

Zaburzenia immunologiczne w grupie chorych zakażonych HCV z artralgią

Immunological disturbances in HCV infected patients with arthralgia

Joanna Jabłońska¹, Jakub Ząbek²

¹Klinika Hepatologii i Nabytych Niedoborów Immunologicznych, Instytut Chorób Zakaźnych i Pasożytniczych Akademii Medycznej w Warszawie, kierownik Kliniki prof. dr hab. med. Janusz Cianciara

²Zakład Mikrobiologii i Serologii Instytutu Reumatologii im. prof. dr hab. med. Eleonory Reicher w Warszawie, kierownik Zakładu doc. dr hab. biol. Jakub Ząbek; dyrektor Instytutu prof. dr hab. med. Sławomir Maśliński

Słowa kluczowe: HCV, artralgia, przeciwciała anti-CCP, przeciwciała przeciwko fodrynie, SSA i SSB, poziomy COMP.

Key words: HCV, arthralgia, antibodies anti-CCP, anti-SSA SSB, and fodrin, COMP level.

Streszczenie

Oceniano częstość występowania przeciwciał przeciwko fodrynie i filagrynie oraz innych markerów (krioglobulin, ANA, krążących kompleksów immunologicznych – CCI, RF, anti-SSA, anti-SSB) w grupie 26 pacjentów zakażonych HCV, z bólami stawów.

Przeciwciała przeciwko filagrynie stwierdzono u jednej osoby. Przeciwciała przeciwko fodrynie u dwóch. Często występowała krioglobulinemia, w surowicy stwierdzano obecność RF, CCI. U wielu pacjentów występowało kilka objawów jednocześnie.

Bóle stawów i artropatie w zakażeniu HCV, mimo częstego występowania RF IgM i obrazu klinicznego zbliżonego do RZS, wynikają z odmiennych mechanizmów. Często są związane z krioglobulinemią i krążącymi kompleksami immunologicznymi. Przeciwciała przeciwko filagrynie występują rzadko w zakażeniu HCV. W grupie chorych zakażonych HCV z zespołem suchości błon śluzowych nieczęsto wykrywa się autoprzeciwciała przeciwko fodrynie i SSA. Zespół ten jest częstym zjawiskiem w zakażeniu HCV, ale różni się od zespołu Sjögrena.

Summary

In 26 HCV infected patients with arthralgia, prevalence of anti-fodrin antibodies and anti-filaggrin antibodies was estimated – in comparison with other immunological markers (ANA, cryoglobulinaemia, CCI, RF, anti-SSA) and clinical symptoms.

Anti-filaggrin antibodies were found in one case, anti-fodrin antibodies in 2 cases. Cryoglobulins, CCI and RF were frequent in the assessed group. Most patients had different symptoms simultaneously. In HCV infected patients arthralgias have a different mechanism than in rheumatoid arthritis – although RF IgM is frequently found. Patients have often cryoglobulinaemia and complexaemia. Anti-SSA, anti-SSB and anti-fodrin antibodies are rare in HCV-infected patients. Sicca syndrome in HCV infection is frequent, but the aetiology is probably different than in classic Sjögren's syndrome.

Wirus zapalenia wątroby typu C (HCV) u 80% zakażonych powoduje przewlekłą infekcję. Szacuje się, że ok. 2% populacji światowej jest zakażone tym wirusem – jest to najczęstsza przyczyna przewlekłych zapaleń wątroby i marskości. Zakażenie HCV może prowadzić również do zaburzeń i chorób dotyczących narządów

i układów innych niż wątroba. Pozawątrobowe zaburzenia i objawy patologiczne związane z zakażeniem HCV to m.in. krioglobulinemia, błoniasto-rozplemowe i błoniaste zapalenie kłębuszków nerkowych, zapalenie naczyń (*vasculitis*), limfocytarne zapalenie ślinianek, zapalenie tarczycy, prawdopodobnie chłoniaki niezłośliwe z lim-

Adres do korespondencji:

dr med. Joanna Jabłońska, Klinika Hepatologii i Nabytych Niedoborów Immunologicznych, Akademia Medyczna, ul. Wolska 37, 01-201 Warszawa, e-mail: joannaj108@hotmail.com

focytów B i wiele innych [1]. Większość tych zaburzeń ma u podłoża mechanizmy immunologiczne.

Nie jest wyjaśnione, dlaczego jedynie u części chorych zakażonych HCV występują objawy pozawątrobowe. Nie wiadomo również, w jakim stopniu są one związane z zaawansowaniem procesu chorobowego w wątrobie i jaki jest udział replikacji HCV poza wątrobą (np. w limfocytach) w kształtowaniu tego zjawiska.

U części osób zakażonych HCV występują bóle stawów. U niektórych są one najbardziej dokuczliwą i pogarszającą jakość życia dolegliwością. Bóle stawów o różnym nasileniu często występują w początkowych fazach ostrej infekcji oraz w przewlekłych zakażeniach wirusowych i bakteryjnych – w sytuacjach, w których powstają kompleksy immunologiczne i uwalniane są mediatory zapalenia. U zakażonych HCV bóle stawów mogą być spowodowane zarówno samym zakażeniem, jak i odrębną, niezwiązaną z HCV przyczyną. Odróżnienie tych dwóch grup chorych jest istotne, m.in. z powodu odmiennych zaleceń co do leczenia. Podstawowym lekiem przeciwwirusowym w terapii zakażenia HCV jest interferon α , który może wywoływać i/lub nasilać choroby z autoagresji. Terapia interferonem może zaostrzyć autoimmunologiczny komponent choroby lub przynieść dobre efekty u chorych, u których artropatia zależy od zakażenia HCV [2].

U osób zakażonych HCV, nawet w przypadkach z wyraźnym zajęciem stawów, najczęściej nie można stwierdzić czterech kryteriów diagnostycznych RZS [3, 4]. Klasyczny czynnik reumatoidalny, przeciwciała IgM reagujące z fragmentem Fc zmienionej ludzkiej immunoglobuliny G, może występować w chorobach zakaźnych, podczas długotrwałej stymulacji układu immunologicznego, jaka zachodzi w przebiegu przewlekłych zakażeń [5]. U pacjentów zakażonych HCV wykrywa się go w ok. 20–30% przypadków [6], najczęściej u osób bez żadnych dolegliwości stawowych, nie jest to więc dobry marker do wykrywania RZS.

Ostatnio zaczęto wykorzystywać w diagnostyce reumatologicznej przeciwciała dla antygenów z grupy keratyn, a ściślej – filagryn. Są to białka filamentów pośrednich cytoszkieletu. Przeciwciała te są znane pod nazwą: przeciwciała przeciwko cyklicznemu cytrulinowanemu peptydowi – anty-CCP. Anty-CCP można wykryć w 80–100% przypadków RZS, także w początkowym okresie, a ich miana mogą korelować ze stopniem nasilenia choroby [6, 7].

W diagnostyce schorzeń przebiegających z degradacją chrząstki przydatne jest badanie poziomu oligomerycznego białka macierzy chrzęstnej – COMP (*cartilage oligomeric matrix protein*). Kiedy *matrix* chrząstki stawowej ulega degradacji, powstają fragmenty białkowe, które ulegają rozpuszczeniu w płynie stawowym, a na-

stępnie przechodzą do krwiobiegu. Poziom tego białka w surowicy uważany jest za jeden z najwcześniejszych i najczulszych wskaźników degradacji chrząstki w zapalnych schorzeniach stawów [8].

U zakażonych HCV często opisywane są zmiany w śliniankach, zazwyczaj o charakterze zapalenia limfocytarnego, niekiedy prowadzące do wystąpienia objawów zespołu Sjögrena. U 15–50% pacjentów zakażonych HCV stwierdza się zespół suchości błon śluzowych jamy ustnej [9]. W diagnostyce zespołu Sjögrena wykorzystywane są dwa autoprzeciwciała markerowe – anty-SSA i anty-SSB. Występują one w 90% przypadków pierwotnego i 60% wtórnego zespołu Sjögrena. Nowym przeciwciałem markerowym w diagnostyce tego zespołu jest przeciwciało przeciwko alfa-fodrynie. Jest to podjednostka białka wchodzącego w skład cytoszkieletu komórek ślinianek. Ze wstępnych doniesień wynika, że przeciwciała te mają znaczenie prognostyczne i ich obecność może wyprzedzać pojawienie się objawów klinicznych [10].

Celem niniejszej pracy była ocena przydatności oznaczania serologicznych markerów chorób reumatycznych i autoimmunologicznych, w tym przeciwciał anty-CCP i przeciwko fodrynie, oraz poziomu białka COMP w badaniu pacjentów zakażonych HCV z nasiloną artralgią.

Materiał i metody

Przebadano 26 osób zakażonych HCV, pacjentów Kliniki Hepatologii i Nabytych Niedoborów Immunologicznych AM w Warszawie. Osoby do badania wybrano pod kątem występowania dolegliwości ze strony stawów, stanowiących główną skargę chorych. Częstość występowania tego typu dolegliwości w grupie wszystkich zakażonych HCV, będących pod opieką Kliniki Hepatologii, wynosi ok. 5%.

Wśród badanych chorych było 18 kobiet i 8 mężczyzn. Średnia wieku wynosiła 49 lat (od 33 do 62 lat). U 9 osób stwierdzono wyrównaną marskość wątroby; 16 osób w przeszłości leczono przeciwwirusowo interferonem lub interferonem z rybawiryną.

Objawy pozawątrobowe oceniano na podstawie badania podmiotowego i przedmiotowego oraz ankiety wypełnianej przez pacjentów.

Krioglobuliny oznaczano na podstawie ich zdolności do odwracalnej precypitacji w temp. 4°C. Po odwirowaniu w temp. 37°C surowicę przechowywano przez 4–6 dni w temp. +4°C. Jeśli stwierdzono pojawienie się zmętnienia, to probówkę wstawiano do ciepłarki na 1–2 godz., po czym porównywano z drugą probówką, przechowywaną cały czas w temp. +4°C. Jeżeli surowica w temp. 37°C stawała się klarowna lub następowało rozpuszczenie osadu, stwierdzano występowanie w badanej surowicy krioglobulin. Stężenie białka w krioprecypitacie wyliczano na podstawie ekstynkcji próbki metodą Kalkkara.

Obecność czynnika reumatoidalnego klasy IgM badano testem immunoenzymatycznym firmy Wampole Laboratories. Autoprzeciwiata przeciwjądrowe wykrywano metodą immunofluorescencyjną. Jako substrat tkankowy stosowano utrwalone skrawki wątroby szczura i ludzkie komórki nabłonkowe Hep-2 (firmy Euroimmun). Przeciwiata skierowane przeciwko antygenowi mitochondrialnemu (AMA-M₂) – dehydrogenazie kwasu pirogronowego badano metodą ELISA na płytkach Aesculisa AMA-M₂ firmy Pointe Scientific. Przeciwiata przeciwko cyklicznemu cytrulinowanemu peptydowi (epitopowi filagryny) badano metodą ELISA na płytkach Anti-CCP-ELISA (IgG) firmy Euroimmun. Przeciwiata przeciwko antygenowi SSA, SSB i α -fodrynie oznaczano metodą ELISA na płytkach firmy Pointe Scientific typu Aesculisa Anti-Fodrin-Check i Aesculisa SSA. Krążące kompleksy immunologiczne wiążące dopełniacz oznaczano testem ELISA CIC-C_{1q} Enzyme Immunoassay Kit firmy Quidel. Białko COMP oznaczano testem COMP ELISA firmy AnaMar.

Wyniki

W grupie 26 badanych osób z artralgią u 5 występowały okresowo obrzęki stawów, u 8 sztywność poranna. U żadnego z badanych nie stwierdzano zmian radiologicznych typowych dla RZS.

U 11 osób stwierdzono plamicę na podudziach typową dla *vasculitis* związanego z krieglobulinemią. Dwie osoby miały polineuropatię obwodową. Jedna pacjentka miała zapalenie błony naczyniowej oka. U jednej rozpoznano chorobę Behçeta. U 2 spośród badanych stwierdzono patologię nerek. Dwie z badanych osób miały rozpoznane w przeszłości chłoniaki z limfocytów B.

Sześć osób skarżyło się na uczucie suchości w jamie ustnej, w tym jedna także na kseroftalmię.

W wyżej opisanej grupie 26 osób z artralgią wykonano oznaczenia wybranych markerów autoimmunologicznych. Średnie częstości występowania wybranych markerów autoimmunologicznych przedstawiono w tab. I.

Obecność krieglobulin stwierdzono 62% badanych (16 osób), co jest odsetkiem wyraźnie większym niż stwierdzany w grupie osób zakażonych HCV nieselekcjonowanych pod kątem występowania dolegliwości stawowych, gdzie odsetek ten wynosi ok. 35%.

Białko COMP w wysokim stężeniu wykryto u 3 osób. Jedna z nich, mimo braku zmian radiologicznych w stawach i obrzęków stawowych, cierpiała na dotkliwe dolegliwości bólowe, wymagające przewlekłego, intensywnego leczenia przeciwbólowego. Cztery osoby miały pośrednie stężenia tego białka. Pośród 7 osób ze średnim lub dużym stężeniem COMP 5 miało marskość wątroby, a jedna aktywne zapalenie wątroby przechodzące w marskość.

RF IgM stwierdzono u 12 osób (46%). Występowanie krążących kompleksów immunologicznych wiążących dopełniacz stwierdzono u 6 pacjentów (23%). Obecność RF IgM i kompleksów immunologicznych korelowała z występowaniem krieglobulinemii.

W przypadku 11 osób (31%) stwierdzono obecność przeciwiata przeciwjądrowych w mianie co najmniej 1:100, w tym u 2 osób miano przeciwiata wynosiło 1:160.

U większości chorych w surowicy stwierdzono obecność przeciwiata przeciwko niezidentyfikowanemu składnikowi cytoplazmy komórek Hep-2, dającym drobnoplamisty lub włókienkowaty mieszany typ świecenia. W jednym przypadku potwierdzono obecność przeciwiata dla antygeny cytoplazmatycznego AMA-M₂.

Przeciwiata przeciwko fodrynie stwierdzono u 2 osób – z nasilonym zespołem suchości błon śluzowych, przeciwiata anty-SSA u 2 osób, anty-SSB również u 2 osób.

Przeciwiata przeciwko filagrynie stwierdzono u 1 osoby.

Dyskusja

Pozostaje niejasne, czy występowanie zaburzeń immunologicznych w zakażeniu HCV jest zależne od czasu trwania choroby, jej zaawansowania, czy występuje od początku zakażenia, czy też rozwija się w czasie. Ponieważ zakażenie HCV może długo pozostawać bezobjawowe, trudno jest określić, kiedy do niego doszło. Jednak wywiad epidemiologiczny (np. transfuzje przed 1992 r.) u 8 ocenianych pacjentów wskazywał na to, że do zakażenia HCV doszło u nich na kilka – kilkanaście lat przed wystąpieniem dolegliwości stawowych (3–18, średnio 8 lat). U 6 osób zakażenie HCV zostało udokumentowane przed wystąpieniem dolegliwości ze strony stawów lub objawów *vasculitis*. U 4 osób właśnie diagnostyka przyczyny bólów stawów doprowadziła do rozpoznania zakażenia HCV. Wydaje się jednak, że w większości przypadków artralgia oraz objawy zapalenia naczyń pojawiały się po wielu latach trwania zakażenia HCV. Zwraca uwagę stosunkowo wysoki odsetek chorych z marskością wątroby w grupie osób z bólami stawów, co może przemawiać za hipotezą rozwoju tych dolegliwości po długotrwałym zakażeniu HCV.

Większość chorych w badanej grupie (69%), dobranej pod kątem występowania bólów mięśni i stawów, stanowiły kobiety, u których zjawiska autoimmunologiczne występują częściej.

Trzynastu osób było leczonych interferonem w okresie, kiedy występowały u nich bóle stawów. U 10 z nich, paradoksalnie, dolegliwości te podczas terapii uległy zmniejszeniu. Jest to o tyle zastanawiające, że jednym z powszechnie opisywanych działań

Tabela 1. Objawy kliniczne i wyniki badań dodatkowych u pacjentów zakażonych HCV z artralgia
Table 1. *Clinical manifestation and results of the additional tests in the HCV infected patients*

Pacjent	Płeć	Wiek (lata)	Marskość wątroby	Plamica na podudziach	Nerki	Inne	Suchość	KRIO	ANA	Anty-CCP	RF IgM	CCI Clq	aSSA	aSSB	Anty-fodryna
AB	K	58					+						+		
AG	K	51	+					++		+/-	+				
BK	M	36									+	+			
BS	K	46		+++		NHL	+	+++			+				
DM	K	62	+	+				++			+				
DO	K	56	+												+
DW	K	46		++		łuszczyca	+	+			+				
EK	K	38													+
ES	K	36				choroba Behçeta		+			+	+		+	
GO	K	58		+		PN		+++	1:160		+				
HS	K	53		++				+			+				
JG	K	50		++			+	+			+				
JG	K	50		++				+							
JŻ	K	42				uveitis		+							
LP	M	55	+					+				+			
MB	K	36										+			
MB	M	51	+												
MG	K	44		++		NHL	+	++			+			+	
MK	K	62	+	+	+		+	++	1:160		+	+			
ME	M	51			+	PN							+		
ME	K	56		+				+++							
MM	K	47	+					+							
PG	M	33													
RM	M	56	+												
WK	M	50		+++				+++							
ZG	M	57	+								+	+			

NHL – chłoniak niezajmujący z limfocytów T

PN – polineuropatia obwodowa

niepożądanych interferonu jest wywoływanie bólów stawów, niekiedy o znacznym nasileniu. Zjawisko poprawy klinicznej w trakcie leczenia przeciwwirusowego pośrednio wskazuje na przyczynowy związek zakażenia wirusowego z bólami stawów. W trakcie leczenia u większości chorych dochodzi do obniżenia lub zniknięcia wiremii HCV.

U większości pacjentów ocenianych w niniejszej pracy w badaniu przedmiotowym nie stwierdzano cech zapalenia stawów – obrzęku, zaczerwienienia, wysięku. U 4 osób występowały okresowo symetryczne obrzęki stawów. U 8 osób występowała sztywność poranna stawów – u wszystkich stwierdzono w surowicy obecność RF IgM.

Obecność przeciwciał przeciwjądrowych wykryto w 11 z 35 badanych surowic (37%). Jest to odsetek wyższy niż podawany w piśmiennictwie [1, 11, 12]. Należy jednak zaznaczyć, że badani pacjenci byli dobrani pod kątem występowania dolegliwości, które mogą być związane z nieprawidłowymi reakcjami immunologicznymi. Miano przeciwciał u 9 osób wynosiło 1:100, czyli nie było klinicznie istotne. Typ świecenia był w 8 przypadkach plamisty. U pacjentów z przewlekłym zapaleniem wątroby typu C obecność w surowicy przeciwciał przeciwtkankowych jest zjawiskiem stosunkowo częstym, choć zazwyczaj miana autoprzeciwciał nie są wysokie.

W badanej grupie u większości chorych znaleziono w surowicy przeciwciała przeciwko nieznanemu składnikowi cytoplazmy. Spostrzeżenie to wymaga dalszych badań w celu oceny swoistości tych przeciwciał. Znanych jest ok. 150 autoantygenów cytoplazmatycznych, mogą być to elementy mitochondriów, enzymów, cytoszkieletu, rybosomalne białko P lub histydino-RNA transferazy i wiele innych. Tylko w jednej z badanych surowic stwierdzono, że aktywność ta skierowana jest przeciwko mitochondriom.

Krioglobulinemia w badanej grupie chorych była stwierdzana częściej niż w ogólnej populacji osób zakażonych HCV – u 62 vs 35% [1, 13]. U 12 osób (46%) wykryto obecność RF IgM. Wykazano silną zależność między występowaniem krioglobulinemii i obecnością RF IgM. U 11 osób (42%) występowały zmiany skórne związane z zapaleniem naczyń w postaci plamicy i wybroczyn na podudziach. U 2 osób (w tym jednej bez krioglobulinemii) występowała czuciowo-ruchowa polineuropatia obwodowa.

W surowicy 6 pacjentów (23%) stwierdzono obecność kompleksów immunologicznych wiążących dopełniacz. Nie wykazano korelacji między ich występowaniem a nasileniem objawów klinicznych. Kompleksy immunologiczne mogą działać jako superantygeny, powodując syntezę IgM, niereagujących z wirusem,

lecz mających aktywność czynnika reumatoidalnego. Powstające kompleksy immunologiczne mogą aktywować układ dopełniacza i brać udział w fizjologicznej odpowiedzi immunologicznej na zakażenia. Kompleksy immunologiczne usuwane są przez system fagocytujących mononuklearów układu siateczkowo-śródbłonkowego wątroby i śledziony, zwłaszcza komórki Kupffera.

Zespół suchości błon śluzowych jamy ustnej występował u 6 osób (23%). U 6 osób znaleziono markery autoagresji wobec ślinianek. Przeciwciała anty-SSA występowały u 2 osób (jednej z zespołem suchości), anty-SSB u 2 innych (jednej z zespołem suchości), a przeciwciała przeciwko fodyrynie u 2 osób.

Uwagę zwracało „nagromadzenie” objawów klinicznych u poszczególnych pacjentów. U większości chorych występowało po kilka objawów, takich jak bóle stawów, suchość błon śluzowych, zmiany skórne. Większość z nich ma etiologię immunologiczną. Pośrednio może to przemawiać za tym, że nieprawidłowości immunologiczne w zakażeniu HCV zależą od predyspozycji genetycznych danego pacjenta, a nie cech wirusa [1]. Nasilenie tych objawów było zmienne w czasie, zazwyczaj dolegliwości nasilały się, chociaż u 3 osób zaobserwowano samoistną remisję bólów stawowych. Siedem osób okresowo leczono glikokortykosteroidami.

Piśmiennictwo

1. Cacoub P, Poynard T, Ghillani P, et al. Extrahepatic manifestations of chronic hepatitis C. MULTIVIRC Group. *Arthritis Rheum* 1999; 42: 2204-2212.
2. Wilson LE, Widman D, Dikman SH, Gorevic PD. Autoimmune disease complicating antiviral therapy for hepatitis C virus infection. *Semin Arthritis Rheum* 2002; 32: 163-173.
3. Filipowicz-Sosnowska A, Stanisławska-Biernat E, Zubrzycka-Sienkiewicz A. Standardy diagnostyczno-terapeutyczne w najczęstszych chorobach reumatycznych. Reumatoidalne zapalenie stawów. *Reumatologia* 2000; 38 Supl. 1: 7-15.
4. Rivera J, García-Monforte A, Pineda A, Millán Núñez-Cortés J. Arthritis in patients with chronic hepatitis C virus infection. *J Rheumatol* 1996; 23: 979-983.
5. Ząbek J. Wartość diagnostyczna oraz ważniejsze metody oznaczania autoprzeciwciał w diagnostyce różnicowej układowych chorób tkanki łącznej. *Materiały XXXV Zjazdu TIP Pol Arch Med Wew* 2004, CXII: 347-350.
6. Kessel A, Rosner I, Zuckerman E, et al. Use of antikeratin antibodies to distinguish between rheumatoid arthritis and polyarthritis associated with hepatitis C infection. *J Rheumatol* 2000; 27: 610-612.
7. Vossenaar ER, van Venrooij WJ. Anti-CCP antibodies, a highly specific marker for (early) rheumatoid arthritis. *Clin Applied Immunol Rev* 2004; 4: 236-269.
8. Saxne T, Heinegard D. Cartilage Oligomeric Matrix Protein: a novel marker of cartilage turnover detectable in synovial fluid and blood (published erratum appears in *Br J Rheumatol* 1993; 32: 247). *Br J Rheumatol* 1992; 31: 583.

9. Ramos-Casals M, García-Carrasco M, Brito Zerón MP, et al. Viral etiopathogenesis of Sjögren's syndrome: role of hepatitis C virus. *Autoimmun Rev* 2002; 1: 238-243.
10. Ulbricht KU, Schmidt RE, Witte T. Antibodies against alpha-fodrin in Sjögren's syndrome. *Autoimmunity Rev* 2003; 2: 109-113.
11. Rosner I, Rozenbaum M, Toubi E, et al. The case for hepatitis C arthritis. *Semin Arthritis Rheum* 2004; 33: 375-387.
12. Jabłońska J, Ząbek J, Łoch T i wsp. Krioglobulinemia u chorych zakażonych wirusem zapalenia wątroby typu C. Część I – wybrane aspekty immunologiczne. *Hepatol Pol* 1999; 6: 165-170.
13. Jabłońska J, Ząbek J, Kozłowska J i wsp. Krioglobulinemia u chorych zakażonych wirusem zapalenia wątroby typu C. Część II – wybrane aspekty kliniczne. *Hepatol Pol* 2000; 6: 170-171.