2004). Peginterferon-alfa-2b plus ribavirin versus interferon-alfa-2b plus ribavirin for treatment of HIV-HCV co-infected patients. *AIDS*;18:F27–F36.
- Landau A, Batisse D, Van Huyen JP, *et al.* (2000). Efficacy and safety of combination therapy with interferon-A2b and ribavirin for chronic hepatitis C in HIV-infected patients. *AIDS*;14:839-844.
- Lauer GM, Nguyen TN, Day CL, Robbins GK, Flynn T, McGowan K, Rosenberg ES, Lucas M, Klenerman P, Chung RT, Walker BD. (2002) Human immunodeficiency virus type 1-hepatitis C virus coinfection: intraindividual comparison of cellular immune responses against two persistent viruses. *J Virol.*;76(6):2817-26.
- Laursen AL, Scheibel E, Ingerslev J, Clausen NC, Wantzin P, Ostergaard L, Schou G, Black FT, Krogsgaard K. (1998) Alpha interferon therapy in Danish haemophiliac patients with chronic hepatitis C: results of a randomized controlled open label study comparing two different maintenance regimens following standard interferon-alpha-2b treatment. *Haemophilia.*;4(1):25-32
- Lechner F, Gruener NH, Urbani S, Uggeri J, Santantonio T, Kammer AR, Cerny A, Phillips R, Ferrari C, Pape GR, Klenerman P.(2000) CD8+ T lymphocyte responses are induced during acute hepatitis C virus infection but are not sustained. *Eur J Immunol* Sep;30(9):2479-87
- Leroy V, Hilleret MN, Sturm N, Trocme C, Renversez JC, Faure P, Morel F, Zarski JP. (2007) Prospective comparison of six non-invasive scores for the diagnosis of liver fibrosis in chronic hepatitis C. *J Hepatol.*46(5):775-82
- Lehmann M, Meyer MF, Monazahian M, Tillmann HL, Manns MP, Wedemeyer H. (2004) High rate of spontaneous clearance of acute hepatitis C virus genotype 3 infection. *J Med Virol.*;73(3):387-91.



- Lenzo NP, Garas BA, French MA. (1997). Hepatic steatosis and lactic acidosis associated with stavudine treatment in an HIV patients: a case report. *AIDS*, 11: 1294-1296
- Liao F, Alkhatib G, Peden KW, Sharma G, Berger EA, Farber JM. (1997) STRL33, A novel chemokine receptor-like protein, functions as a fusion cofactor for both macrophage-tropic and T cell line-tropic HIV-1. *J Exp Med.*;185:2015-23
- Loko MA, Bani-Sadr F, Winnock M, Lacombe K, Carrieri P, Neau D, Morlat P, Serfaty L, Dabis F, Salmon D; (2011) ANRS CO 13 HEPAVIH Study Group. Impact of HAART exposure and associated lipodystrophy on advanced liver fibrosis in HIV/HCV-coinfected patients. *J Viral Hepat.* 18(7):e307-14.
- Martin-Carbonero L, Benhamou Y, Puoti M, et al. (2004). Incidence and predictors of severe liver fibrosis in HIV-infected patients with chronic hepatitis C: a European collaborative study. *Clin Infect Dis*, 38:128-33.
- Maor Y, Halfon P, Bashari D, Pénaranda G, Morali G, Klar R, Bar-Meir S, Martinowitz U, Oren R. (2010) Fibrotest or Fibroscan for evaluation of liver fibrosis in haemophilia patients infected with hepatitis C. *Haemophilia*, 16(1):148-54
- Maheshwari A, Ray S, Thuluvath PJ. (2008) Acute hepatitis C *Lancet*. Jul26;372(9635):321-32.
- Maida I, Babudieri S, Selva C, D'Offizi G, Fenu L, Solinas G, Narciso P, Mura MS, Núñez M. (2006) Liver enzyme elevation in hepatitis C virus (HCV)-HIV-coinfected patients prior to and after initiating HAART: role of HCV genotypes. *AIDS Res Hum Retroviruses.*;22(2):139-43
- Makris M, Preston F, Triger D, Underwood J, Choo Q, Kuo G & Houghton M. (1990) Hepatitis C antibody and chronic liver disease in Haemophilia *Lancet*;335:1117-9.
- Malinchoc M, Kamath PS, Gordon FD, et al. (2000). A model to predict poor survival in patients undergoing transjugular intrahepatic portosystemic shunts. *Hepatology*, 31:864-871.
- Mancuso ME, Rumi MG, Aghemo A, Santagostino E, Puoti M, Coppola A, Colombo M, Mannucci PM. (2009) Hepatitis C virus/human immunodeficiency

virus coinfection in hemophiliacs: high rates of sustained virologic response to pegylated interferon and ribavirin therapy. *J Thromb Haemost.*;7:1997-2005\

Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC, Rustgi VK, Shiffman M, Reindollar R, Goodman ZD, Koury K, Ling M, Albrecht JK. (2001) Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. *Lancet.* 22;358:958-65

Mannucci PM, Ronchi G, Rota L, Colombo M. . (1978) A clinicopathological study of liver disease in haemophiliacs. *J Clin Pathol* Aug;31(8):779-83

Maor Y, Schapiro JM, Bashari D, Lurie Y, Safadi R, Segol O, Paritsky M, Rachlis Z, Avidan B, Bar-Meir S, Martinowitz U.(2008) Treatment of hepatitis C in patients with haemophilia - the Israeli National Hemophilia Center experience. *Haemophilia.* 14(2):336-42

Mauss S, Klinker H, Ulmer A et al (1998). Response to treatment of chronic hepatitis C with interferon alpha in patients infected with HIV-1 is associated with higher CD4+ cell count. *Infection*;26:16-19.

Mauss S, Valenti W, DePamphilis J, Duff F, Cupelli L, Passe S, Solsky J, Torriani FJ, Dieterich D, Larrey D. (2004) Risk factors for hepatic decompensation in patients with HIV/HCV coinfection and liver cirrhosis during interferon-based therapy. *AIDS*, 18(13):F21-5

McHutchison JG, Gordon SC, Schiff ER, Shiffman ML, Lee WM, Rustgi VK, Goodman ZD, Ling MH, Cort S, Albrecht JK. (1998) Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin as initial treatment for chronic hepatitis C. Hepatitis Interventional Therapy Group. *N Engl J Med* 19;339(21):1485-92

McHutchison J, Manns M, Patel K, et al. (2002). Adherence to combination therapy enhances sustained response in genotype 1-infected patients with chronic hepatitis C. *Gastroenterology*, 123:1061-9.

Mele A, Pulsioni A, Bianco E, et al. (2003) Hepatitis C virus and B-cell non-Hodgkin lymphomas: an Italian multicenter case-control study. *Blood*; 102: 996-999.

Micallef JM, Kaldor JM, Dore GJ. (2006) Spontaneous viral clearance following acute hepatitis C infection: a systematic review of longitudinal studies. *J Viral Hepat.* Jan;13(1):34-41.

- Misiani R, Bellavita P, Fenili D, Vicari O, Marchesi D, Sironi PL, Zilio P, Vernocchi A, Massazza M, Vendramin G, (1994). Interferon alfa-2a therapy in cryoglobulinemia associated with hepatitis C virus. *N Engl J Med.* 17;330(11):751-6.
- Mocroft A, Vella S, Benfield TL, Chiesi A, Miller V, Gargalianos P, d'Arminio Monforte A, Yust I, Bruun JN, Phillips AN, Lundgren JD. (1998) Changing patterns of mortality across Europe in patients infected with HIV-1. EuroSIDA Study Group. *Lancet*, 28;352(9142):1725-30.
- Mocroft A, Soriano V, Rockstroh J, Reiss P, Kirk O, de Wit S et al. (2005) Is there evidence for an increase in the death rate from liver-related disease in patients with HIV? *AIDS*;19:2117–2125.
- Mocroft A, Phillips AN, Gatell J, *et al.* for the EuroSIDA Study Group. Normalisation of CD4 counts in patients with HIV-1 infection and maximum virological suppression who are taking combination antiretroviral therapy: an observational cohort study. *Lancet* 2007;370:407-13.
- Moylett EH, Shearer WT.(2002). HIV: clinical manifestations. *J Allergy Clin Immunol*, 110:3-16.
- Okamoto H, Okada S, Sugiyama Y, Tanaka T, Sugai Y, Akahane Y, Machida A, Mishiro S, Yoshizawa H, Miyakawa Y (1990) Detection of hepatitis C virus RNA by a two-stage polymerase chain reaction with two pairs of primers deduced from the 5'-noncoding region. *Jpn J Exp Med*;60(4):215-22
- Pagliaro L. (2002) MELD: the end of Child-Pugh classification? *J Hepatol.* Jan;36(1):141-2.
- Palacios R, Merchante N, Macias J, González M, Castillo J, Ruiz J, Márquez M, Gómez-Mateos J, Pineda JA, Santos J. (2006) Incidence of and risk factors for insulin resistance in treatment-naive HIV-infected patients 48 weeks after starting highly active antiretroviral therapy. *Antivir Ther.*11(4):529-35.
- Palella FJ Jr, Delaney KM, Moorman AC, Loveless MO, Fuhrer J, Satten GA, et al. (1998).Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. HIV Outpatient Study Investigators. *N Engl J Med*;338:853–860.

- Pantaleo G, Graziosi C, Fauci AS.(1993)The immunopathogenesis of human immunodeficiency virus infection *N Engl J Med*;328:327-35.
- Pascual-Pareja JF, Caminoa A, Larrauri C, González-García J, Montes ML, Díez J, Grande M, Arribas JR. (2009). HAART is associated with lower hepatic necroinflammatory activity in HIV-hepatitis C virus-coinfected patients with CD4 cell count of more than 350 cells/microl at the time of liver biopsy. *AIDS*. May 15;23(8):971-5.
- Paterson DL, Swindells S, Mohr J, Brester M, Vergis EN, Squier C, Wagener MM, Singh N. (2000) Adherence to protease inhibitor therapy and outcomes in patients with HIV infection. *Ann Intern Med*. Jul 4;133(1):21-30
- Perez-Olmeda M, Rios P, Nunez M, Garcia-Samaniego J, Romero M, Soriano V. (2002). Virologic characteristics of HCV infection in HIV-infected individuals with chronic hepatitis C: implications for treatment. *AIDS*, 16: 493-5
- Piccinino F, Sagnelli E, Pasquale G, Giusti G. (1986) Complications following percutaneous liver biopsy. A multicentre retrospective study on 68,276 biopsies. *J Hepatol*. 2(2):165-73. PubMed PMID: 3958472.
- Pineda JA, Garcia-Garcia JA, Aguilar-Guisado M, Rios-Villegas MJ, Ruiz-Morales J, Rivero A, et al. (2007) Clinical progression of hepatitis C virus-related chronic liver disease in human immunodeficiency virus-infected patients undergoing highly active antiretroviral therapy. *Hepatology*; 46:622–630.
- Pineda JA, Aguilar-Guisado M, Rivero A, Girón-González JA, Ruiz-Morales J, Merino D, Ríos-Villegas MJ, Macías J, López-Cortés LF, Camacho A, Merchante N, Del Valle J; Grupo para el Estudio de las Hepatitis Víricas (HEPAVIR) de la Sociedad Andaluza de Enfermedades Infecciosas. (2009) Natural history of compensated hepatitis C virus-related cirrhosis in HIV-infected patients. *Clin Infect Dis*.Oct 15;49(8):1274-82.
- Poynard T, Bedossa P, Opolon P. (1997). Natural history of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. *Lancet*, 349:825-832
- Poynard T, Marcellin P, Lee SS, Niederau C, Minuk GS, Ideo G, Bain V, Heathcote J, Zeuzem S, Trepo C, Albrecht J. (1998) 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*. 31;352(9138):1426-32.
- Poynard T, Ratziu V, Benmanov Y, Di Martino V, Bedossa P, Opolon P (2000) Fibrosis in patients with chronic hepatitis C: Detection and significance. *Seminars in Liver Disease*; 20:47-55.
- Poynard T, McHutchinson J, Goodman Z, et al. Is an “a la carte” combination interferon alfa-2b plus ribavirin regimen possible for the first line treatment in patients with chronic hepatitis C? The ALGOVIRC Project Group. *Hepatology* 2000;31:211-218
- Poynard T, Ratziu V, Charlotte F, Goodman Z, McHutchison J, Albrecht J. Rates and risk factors of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2001;34:730–9.
- Preston FE, Triger DR, Underwood JC, Bardhan G, Mitchell VE, Stewart RM, Blackburn EK. (1978) Percutaneous liver biopsy and chronic liver disease in haemophiliacs. *Lancet*. 16;2(8090):592-4
- Pugh RNH, Murray-Lyon IM, Dawson JL, Peitroni MC, Williams R. (1973). Transection of the oesophagus for bleeding oesophageal varices. *Br J Surg*, 60: 646-648
- Puoti M, Zonaro A, Ravaggi A, Marin MG, Castelnuovo F, Cariani E. (1992) Hepatitis C virus RNA and antibody response in the clinical course of acute hepatitis C virus infection. *Hepatology* ;16(4):877-81.
- Puoti M, Torti C, Ripamonti D, Castelli F, Zaltron S, Zanini B, Spinetti A, Putzolu V, Casari S, Tomasoni L, Quiros-Roldan E, Favret M, Berchich L, Grigolato P, Callea F, Carosi G; (2003) HIV-HCV Co-Infection Study Group. Severe hepatotoxicity during combination antiretroviral treatment: incidence, liver histology, and outcome. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 1;32(3):259-67
- Ragni MV, Belle SH (2001). Impact of human immunodeficiency virus infection on progression to end-stage liver disease in individuals with hemophilia and hepatitis C virus infection. *J Infect Dis*. Apr 1;183(7):1112-5.
- Ragni MV, Nalesnik MA, Schillo R, Dang Q. (2009) Highly active antiretroviral therapy improves ESLD-free survival in HIV-HCV co-infection. *Haemophilia* Mar;15(2):552-8.

- Rahmani M, Toosi MN, Ghannadi K, Lari GR, Jazebi M, Rasoulzadegan M, Ala F. (2009) Clinical outcome of interferon and ribavirin combination treatment in hepatitis C virus infected patients with congenital bleeding disorders in Iran. *Haemophilia*, 15(5):1097-103
- Rehermann B.(2009) Hepatitis C virus versus innate and adaptive immune responses: a tale of coevolution and coexistence. *J Clin Invest*. Jul;119:1745-54
- Rickard KA, Batey RG, Dority P, Johnson S, Campbell J, Hodgson J. (1982) Hepatitis and haemophilia therapy in Australia. *Lancet*. 17;2 :146-8.
- Riddle T, Kuhel D, Woollett L, Fichtenbaum C, Hui D. (2001). HIV protease inhibitor induces fatty acid and sterol biosynthesis in liver and adipose tissue due to the accumulation of activated sterol regulatory element-binding proteins in the nucleus. *J Biol Chem*, 276:37514-9.
- Rockstroh J, Spengler U.(2004) HIV and HCV coinfection *Lancet Infect Dis*, 4: 437-44.
- Rockstroh J, Mocroft A, Soriano V, et al. (2005) Influence of HCV infection on HIV-1 disease progression and response to HAAT, *J Infect Dis*, 192: 992-1002
- Romeo R, Colombo M, Rumi M, Soffredini R, Del Ninno E, Donato MF, Russo A, Simmonds P. (1996) Lack of association between type of hepatitis C virus, serum load and severity of liver disease. *J Viral Hepat.*,3(4):183-90.
- Romero-Gómez M, Del Mar Vilorio M, Andrade RJ, Salmerón J, Diago M, Fernández-Rodríguez CM, Corpas R, Cruz M, Grande L, Vázquez L, Muñoz-De-Rueda P, López-Serrano P, Gila A, Gutiérrez ML, Pérez C, Ruiz-Extremera A, Suárez E, Castillo J. (2005) Insulin resistance impairs sustained response rate to peginterferon plus ribavirin in chronic hepatitis C patients. *Gastroenterology*.128(3):636-41.
- Rosenthal E Poiree M, Pradier C, et al. (2003). Mortality due to hepatitis C-related liver disease in HIV-infected patients in France (Mortavic 2001 study). *AIDS*, 17: 1803-9.
- Rossi SJ, Volberding PA, Wright TL, (2002). Does hepatitis C virus infection increase the risk of HIV disease progression? *JAMA*, 288:241-243.

- Rumi MG, Colombo M, Gringeri A, & Mannucci PM., (1990) High Prevalence of Antibody to HCV in multitransfused Hemophiliacs with normal transaminase levels. *Ann Intern Medicine*;112:379-380
- Rumi MG, Santagostino E, Morfini M, Gringeri A, Tagariello G, Chistolini A, Pontisso P, Tagger A, Colombo M, Mannucci PM. (1997) A multicenter controlled, randomized, open trial of interferon alpha2b treatment of anti-human immunodeficiency virus-negative hemophilic patients with chronic hepatitis C. Hepatitis Study Group of the Association of Italian Hemophilia Centers. *Blood*.;89:3529-33
- Samson M, Libert F, Doranz BJ, Rucker J, Liesnard C, Farber CM, Saragosti S, Lapoumeroulie C, Cognaux J, Forceille C, Muyldermans G, Verhofstede C, Burtonboy G, Georges M, Imai T, Rana S, Yi Y, Smyth RJ, Collman RG, Doms RW, Vassart G, Parmentier M. (1996) Resistance to HIV-1 infection in caucasian individuals bearing mutant alleles of the CCR-5 chemokine receptor gene. *Nature*. Aug 22;382(6593):722-5.
- Sauleda S, Esteban JI, Altisent C, Puig L, Esteban R, Guardia J. Treatment with interferon plus ribavirin in anti-HIV negative patients with congenital coagulation disorders and chronic hepatitis C. *Thromb Haemost*. 2000;83:807-10.
- Schimpf K , Mannucci P, Kreuz W, Brackmann H, Auerwald G, Ciavarella N, Mö sseler J, De Rosa V, Kraus B, Brueckmann Ch, Mancuso G, Mittler U, Haschke F & Morfini M. Absence of hepatitis after treatment with a pasteurized factor VIII concentrate in patients with hemophilia and no previous transfusions, *N Engl J Med* 1987;316:918-22.
- Schwartz RS, Abildgaard CF, Aledort LM et al. Human recombinant DNA-derived antihemophilic factor (factor VIII) in the treatment of hemophilia A. recombinant Factor VIII Study Group. *N Engl J Med* 1990; 323: 1800–5.
- Seeff LB. Natural history of chronic hepatitis C. *Hepatology* 2002;**36**:S35–46
- Sen S, Williams R, Jalan R (2002). The pathophysiological basis of acute-on-chronic liver failure. *Liver*.;22 Suppl 2:5-13.
- Shepard CW, Finelli L, Alter MJ: Global epidemiology of hepatitis C virus infection. *Lancet Infect Dis* 2005, 5:558-567.

- Sherman KE, Rouster SD, Chung RT, Rajcic N. (2002) Hepatitis C Virus prevalence among patients infected with Human Immunodeficiency Virus: a cross-sectional analysis of the US adult AIDS Clinical Trials Group. *Clin Infect Dis*;34:831-7
- Simmonds P, Holmes EC, Cha TA, Chan SW, McOmish F, Irvine B, Beall E, Yap PL, Kolberg J *et al.* (1993). "Classification of hepatitis C virus into six major genotypes and a series of subtypes by phylogenetic analysis of the NS-5 region". *J Gen Virol* **74** (11): 2391–2399.
- Simmonds P. (1995). Variability of hepatitis C virus *Hepatology*, 21:570-583
- Sitia G, De Bona A, Bagaglio S, Galli L, Paties CT, Uberti-Foppa C, *et al.* (2006) Naive HIV/HCV-coinfected patients have higher intrahepatic pro-inflammatory cytokines than coinfecting patients treated with antiretroviral therapy. *Antivir Ther*; 11:385-389.
- Soriano V, Garcia-Samaniego J, Bravo R *et al.* (1996) Interferon alpha for the treatment of chronic hepatitis C in patients infected with human immunodeficiency virus. *Clin Infect Dis*;23:585-559.
- Soriano V, Martin-Carbonero L, Maida I, Garcia-Samaniego J, Nuñez M. (1999) New paradigms in the management of HIV and hepatitis C virus coinfection. *Curr Opin Infect Dis*. Dec;18(6):550-60.
- Soriano V, Puotti M, Sulkowski M, *et al.*(2004) Care of patients with hepatitis C and HIV coinfection. Update recommendations from the HIV-HCV International Panel. *AIDS*, 18:1-12.
- Soriano V, Puoti M, Sulkowski M, *et al.* (2007) Care of patients coinfecting with HIV and HCV:2007 Updated recommendations from the HCV-HIV International Panel *AIDS*. May 31;21(9):1073-89
- Sotto B, Sanchez-Quijano A, Rodrigo L, *et al.* (1997). HIV infection modifies the natural history of chronic parenterally-acquired hepatitis C with an unusually rapid progression to cirrhosis. *J Hepatol*, 26: 1-5.
- Stern J, Robinson P, Love J, Lanes S, Imperiale M, Mayers D.(2003). A comprehensive hepatic safety analysis of nevirapine in different populations of HIV infected patients. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 34(Suppl 1): 21-33.



- Sulkowski MS, Thomas DL, Chaisson RE, Moore RD (2000) Hepatotoxicity associated with antiretroviral therapy in adults infected with human immunodeficiency virus and the role of hepatitis C or B virus infection. *JAMA*. 5;283(1):74-80
- Sulkowski MS, Moore RD, Mehta sh, Chaisson RE, Thomas DL, (2002). Hepatitis C and progression of HIV disease. *JAMA*, 288:199-206
- Sulkowski M, Mehta S, Torbenson M, et al. (2005). Hepatic steatosis and antiretroviral drug use among adults coinfecting with HIV and HCV. *AIDS*, 19:585-92.
- Sundar K, Suarez M, Banogon PE, Shapiro JM. (1997) Zidovudine-induced fatal lactic acidosis and hepatic failure in patients with acquired immunodeficiency syndrome: report of two patients and review of the literature. *Crit Care Med*. 25(8):1425-30.
- Syriopoulou V, Nikolopoulou G, Daikos GL, Theodoridou M, Pavlopoulou I, Nicolaidou P, Manolaki N. (2005) Mother to child transmission of hepatitis C virus: rate of infection and risk factors. *Scand J Infect Dis*.;37(5):350-3
- Tabor E. The epidemiology of virus transmission by plasma derivatives: clinical studies verifying the lack of transmission of hepatitis B and C viruses and HIV type1. *Transfusion* 1999; 39: 1160–8.
- Terilli R, Cox A (2012).Immunity and Hepatitis C: A review *Curr HIV/AIDS Rep*
- Telfer P, Sabin C, Devereux H, et al. (1994). The progression of HCV-associated liver disease in a cohort of haemophiliac patients. *Br J Haematol*, 87:555-561.
- Thein HH, Yi Q, Dore GJ, Krahn MD.(2008) Natural history of hepatitis C virus infection in HIV-infected individuals and the impact of HIV in the era of highly active antiretroviral therapy: a meta-analysis. *AIDS* Oct 1;22(15):1979-91.
- Thimme R, OldaCH d, Chang K et al. (2001).Determinants of viral clearance and persistence during acute hepatitis C virus infection. *J Exp Med*, 194:1395-1406
- Thimme R, Bukh J, Spangenberg HC, et al. (2002). Viral and immunological determinants of hepatitis C virus clearance, persistence, and disease. *Proc Natl Acad Sci*, 99:15661-15668

- Thomas D, Astemborski J, Rai R, et al. (2000). The natural history of HCV infection : host, viral, and environmental factors. *JAMA*, 284: 450-6.
- Torriani FJ, Rodriguez-Torres M, Rockstroh JK, Lissen E, Gonzalez-Garcia J, Lazzarin A, et al. Peginterferon-alfa-2a plus ribavirin versus interferon-alfa-2a plus ribavirin in HIV-infected patients. *N Engl J Med* 2004;351:438–50.
- Touloumi G, Karafoulidou A, Gialeraki A, Katsarou O, Milona I, Kapsimali V, Mandalaki T, Hatzakis, A. (1997) Determinants of Progression of HIV infection followed up for 16 years after Seroconversion. *J AIDS*,19:89-97.
- Tuyama AC, Hong F, Saiman Y, Wang C, Ozkok D, Mosoian A, Chen P, Chen BK, Klotman ME, Bansal MB. (2010) Human immunodeficiency virus (HIV)-1 infects human hepatic stellate cells and promotes collagen I and monocyte chemoattractant protein-1 expression: implications for the pathogenesis of HIV/hepatitis C virus-induced liver fibrosis. *Hepatology*. Aug;52(2):612-22.
- Uyttendaele S, Claeys H, Mertens W, Verhaert H, Vermynen C. (1994) Evaluation of third-generation screening and confirmatory assays for HCV antibodies. *Vox Sang.* ;66(2):122-9
- Veronese L, Rautureau J, Sadler B, et al. (2000). Single-dose pharmacokinetics of amprenavir, a HIV-1 protease inhibitor, in subjects with normal or impaired hepatic function. *Antimicrob Agents Chemother*, 44:821-6.
- Vitezica ZG, Milpied B, Lonjou C et al.(2008) HLA-DRB1\*01 associated with cutaneous hypersensitivity induced by nevirapine and efavirenz. *Acquir Immune Defic Syndr*; 22: 540–1
- Weber J, (2001).The pathogenesis of HIV-1 infection. *Br Med Bull*,58:61-72
- Weber R, Sabin C, Friis-Moller N, et al. Liver-related deaths in persons infected with HIV:theD:A:D study. *Arch Intern Med*, 166:1632-41.
- Weise M. (1995) Natural course of hepatitis C: 15 year analysis in an unselected group with an identical parenteral infection, *J Hepatol*:23-89
- Wong VS, Egner W, Elsey T, Brown D, Alexander GJ. (1996) Incidence,character and clinical relevance of mixed cryoglobulinemia inpatients with chronic hepatitis C virus infection. *Clin ExpImmunol*; 104: 25-31

- Yeung LT, King SM, Roberts EA. (2001) Mother-to-infant transmission of hepatitis C virus. *Hepatology* Aug;34(2):223-9
- Younossi ZM, McCullough AJ. (2009) Metabolic syndrome, non-alcoholic fatty liver disease and hepatitis C virus: impact on disease progression and treatment response. *Liver Int. Suppl* 2:3-12
- Zanetti A, Tanzi E, Paccagnini S, et al. (1995). Mother-to-infant transmission of HCV. Lombardy Study Group on Vertical HCV Transmission. *Lancet*, 345: 289-91.
- Ziol M, Handra-Luca A, Kettaneh A, Christidis C, Mal F, Kazemi F, de Lédighen V, Marcellin P, Dhumeaux D, Trinchet JC, Beaugrand M. (2005). Noninvasive assessment of liver fibrosis by measurement of stiffness in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology*; 41:48.
- Zucman D, Truchis P, Majerholc C et al. (2007) Prospective screening for human leukocyte antigen-B\*5701 avoids abacavir hypersensitivity reaction in the ethnically mixed French HIV population *J Acquir Immune Defic Syndr* 45: 1–3.



## Δημοσιεύσεις και ανακοινώσεις σχετιζόμενες με την παρούσα διακτορική διατριβή

- Touloumi G, Karafoulidou A, Gialeraki A, Katsarou O, Milona I, Kapsimali V, Mandalaki T, Hatzakis, A. (1997) Determinants of Progression of HIV infection followed up for 16 years after Seroconversion. *J AIDS*,19:89-97.
- Delladestima J, Katsarou O., Touloumi G, Vgenopoulou S., Hatzakis A. Karafoulidou A. (2002) Significance of immune status, genotype and viral load in the severity of chronic hepatitis C in HIV infected haemophilia patients. *Haemophilia*,8, 668-679
- Ιωαννίδου Π, Κατσαρού Ο, Τουλούμη Γ, Πανταζής Ν, Κουραμπά Α, Χατζάκης Α, Καραφουλίδου Α.(2003) Ηπατοτοξικότητα μετά χορήγηση τριπλής αντιρετροϊκής αγωγής (HAART) σε ασθενείς με συλλοίμωξης HCV/HIV Ελληνικά Αρχεία AIDS 11 (3): 132-136.
- Katsarou O.,Touloumi G, Antoniou A., Kouramba A., Hatzakis, A. Karafoulidou A (2005) Progression of HIV infection in the post- HAART era among a cohort of HIV+ Greek Haemophilia patients, *Haemophilia*; 11:360-365
- Katsarou O, Theodosiades G, Ioannidou P, Nomikou E, Tsevrenis B, Kouraba A, Deutch M, Terpos E, Dourakis S, Karafoulidou A. (2008) Pegylated interferon plus ribavirin combination therapy for chronic hepatitis C in patients with congenital coagulation disorders. *Acta Haematol.*;120(2):63-9.
- Katsarou O., Ioannidou P, Bakoyannis G.,Kouramba A, Touloumi G. Karafoulidou A (2010) Incidence of liver-related morbidity in a cohort of haemophilia patients: the impact of HAART on HCV progression, *Haemophilia*;16S4: 16FP04,
- Delladetsima J, Katsarou o, Vgenopoulou S, Touloumi G, Hatzakis A, Karafoulidou A. (2001) Chronic Hepatitis C and apoptosis in Hemophilia Patients with HCV/HIV coinfection *Virchows Archiv* 439 (3):P-577, p454.



# ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Ανάπτυξη δημοσιεύσεων διδακτορικής διατριβής