

STŁUSZCZENIE WĄTROBY UJAWNIONE PO LECZENIU LAMIWUDYNĄ PRZEWLEKŁEGO ZAPALENIA WĄTROBY TYPU B U 15-LETNIEGO CHŁOPCA

LIVER STEATOSIS REVEALED AFTER TREATMENT WITH LAMIVUDINE IN FIFTEEN YEARS OLD BOY WITH CHRONIC TYPE B HEPATITIS

Barbara Kowalik- Mikołajewska, Małgorzata Aniszewska, Bożena Walewska-Zielecka¹

Klinika Chorób Zakaźnych Wieku Dziecięcego AM w Warszawie
¹ Zakład Immunopatologii Państwowego Zakładu Higieny

Streszczenie: Analogi nukleozydowe mogą powodować uszkodzenie mitochondriów. Lamiwudyna jest nukleozydem, którego toksyczności dotąd nie opisano. Znalazła zastosowanie w leczeniu przewlekłych zapaleń wątroby typu B.

Piętnastoletni chłopiec z przewlekłym agresywnym zapaleniem wątroby typu B (I biopsja wątroby) był leczony interferonem alfa przez 20 tygodni bez uzyskania efektu. Po 2,5 latach przerwy zastosowano leczenie lemiwudyną, które prowadzono przez 2 lata. We wstępnej biopsji wątroby (II badanie) aktywność zapalna (HAI) =5, włóknienie (staging)=1 pkt. Po leczeniu także nieskutecznym, kolejna biopsja wątroby (III) ujawniła znacznego stopnia stłuszczenie grubokropelkowe hepatocytów (80%). U chłopca wykluczono choroby metaboliczne z zakresu przemiany aminokwasów, węglowodanów i tłuszczów oraz chorobę Wilsona. Także wywiad rodzinny w tym kierunku był negatywny. Po 1 roku obserwacji po zakończeniu leczenia lamiwudyną dokonano kolejnej oceny histopatologicznej bioptatu wątroby (IV). Stwierdzono całkowite ustąpienie stłuszczenia, natomiast aktywność zapalna (grading) powróciła do stanu sprzed leczenia lamiwudyną. Wydaje się prawdopodobne, że terapia lamiwudyną ujawniła defekty enzymatyczne w procesach red-ox, co doprowadziło do stłuszczenia wątroby.

Słowa kluczowe: HBV, dzieci, lamiwudyna, stłuszczenie wątroby.

Abstract: Nucleoside analogues may cause mitochondrial toxicity. Lamivudine is a synthetic nucleoside analogue. Its toxicity has not been described until now. This drug is indicated for treatment of HBV chronic infection.

A 15-year old boy with chronic aggressive hepatitis B (the 1st liver biopsy) at first was treated with interferon alfa for twenty weeks. The therapy was not effective. After 2.5 years he was qualified for treatment with lamivudine. The 2nd liver biopsy revealed grading activity (HAI)=5, staging=1. He has been treated for two years also without effect. Next liver biopsy (3rd) revealed high-grade macrovesicular fatty degeneration of the liver cells (80%). Primary metabolic disorders of amino acids, carbohydrates and lipids and Wilson disease were excluded in the patient and his family. After one year of observation without active treatment 4th liver biopsy was done. Histological features of steatosis completely resolved but the degree of chronic inflammation (grading) was like before treatment with lamivudine. It is possible that treatment with lamivudine revealed defects of redox status which lead to liver steatosis.

Key words: HBV, children, lamivudine, liver steatosis.

Wstęp

Wirus zapalenia wątroby typu B (HBV), który należy do rodziny *Hepadnaviridae*, namnaża się wyłącznie wewnątrzkomórkowo wykorzystując własną polimerazę DNA.

W syntezie genomu wirusa enzym ten uzupełnia brakujący fragment dodatniej nici DNA HBV, która staje się „matrycą” dla nowo tworzonego genomu wirusa oraz spełnia rolę „odwrotnej transkryptazy”. W procesie tym dochodzi do transkrypcji DNA HBV i wytworzenia potomnego wirionu

Tabela 1. Obraz histopatologiczny wątroby i replikacji HBV w czasie leczenia.

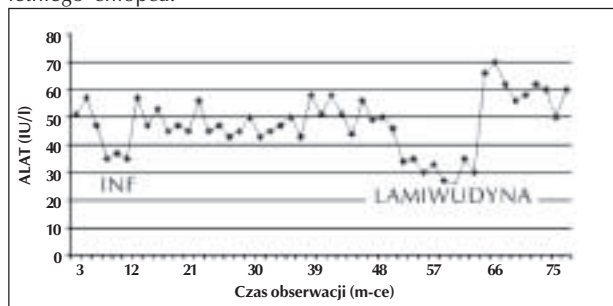
Okres obserwacji	HBeAg	p DNA (cpm)	HBV DNA (PCR)	Ocena hist.-pat. wątroby
Diagnostyka przed leczeniem INF (10 r.ż)	+	500	Brak danych	I. Przewlekłe aktywne zapalenie wątroby (min.)
Przed leczeniem lamiwudyną (12 r.ż)	+	-	+	II. Pzw o miernej aktywności zapalnej, G-5 S-1
Po 2 latach leczenia lamiwudyną (14 r.ż)	+	-	+	III. Pzw o miernej aktywności zapalnej, G-1, S-0; stłuszczenie hepatocytów (80%)
1 rok po zakończeniu leczenia (15 r.ż)	+	-	+	IV. Pzw o miernej aktywności zapalnej, G-5, S-1; całkowite ustąpienie stłuszczenia

pDNA - polimeraza DNA; PCR - reakcja łańcuchowa polimerazy; G- stopień zapalenia - grading; S- zaawansowanie -staging

(1). Analog nukleozydowy, jakim jest lamiwudyna (2'dezoksy-3'thiacetydyna), hamuje replikację HBV (2). Jest inhibitorem odwrotnej transkrypcji. Wykazano toksyczność komórkową, w tym mitochondrialną analogów nukleozydowych i nukleotydujących inhibitorów odwrotnej transkryptazy (3). Zahamowanie aktywności polimerazy komórkowej, w tym gamma-polimerazy mitochondrialnego DNA pociąga za sobą zaburzenia betaoksydacji kwasów tłuszczowych, niedobór ATP oraz tworzenie wolnych rodników tlenowych, co może prowadzić m.in. do stłuszczenia wątroby (4). Przedstawiono przebieg leczenia lamiwudyną przewlekłego zapalenia wątroby typu B u 15-letniego chłopca, u którego monitorowano terapię oceną histopatologiczną biopsjaty wątroby.

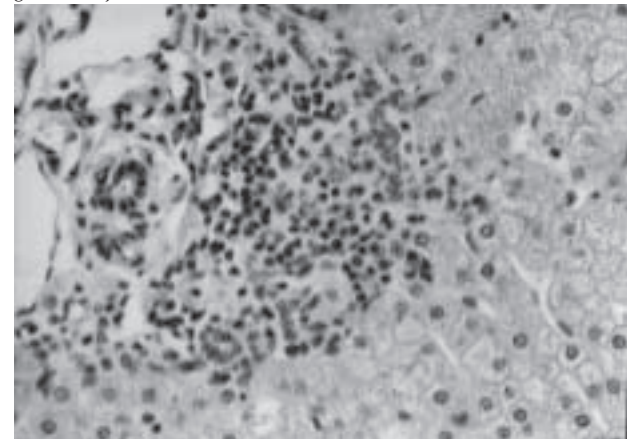
Opis przypadku

15 - letni chłopiec, u którego zakażenie HBV o przebiegu bezobjawowym wykryto w 9 roku życia. Rozwój dziecka do 6 miesiąca życia przebiegał prawidłowo. Był szczepiony zgodnie z obowiązującym kalendarzem szczepień, w którym wówczas nie było szczepienia przeciwko wirusowemu zapaleniu wątroby typu B. W 6 miesiącu i 5 roku życia hospitalizowany z powodu zakażenia żołądkowo-jelitowego oraz zapalenia płuc i oskrzeli. Nie miał przetoczeń krwi ani preparatów krwiopochodnych. W wywiadzie rodzinnym nie stwierdzono chorób przewlekłych, w tym otyłości, cukrzycy, zaburzeń hormonalnych i metabolicznych. Ojciec w okresie rozpoznania zakażenia HBV u syna chorował na ostre zapalenie wątroby typu B. Od 10 roku życia w związku z przewlekłym zapaleniem wątroby chłopiec pozostawał pod kontrolą Kliniki Chorób Zakaźnych Wieku Dziecięcego i Poradni Specjalistycznej przy Wojewódzkim Szpitalu Zakaźnym w Warszawie. Jego rozwój fizyczny przebiegał prawidłowo i mieścił się w zakresie 25 percentyla. Po stwierdzeniu obecności wykładników namnażania HBV oraz podwyższonej aktywności aminotransferaz - wykonano pierwszą (I) biopsję wątroby. Wycinek zawierał 9 przestrzeni bramno-żółciowych. W pojedynczych hepatocytach stwierdzono zwyrodnienie glikogenowe jąder komórkowych. Nie opisano włóknienia, natomiast naciek zapalny z komórek jednojądrowych w 2 przestrzeniach bramno-żółciowych był dość obfity i wnikał płytko w głąb miąższu. Ostatecznie zostało rozpoznane przewlekłe agresywne zapalenie wątroby o niewielkim nasileniu. Terminologia rozpoznania histopatolo-

Rycina 1. Przebieg leczenia zapalenia wątroby typu B u 15-letniego chłopca.

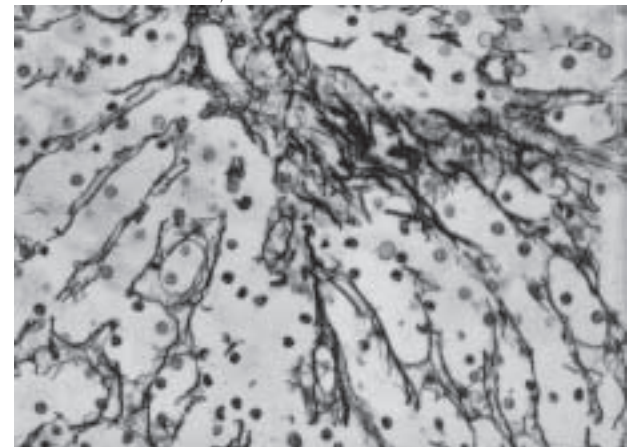
gicznego przewlekłego zapalenia wątroby była zgodna z ówczesnie stosowanymi zasadami. Materiał nie był dostępny do weryfikacji. Zastosowano leczenie interferonem alfa w dawce 3 mln j./dawkę (= 2,8 mln/m²/dawkę) przez 20 tygodni (= 60 dawek). W trakcie leczenia odnotowano obniżenie aktywności swoistej polimerazy DNA, które było przej-

Rycina 2. Przewlekłe zapalenie wątroby o miernej aktywności. Pojedyncze, niewielkie ognisko martwicy kęsowej w blaszce granicznej. HAI=5, S=1. HE, x400.

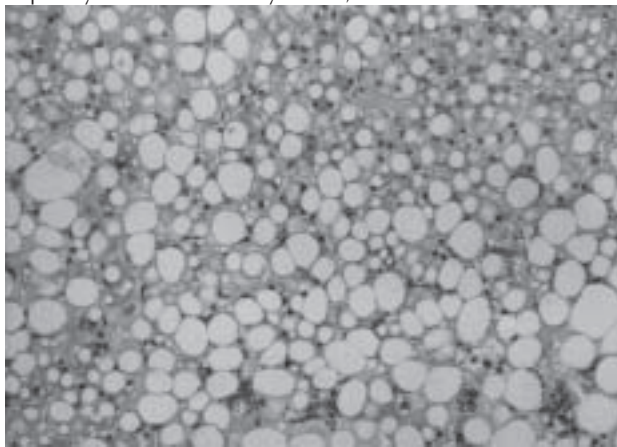


ściowe i dotyczyło tylko okresu terapii. Aktywność aminotransferaz była nieznacznie podwyższona w trakcie i po zakończeniu leczenia i nie przekraczała 50 IU/l. Leczenie interferonem alfa przebiegało bez wyraźnych objawów ubocznych. W ocenie ostatecznej było nieskuteczne. Chłopiec po 2,5 latach został zakwalifikowany do leczenia lamiwudyną w oparciu o następujące wyniki badań: a - obecność wykładników namnażania HBV w surowicy (HBeAg +/-, DNA HBV +/-) oraz obecność HBsAg, HBcAg, HBeAg i HBV DNA w wycinku wątroby, b - podwyższoną aktywność - ALAT do 51 IU/l, c - wykluczenie zakażenia wirusem C zapalenia wątroby, d - wynik badania histopatologicznego wątroby (druga biopsja wątroby, II). Stwierdzono mierną aktywność za-

Rycina 3. Mierne włóknienie wrotne i delikatne - zakółowe okołowrotne. Gomori, x400.

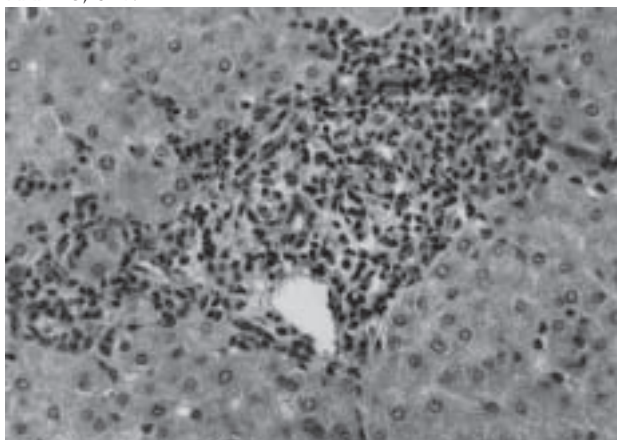


Rycina 4. Rozległe stłuszczenie wątroby, wielko- i średniokropelkowe. W tym polu widzenia bez ognisk martwicy hepatocytów śródzrazikowych. HE, x200.



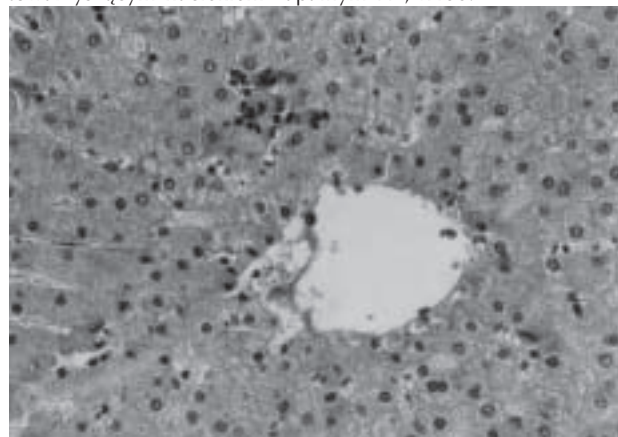
palną śródzrazikowo, naciek zapalny w przestrzeniach wrotnych o umiarkowanym nasileniu oraz tylko jedno ognisko martwicy kęsowej w całym badanym wycinku (ryc. 2). W niektórych przestrzeniach wrotnych widoczne były cechy miernie nasilonego włóknienia wrotnego oraz wnikanie krótkich włókien kolagenowych z przestrzeni wrotnej w głąb zrazika (ryc. 3). Obraz upoważniał do rozpoznania przewlekłego zapalenia wątroby o miernej aktywności z niewielkim włóknieniem wrotnym i - miejscami - okołowrotnym. Ocenę punktową przeprowadzono według Desmeta i wsp. Aktywność zapalna (grading, G): 1/1/3=5 (Histopathological Activity Index, HAI=5). Zaawansowanie włóknienia (staging, S):1. Zakres punktów zsumowanych trzech kategorii aktywności zapalnej w przewlekłym zapaleniu wątroby o miernej aktywności (HAI) w stosowanym systemie punktacji wynosi od 4 do 8 punktów. Leczenie lamiwudyną prowadzono 2 lata, w pierwszym roku stosując dawkę 75 mg na dobę, w drugim - 100 mg na dobę (ryc. 1). W okresie terapii stwierdzono jedynie zmniejszenie replikacji HBV wyrażone całkowitym zahamowaniem polimerazy DNA. Nie uzyskano trwałej normalizacji aktywności aminotransferaz, ani eliminacji materiału genetycznego HBV z surowicy. Utrzymywała się antygenemia HBe. Przebieg terapii był bez powikłań. Leczenie zakończono dokonując kolejnej oceny histopatologicznej punktu wątroby (trzecia biopsja wątroby, III). W badaniu histopatologicznym stwierdzono nasilone stłuszczenie około 80% hepatocytów z minimalnym odczynem zapalnym śródzrazikowo (ryc. 4). W cytoplazmie niektórych komórek wątrobowych widoczne były eozynochłonne kuliste wtręty

Rycina 5. Przewlekłe zapalenie wątroby o miernej aktywności. Kilka drobnych ognisk martwicy kęsowej w blaszce granicznej. HAI = 5, S=1.



(megamitochondria?). W porównaniu z wycinkiem badanym poprzednio, obecnie stwierdzono prawie całkowite ustąpienie zmian zapalnych, nie odnotowano także cech włóknienia okołowrotnego (G: 0/1/0=1; S=0). W badaniu immunomorfologicznym w skrawkach mrożonych wykazano ekspresję HBs Ag (krople w pojedynczych hepatocytach oraz bardzo delikatny rysunek sieci i przepojerń w 100% hepatocytów), HBc Ag w jądrach około 30% i w cytoplazmie 50% hepatocytów. Wykazano również obecność HBV DNA w homogenacie tkankowym badaniem metodą PCR. Wykluczono chorobę Wilsona (badanie przeprowadzono dwukrotnie w Instytucie Psychoneurologicznym w Warszawie), choroby metaboliczne z zakresu przemiany aminokwasów i miopatie lipidowe (Pracownia Badań Przesiewowych i Hormonalnych Instytutu Matki i Dziecka), proces autoimmunologiczny, zakażenie wirusem C zapalenia wątroby (przeciwciała anti-HCV i RNA-HCV nieobecne w surowicy). Stężenie glukozy, mocznika, kreatyniny, cholesterolu i lipidogram były prawidłowe. Czwartą (IV) biopsję wątroby wykonano po 1 roku od zakończenia nieskutecznej terapii lamiwudyną. Do tego czasu chłopiec był pod kontrolą Poradni Przychodni i zgłaszał się co 3 miesiące. Stosowano Essentiale forte i witaminę E. Chłopiec był w dobrym stanie ogólnym, prowadził właściwy do wieku tryb życia. Aktywność ALAT w tym czasie wynosiła średnio 58 IU/l. W ocenie IV biopsji wątroby

Rycina 6. Ognisko martwicy pojedynczego hepatocytą z towarzyszącym naciekiem zapalnym HE, x400.



stwierdzono całkowite ustąpienie stłuszczenia, natomiast aktywność zapalna wyraźnie zwiększyła się (pojedyncze ogniska martwicy kęsowej (ryc. 5), nieliczne ogniska hepatocytów śródzrazikowo, tworzenie pojedynczych drobnych grudek chłonnych w przestrzeniach wrotnych (ryc. 6). Pojawiły się także cechy włóknienia wrotnego w przestrzeniach wrotnych w badanym skrawku. We wniosku uznano aktywność i zaawansowanie zmian – jak przed leczeniem lamiwudyną: G: 1/1/3=5; S=1. W badaniu immunomorfologicznym skrawków mrożonych wykazano ekspresję HBsAg (krople w cytoplazmie pojedynczych hepatocytów oraz ogniskowo w formie błonowej sieci), HBcAg (w jądrach 10% hepatocytów i w cytoplazmie około 60% hepatocytów) (tab. 1).

Omówienie przypadku

Leczenie przewlekłego zapalenia wątroby typu B było kontrolowane oceną histopatologiczną tkanek wątroby. Badania te wykonano przed kwalifikacją do zastosowania interferonu alfa oraz przed i po zakończeniu leczenia lamiwudyną. Za wyjątkiem wyniku III badania (po 2 latach leczenia lamiwudyną), w żadnym z pozostałych trzech nie opisano stłuszczenia ani też postępującego włóknienia. Stłuszczenie nie jest cechą charakterystycz-

ną dla zakażenia wirusem zapalenia wątroby typu B. Stwierdzone w badaniu I zwyrodnienie glikogenowe jąder w pojedynczych hepatocytach u dzieci i osób młodych może być elementem obrazu wątroby prawidłowej (5). Dynamika zmian w obrazie histopatologicznym - pojawienie się i pełna regresja stłuszczenia na przestrzeni - odpowiednio - 2 lat leczenia i po 1 roku od zakończenia terapii lamivudyną, ich rozległość (powyżej 80% hepatocytów) oraz charakter stłuszczenia (grubokropelkowe), sugeruje związek z zastosowanym leczeniem (6, 7, 8). Brak badania w mikroskopie elektronowym biopłatów wątroby III i IV nie pozwolił na ocenę bezpośrednią udziału mitochondriów w patogenezie stłuszczenia (9). W tym przypadku możliwa jest wielo-

czynnikowa przyczyna, jak to ma miejsce w niealkoholowym stłuszczeniowym zapaleniu wątroby (NASH), a leczenie lamivudyną ujawniło podatność na stres oksydacyjny (10, 11, 12). Pacjent pozostaje w obserwacji, a ewentualna kwalifikacja do leczenia kolejnymi analogami nukleozydowymi powinna być bardzo ostrożna.

Wniosek

Wystąpienie stłuszczenia wątroby znacznego stopnia (>80% hepatocytów) związane czasowo z leczeniem lamivudyną, mogło ujawnić defekty enzymatyczne układu oddechania komórkowego.

PIŚMIENNICTWO:

1. Wang G. H., Zoulim F., Leber E. H., Kitson J., Seeger C. Role of enzymatic activity of the reverse transcriptase of hepatitis B viruses. *J. Virol.* 1994, 68 (12), 8437-8442.
2. Wolters L. M., Niesters H. G., de Man R. A. Nucleoside analogues for chronic hepatitis B. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* 2001, 13 (12), 1499-1506.
3. Kakuda T. N. Pharmacology of nucleoside and nucleotide reverse transcriptase inhibitor – induced mitochondrial toxicity. *Clin. Ther.* 2000, 22 (6), 685-708.
4. Pessayre D., Berson A., Fromenty B., Mansouri A. Mitochondria in steatohepatitis. *Semin. Liver. Dis.* 2001, 21 (1), 57-69.
5. Scheuer P. J., Lefkowitz J. H. *The Normal Liver. W: Scheuer liver biopsy interpretation.* London, W.B. Saunders 1994, 20.
6. Brunt E. M. Nonalcoholic steatohepatitis: definition and pathology. *Semin. Liver. Dis.* 2001, 21 (1), 3-16.
7. Contos M. J., Sanyal A. J. The clinicopathologic spectrum and management of nonalcoholic fatty liver disease. *Adv. Anat. Pathol.* 2002, 9 (1), 37-51.
8. Farrell G. C. Drugs and steatohepatitis. *Semin. Liver. Dis.* 2002, 22 (2), 185-194.
9. Honkoop P., de Man R. A., Scholte H. R., Zondervan P. E., Van Den Berg J. W., Rademakers L. H., Schalm S. W. Effect of lamivudine on morphology and function of mitochondria in patients with chronic hepatitis B. *Hepatology* 1997, 26 (1), 211-215.
10. Kumar K. S., Malet P. F. Nonalcoholic steatohepatitis. *Mayo Clin. Proc.* 2000, 75 (7), 733-739.
11. Loguercio C., De Girolamo V., de Sio I., Tuccillo C., Ascione A., Baldi F., Budillon G., Cimino L., Di Carlo A., Di Marino M. P., Morisco F., Picciotto F., Terracciano L., Vecchione R., Verde V., Del Vecchio Blanco C. Non-alcoholic fatty liver disease in an area of southern Italy: main clinical, histological, and pathophysiological aspects. *J. Hepatol.* 2001, 35 (5), 568-574.
12. Mc Cullough A. J. Update on nonalcoholic fatty liver disease. *J. Clin. Gastroenterol.* 2002, 34 (3), 255-262.

Adres do korespondencji:

Dr Barbara Kowalik-Mikołajewska
Klinika Chorób Zakaźnych Wiekii Dziecięcego AM
ul. Wolska 37
01-201 Warszawa
tel./fax: (22) 632 06 83

