

Uniwersytet Jagielloński
Collegium Medicum
Wydział Lekarski

Lek. med. Jacek Czepiel

**Gospodarka wapniowo-fosforanowa
u chorych z przewlekłym wirusowym zapaleniem
wątroby typu C**

Praca doktorska

Praca wykonana w Katedrze Gastroenterologii, Hepatologii i Chorób
Zakaźnych, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum

Promotor:

Prof. dr hab. med. Tomasz Mach

Kierownik Katedry Gastroenterologii, Hepatologii
i Chorób Zakaźnych CM UJ

Kraków 2007

Spis treści

1. Wstęp.....	4
1.1. Wirusowe zapalenie wątroby typu C.....	4
1.1.1. Wirus zapalenia wątroby typu C.....	4
1.1.2. Dane epidemiologiczne.....	5
1.1.3. Patogeneza zakażenia wirusem HCV.....	7
1.1.4. Drogi zakażenia wirusem zapalenia wątroby typu C.....	8
1.1.5. Obraz kliniczny wirusowego zapalenia wątroby typu C.....	11
1.1.6. Zmiany histopatologiczne w wątrobie.....	13
1.1.7. Rozpoznawanie zakażenia HCV.....	14
1.1.8. Leczenie wirusowego zapalenia wątroby typu C.....	15
1.2. Gospodarka wapniowo-fosforanowa.....	24
1.2.1. Wapń.....	24
1.2.2. Fosfor.....	26
1.2.3. Fosfataza kwaśna.....	27
1.2.4. Witamina D ₃	28
1.2.5. Parathormon.....	29
1.2.6. Kalcytonina.....	30
1.2.7. Estrogeny.....	30
1.2.8. Markery obrotu kostnego.....	31
1.3. Osteodystrofia wątrobowa.....	33
1.4. Hipotezy badawcze.....	37
2. Cel pracy	38
3. Materiał i metody.....	39

4. Wyniki.....	46
5. Dyskusja.....	75
6. Wnioski.....	92
7. Wykaz skrótów.....	93
8. Piśmiennictwo.....	95
9. Streszczenie w języku polskim.....	106
10. Streszczenie w języku angielskim.....	109
11. Wykaz rycin.....	111
12. Wykaz tabel.....	113

1. Wstęp

1.1. Wirusowe zapalenie wątroby typu C

1.1.1. Wirus zapalenia wątroby typu C

Wirusowe zapalenie wątroby typu C (wzw-C) jest powodowane przez wirusa HCV (*hepatitis C virus*) i jest jednym z najpoważniejszych problemów współczesnej medycyny. Wynika to z dużego rozpowszechnienia wirusa HCV na świecie, różnorodnych jego dróg transmisji i nadal braku zadawalającej skuteczności terapii. Ostre wzw-C u około 80 % zakażonych przechodzi w proces przewlekły, przewlekłe wzw typu C (pwzw-C), które po latach trwania może prowadzić do marskości wątroby i wielu powikłań typowych dla tego schorzenia, w tym również raka pierwotnego wątroby [1].

HCV został po raz pierwszy zidentyfikowany w USA w 1989 roku [12]. Zaliczany jest do flawiwirusów, składa się z rdzenia z jednoniciowym RNA zawierającym około 10 tysięcy nukleotydów, osłoniętego zewnętrzną osłonką lipidową. Średnica wirusa wynosi około 50-60 nm [2, 3]. Wyróżniamy 6 genotypów, oznaczanych cyframi od 1 do 6 oraz ponad 50 podtypów wirusa, oznaczanych kolejnymi literami alfabetu, np.: 1a, 1b, 2a, 2b. Sekwencje nukleotydowe poszczególnych genotypów różnią się w około 31-34 %, natomiast w grupie podtypów w około 20-23 % [19]. Ze względu na dużą zmienność genomu, częste mutacje, populacja HCV u zakażonego pacjenta jest znacznie zróżnicowana. To zróżnicowanie powoduje, iż wirus skutecznie broni się przed mechanizmami obronnymi układu immunologicznego gospodarza i proces zakażenia u większości chorych przewleka się prowadząc do przewlekłego zapalenia wątroby [19].

1.1.2. Dane epidemiologiczne

Według danych Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) 3 % populacji, czyli około 170 milionów ludzi na świecie, jest zakażonych wirusem HCV. Częstość występowania wzv-C wynosi od 0,1 % do 26 % w zależności od regionu. Corocznie na 100 tysięcy osób przypada od 1 do 3 nowych zachorowań i uważa się, iż dane te są raczej zaniżone, gdyż znaczny jest odsetek przypadków bezobjawowych lub skapoobjawowych [1, 20]. Najwyższa częstość zakażenia jest stwierdzana w Egipcie i wynosi około 17-26 %. Odsetek zakażeń HCV dla Europy Wschodniej wynosi około 0,7 – 4,9 % [12, 13].

W Polsce odsetek osób, u których stwierdzono obecność przeciwciał anti-HCV, wynosi około 1,4 %, co daje liczbę około 500 000 zakażonych ludzi. Jednak według najnowszych danych jest to liczba zaniżona i należy szacować liczbę zakażonych w Polsce na powyżej 700 000 ludzi. Najwyższy odsetek zakażeń w Polsce stwierdza się wśród narkomanów stosujących narkotyki drogą dożylną i wynosi około 57-90 %. Często zakażenie to występuje u narkomanów zakażonych również wirusem HIV [6, 9, 10, 19].

Wśród wyróżnianych 6 typów wirusa HCV najczęstszy jest genotyp 1. Zakażenie tym genotypem dotyczy 40-80 % wszystkich chorych zakażonych HCV. Genotyp 1 przeważa w Stanach Zjednoczonych, Europie i Japonii. W Europie i Japonii, częściej niż w USA, spotykane są także genotypy 2 i 3. Genotyp 4 jest najczęstszy w Egipcie i krajach Bliskiego Wschodu. Genotyp 5 jest typowy dla Afryki Południowej, zaś genotyp 6 dla Hong-Kongu i innych krajów Azji Południowo-Wschodniej. Genotypy 4, 5, 6 poza regionami wymienionymi powyżej bardzo rzadko są spotykane w innych regionach świata. W Polsce około 80-85 % chorych jest zakażonych genotypem 1, jest to głównie genotyp 1b [6, 24, 87, 88].

Częstość nowych zakażeń na świecie jest wciąż bardzo wysoka, jednakże w niektórych regionach obniża się. Zgodnie z danymi CDC (*Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, USA*) częstość nowych zachorowań w USA obniżyła się. W

latach osiemdziesiątych wynosiła około 230 tysięcy nowych zachorowań w każdym roku, natomiast pod koniec lat dziewięćdziesiątych spadła do około 36 tysięcy, najpewniej tendencja taka dotyczy większości krajów wysoko rozwiniętych. Wydaje się, iż ma to związek z wdrożeniem rygorystycznych przepisów, zmniejszających prawdopodobieństwo zakażeń w placówkach służby zdrowia. Powszechnie uważa się, iż w najbliższych latach wzrośnie liczba chorych z powikłaniami pzwz-C. Szacuje się, iż w najbliższej dekadzie dojdzie do około 60 % wzrostu liczby chorych z marskością wątroby, około 280 % wzrostu częstości przypadków dekompensacji czynności wątroby, około 70 % wzrostu częstości występowania raka pierwotnego wątroby i aż ponad 500 % wzrostu zapotrzebowania na przeszczep wątroby. Szacuje się też, iż w latach 2010 – 2020, z powodu powikłań zakażenia HCV, umrze około 170 tysięcy ludzi [20].

Sytuację epidemiologiczną w Polsce w latach 1998-2004 przedstawia tabela 1 (dane – według Państwowego Zakładu Higieny i Głównego Inspektoratu Sanitarnego).

Tabela 1. Liczba zachorowań i zapadalność na wzw-C w Polsce w latach 1998-2004 (według PZH i GIS)

	Liczba zachorowań	Zapadalność na 100 tysięcy
--	--------------------------	-----------------------------------

rOK		ludności
1998	1710	4,42
1999	1988	5,14
2000	2086	5,40
2001	1953	5,05
2002	1978	5,17
2003	2255	5,9
2004	2157	5,65

1.1.3. Patogeneza zakażenia wirusem HCV

Patogeneza zakażenia HCV nie jest w pełni poznana. Wirus po wniknięciu do organizmu stymuluje pomocnicze limfocyty CD4+ i cytotoksyczne limfocyty CD8+. W wyniku pobudzenia subpopulacji Th1 limfocytów CD4 dochodzi do wytwarzania cytokin prozapalnych, wzmacniających odpowiedź limfocytów cytotoksycznych, natomiast wskutek pobudzenia subpopulacji Th2 dochodzi do wytwarzania cytokin wspomagających różnicowanie limfocytów B. Zarówno limfocyty cytotoksyczne, jak i cytokiny prozapalne, mają zdolność przyśpieszania apoptozy i wywoływania lizy zakażonych komórek. U osób zdolnych do samoistnej eliminacji HCV dominuje odpowiedź typu Th1, jest ona zarówno wysoce swoista, jak i szeroka, ukierunkowana przeciw wielu epitopom białek wirusa. HCV charakteryzuje się wysoką zmiennością, we krwi osoby zakażonej obecne są wiriony różniące się nawet do 5 % sekwencją nukleotydów, co utrudnia skuteczną odpowiedź układu immunologicznego przeciw HCV, mutanty są bowiem rozpoznawane z opóźnieniem przez układ immunologiczny gospodarza [26, 27]. HCV posiada też zdolność osłabiania odpowiedzi immunologicznej skierowanej przeciw niemu. Rdzeń HCV wchodzi w interakcje z receptorem komórek T cytotoksycznych (CTR), co powoduje zmniejszenie ekspresji wczesnych markerów aktywacji tych limfocytów, w wyniku czego dochodzi do spadku wytwarzania przez nie

cytokin IL-2 i IFN γ . Kolejnym, ważnym, czynnikiem jest interferencja wirusa w system mechanizmów oksydacji-antyoksydacji, co wydaje się korelować z uszkodzeniem komórek i procesem włóknienia w wątrobie [19, 89].

1.1.4. Drogi zakażenia wirusem zapalenia wątroby typu C

Do zakażenia wirusem HCV może dojść poprzez krew i produkty krwiopochodne, poprzez kontakty płciowe i na drodze wertykalnej z zakażonej matki na jej dziecko. Wyróżniamy także tzw. „sporadyczne” zakażenia, w których droga zakażenia jest nieznana. Stanowią one nawet do 40 % wszystkich przypadków zachorowań na wzv-C.

Do zakażenia poprzez krew może dochodzić przy transfuzjach krwi, transplantacjach narządów, podczas wykonywania inwazyjnych zabiegów diagnostycznych (np. pobieranie krwi, biopsje narządów, badania endoskopowe). U chorych z przewlekłym zakażeniem HCV w 1 ml krwi chorego znajduje się około 10^5 do 10^7 cząstek wirusa, a u około 15 % chorych nawet 10^9 /ml. Ilość wirusa w płynach ustrojowych i tkankach jest znacznie mniejsza [19]. Infekcja HCV występuje w znacznym odsetku u chorych uzależnionych od dożylnych środków odurzających. Szczególnymi grupami pacjentów narażonych na zakażenie HCV są chorzy na hemofilię oraz osoby z krańcową niewydolnością nerek, które są przewlekle dializowane [106].

Szacuje się, że na świecie około 50-90 % chorych na hemofilię jest zakażonych HCV [2, 19]. Jest to spowodowane leczeniem licznymi przetoczeniami krwi i preparatów krwiopochodnych. Należy jednak podkreślić, iż wprowadzenie najnowszych metod diagnostycznych w krwiolecznictwie obniżyło ryzyko zakażenia tym wirusem.

Częstość występowania anty-HCV we krwi osób przewlekle dializowanych zależy od okresu trwania dializoterapii i rośnie proporcjonalnie do czasu leczenia. W skali

światowej szacuje się częstość infekcji HCV w tej grupie na około 10-20 %, a w Polsce 30-58 % [2, 19].

W przypadku transplantacji narządu pobranego od pacjenta zakażonego wirusem HCV u biorcy do infekcji dochodzi w około 50 % przypadków [2]. W związku z leczeniem immunosupresyjnym, włączanym po przeszczepie, u biorcy zakażonego HCV często dochodzi do zapalenia o charakterze przewlekłym lub piorunującym.

Drogą krwi może dojść do zachorowań zawodowych, głównie u pracowników służby zdrowia, policjantów, strażników miejskich, pracowników służb penitencjarnych. Wraz z poznaniem wirusa, a następnie pojawieniem się testów nowszych generacji, maleje odsetek zakażeń przenoszonych przez transfuzję krwi, lub transplantację narządów. Przed poznaniem wirusa, krew uznawano za potencjalnie zakaźną (lub dawcę – potencjalnie zakażonego), jeżeli stwierdzano podniesioną aktywność aminotransferazy alaninowej (ALT). Test ELISA (*enzyme linked immunosorbent assay* - test immunoenzymatyczny) pierwszej generacji do detekcji przeciwciał anty-HCV, wprowadzony został w maju 1990 roku. Charakteryzował się on 46 % czułością. Test ELISA drugiej generacji, wprowadzony w lipcu 1991 roku, miał czułość około 60 %. Dopiero wprowadzenie testu RIBA-II (*recombinant immunoblot assay*) zwiększyło czułość metody do 90 %. Badania przeprowadzone w Stanach Zjednoczonych w 1992 roku wykazały, że ryzyko zakażenia HCV w czasie transfuzji krwi wynosiło aż 4 %, a po wprowadzeniu testów drugiej generacji (ELISA, RIBA-II) obniżyło się do 0,6 %. Testy ELISA III generacji cechują się czułością i swoistością sięgającą nawet 99 %, a dodatkowe wykonywanie oznaczenia HCV-RNA metodą PCR (*polymerase chain reaction* - reakcja łańcuchowa polimerazy), bardzo znacznie ograniczyło możliwość zakażenia drogą transfuzji [19].

Do zakażenia HCV może też dojść na drodze okołoporodowej. Niejasna jest wciąż droga, jaką wirus przedostaje się z matki do dziecka oraz kiedy do tego dochodzi: w trakcie ciąży, podczas porodu, czy po porodzie podczas karmienia piersią. Jak dotąd nie udowodniono sugerowanej drogi zakażenia poprzez pokarm matki. Obecnie nieznane są możliwości ochrony dziecka przed zakażeniem HCV. Do zakażenia dziecka dochodzi częściej w przypadku rozwijania się ostrego wzv-C w trzecim trymestrze ciąży, a także w przypadku koinfekcji HIV. Należy pamiętać, że tuż po porodzie we krwi dziecka można wykryć biernie przeniesione od matki przeciwciała anti-HCV, które są obecne nawet do 1,5 roku od porodu, nie mają one jednak żadnego znaczenia patogenetycznego [2, 15, 16, 17, 18, 90].

Możliwość zakażenia drogą kontaktów seksualnych szacuje się na 2-27 %, w zależności od opracowania, średnio przyjmuje się, iż jest to nie więcej niż 15 %. Odsetek zakażonych koreluje z ilością partnerów seksualnych, częściej też zakażone są prostytutki i partnerzy osób przyjmujących dożylnie narkotyki. Natomiast zmienne dane są podawane w przypadku homoseksualistów [2, 19].

Również zmienne dane dotyczą przenoszenia wewnątrzrodzinnego. Szacuje się częstość infekcji na około 6-23 % dla współmałżonków. Przypadki tzw. sporadycznego zapalenia wątroby stanowią nawet do 40 % wszystkich zakażeń. Do tej grupy zaliczamy zakażenia występujące nie epidemicznie, poza rejonami endemii, gdy droga przenoszenia wirusa jest nieznana [2, 19].

1.1.5. Obraz kliniczny wirusowego zapalenia wątroby typu C

Okres inkubacji wirusa wzv-C wynosi przeciętnie od 15 do 150 dni, średnio 50 dni [3, 5]. Najwcześniej przeciwciała anti-HCV wykrywa się po 4 tygodniach od

zakażenia, w większości jednak przypadków okres ten przekracza 10 tygodni. U około 7 % chorych nie stwierdza się w ogóle serokonwersji [1, 2, 3]. W ponad 70 % przypadków ostra faza infekcji przebiega bezobjawowo. Niecharakterystyczne objawy występują w około 10 - 30 % przypadków. Objawy zwiastunowe, o ile występują, polegają przeważnie na dyspepsji, rzadziej objawach grypopodobnych, mogą wystąpić bóle mięśniowo-stawowe i stany podgorączkowe. Żółtaczka i powiększenie wątroby występują rzadko, nie częściej niż w 1/3 przypadków. Aktywność aminotransferazy alaninowej we krwi chorych na ostre wzv-C jest przeważnie około 10-krotnie podwyższona w stosunku do wartości referencyjnych. Zapalenie wątroby o charakterze piorunującym obserwuje się niezwykle rzadko. Natomiast aż u 80 % chorych dochodzi do przejścia zakażenia w proces przewlekły. Przebycie infekcji HCV z potwierdzonym brakiem HCV-RNA w tkance wątrobowej po zakażeniu nie wyklucza ponownej infekcji [4, 19].

W trakcie trwającego wiele lat przewlekłego wzv typ C dochodzi do stopniowo nasilającego się uszkodzenia tego narządu. Z reguły bardzo długo nie występują żadne objawy. Jedynym objawem może być uczucie zmęczenia, lub dolegliwości bólowe pod prawym łukiem żebrowym. Aktywność aminotransferazy alaninowej we krwi waha się od prawidłowego do nieznacznie podwyższonego (z reguły do 200 U/L). Aktywność GGTP (gammaglutamylotranspeptydazy) i fosfatazy alkalicznej oraz stężenie bilirubiny we krwi mogą być nieznacznie podwyższone. Po około 20 latach u około 20 % chorych dochodzi do rozwoju marskości wątroby [91, 93, 99, 100]. Do powikłań związanych z marskością wątroby należą zaburzenia krzepnięcia (tendencja do krwawień), nadciśnienie wrotne wraz z jego następstwami (wodobrzusze, żylaki przełyku z krwawieniami, splenomegalia), zaburzenia hematopoezy (włącznie z pancytopenią), encefalopatia wątrobowa, zespół wątrobowo-nerkowy (czynnościowa niewydolność nerek wynikająca z upośledzenia funkcjonowania wątroby) i wreszcie pierwotny rak wątroby. Powyższe

objawy pojawiają się w trakcie trwania pzw-C stopniowo i pogarszają jakość życia chorego oraz zwiększają ryzyko zgonu.

Śmiertelność wśród chorych z marskością wątroby, związaną z zakażeniem HCV, w wyniku rozwoju nadciśnienia wrotnego, niewydolności wątroby lub pierwotnego raka wątroby wynosi 2-5 % rocznie [11], natomiast częstość rozwoju raka wątroby wynosi około 1-4 % / rok [19].

HCV wykazuje powinowactwo nie tylko do hepatocytów, ale także do monocytów/makrofagów i limfocytów krwi obwodowej, które uważa się za potencjalny rezerwuar wirusa. HCV poza pierwotnym uszkodzeniem wątroby, prawdopodobnie jest źródłem również innych patologii u osób zakażonych. Wirus może indukować autoimmunologiczne zapalenia wątroby. Poza tym z zakażeniem wirusem HCV wiąże się takie schorzenia, jak krioglobulinemia II i III, porfiria skórna późna, błoniasto-rozplemowe zapalenie kłębuszków nerkowych, zapalenie stawów, obwodowe neuropatie. HCV, podobnie jak HBV, jest najczęstszym czynnikiem karcynogennym, doprowadzającym do pierwotnego raka wątroby [1, 7]. Do tej pory nie poznano mechanizmów odpowiedzialnych za wywoływanie przez HCV pierwotnego raka wątroby. Nie wiadomo, czy HCV oddziałuje pośrednio, czy też bezpośrednio na wątrobę. Jedną z teorii zakłada, że podstawowe znaczenie w karcynogenezie ma przewlekły proces zapalny, podczas którego dochodzi do martwicy i przebudowy hepatocytów, w następstwie czego powstają mutacje, a w konsekwencji po latach rozwija się pierwotny rak wątroby [6]. Teorii tej przeczy jednak fakt znacznie rzadszego występowania tego raka w schorzeniach, w których dochodzi do podobnych zmian w narządzie, jak na przykład autoimmunologiczne zapalenie wątroby. Prawdopodobnie istnieje bezpośrednie powiązanie HCV z procesem karcynogenezy, możliwe, że istotną rolę odgrywają wytwarzane przez wirus białka [7].

1.1.6. Zmiany histopatologiczne w wątrobie

Zmiany histopatologiczne w wątrobie w przebiegu pwzw-C zarówno w jego ostrej, jak i przewlekłej fazie, cechują się obecnością nacieków zapalnych, włóknienia i zmian degeneracyjnych hepatocytów. Nacieki zapalne są zlokalizowane wewnątrzrzazikowo oraz w przestrzeniach bramnych, są utworzone przez limfocyty, plazmocyty oraz komórki prezentujące antygen. Natomiast zmiany degeneracyjne mają charakter obrzmienia komórek, kwasochłonnych zmian wstecznych, ciałek kwasochłonnych lub ciałek Councilmana, u około połowy chorych z pwzw-C występuje stłuszczenie hepatocytów. Martwica hepatocytów może być ogniskowa lub zlewna, a jeżeli martwica zlewna łączy struktury naczyniowe przestrzeni bramnych określana jest jako martwica mostkowa. Topografia zmian zapalnych i degeneracyjnych komórek wątrobowych zależy od fazy zapalenia, w ostrej fazie przeważają zmiany rzazikowe, natomiast w przewlekłej przeważnie bardziej nasilone są zmiany w przestrzeniach bramnych.

Obraz histopatologiczny w zakażeniu HCV jest podobny do zmian występujących w infekcji HBV, jednak w pwzw-C częściej opisywane jest uszkodzenie dróg żółciowych, tworzenie się uformowanych grudek chłonnych w przestrzeniach bramnych, ogniskowe stłuszczenie wielkowodnicznowe (grubokropelkowe) hepatocytów oraz niekiedy obecność ciałek Mallory'ego [25].

1.1.7. Rozpoznawanie zakażenia HCV

Podstawowym testem diagnostycznym w rozpoznaniu zakażenia HCV jest oznaczenie przeciwciał anti-HCV metodą ELISA. Obecnie w tym celu wykorzystuje się testy ELISA III generacji, zawierające antygeny rdzenia (C) oraz co najmniej 2 antygeny białek niestrukturalnych. Czułość i swoistość tych testów wynosi około 99 %. Sama obecność przeciwciał anti-HCV we krwi nie jest jeszcze dowodem na utrzymujące się zakażenie. Przeciwciała te mogą być obecne także u osób, które przebyły wzv-C, należy również pamiętać, iż możliwa jest u osób z immunosupresją infekcja HCV bez pojawienia się przeciwciał anti-HCV. Kolejnym badaniem, które powinno się wykonać po stwierdzeniu przeciwciał anti-HCV jest ocena obecności we krwi materiału genetycznego wirusa, czyli HCV-RNA. Do tego celu wykorzystuje się najczęściej metodę RT-PCR (*reverse transcription polymerase chain reaction*), test jakościowy i ilościowy. Swoistość tego badania sięga 98 %. Metodę RT-PCR wykorzystujemy celem zdiagnozowania choroby. Do oceny ilościowej wirusa, niezbędnej zwłaszcza w ocenie skuteczności leczenia przeciwwirusowego, wykorzystuje się metodę bDNA (*branched DNA*). Do nowszych badań należy test oceniający obecność antygeny rdzeniowego HCV (HCVAg), przydatny w trakcie tzw. okienka serologicznego, zanim pojawią się przeciwciała anti-HCV [81, 82, 83].

Najwcześniejszym markerem infekcji HCV jest stwierdzenie obecności HCV-RNA, który pojawia się przeciętnie po 1 do 2 tygodni od wniknięcia wirusa do organizmu. Z niewielkim, około 1-1,5 dniowym, opóźnieniem pojawia się HCVAg. Przeciwciała anti-HCV można wykryć średnio od 3 do 8 tygodni po zakażeniu, przeciętnie 34 dni od chwili pojawienia się HCV-RNA we krwi [14, 19]. U chorych z pwzw-C regularnie w okresach od 3 do 6 miesięcy należy oznaczać we krwi parametry świadczące o funkcji wątroby. Są to aktywność ALT, AST (aminotransferazy asparaginianowej), GGTP, cholinesterazy, fosfatazy alkalicznej, LDH (dehydrogenazy

mleczanowej), stężenie bilirubiny i albumin, wskaźnik protrombiny i APTT (czas kaolinowo-kefalinowy).

Co roku powinno być wykonane badanie ultrasonograficzne (USG) jamy brzusznej. U chorych z marskością wątroby, badanie USG oraz oznaczenie alfa-fetoproteiny we krwi, powinny być wykonywane co 6 miesięcy, są to przesiewowe metody pomocne w wykrywaniu raka pierwotnego wątroby [19].

1.1.8. Leczenie wirusowego zapalenia wątroby typu C

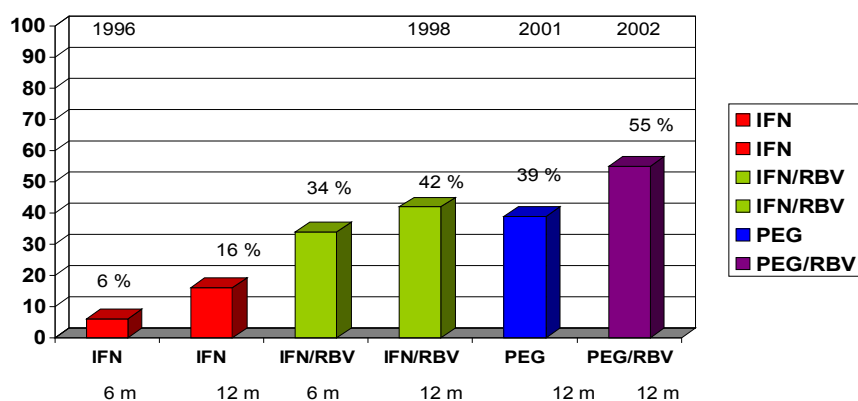
Leczenie pzw-C jest poważnym wyzwaniem współczesnej medycyny. Odsetek osób chorych na ostre wzw, u których dochodzi do samoistnej eliminacji HCV i wyleczenia, jest najniższy spośród wszystkich postaci wzw i sięga 15-20 %. Tak więc u większości chorych zakażenie przebiega jako przewlekłe wzw. Przebieg tej choroby jest co prawda z reguły stosunkowo wolny i u większości chorych bezobjawowy, ale nieuchronnie prowadzi do nieodwracalnych powikłań. Jeżeli do zakażenia dojdzie u młodych osób, mających przed sobą potencjalnie wiele lat życia, jest niemal pewne, że do tychże powikłań dojdzie. Z kolei zakażenie HCV u osób w wieku powyżej 50 roku życia prowadzi do szybko rozwijającego się włóknienia wątroby i w konsekwencji do marskości wątroby.

Współczesne leczenie pzw-C polega na skojarzonym podawaniu pegylowanego interferonu (IFN) alfa z rybawiryną (RBV) przez okres od 24 do 48 tygodni, w zależności od genotypu wirusa. Do niedawna najczęściej stosowane były w tym celu rekombinowane interferony, obecnie zostały one zastąpione przez rekombinowane interferony pegylowane [28, 101, 102, 105, 107].

Od 1989 roku aż do dnia dzisiejszego stopniowo wzrasta skuteczność leczenia pzwz-C. Początkowo stosowana, sześciomiesięczna terapia interferonem, cechowała się 6 % skutecznością, natomiast dwunastomiesięczna 16 % skutecznością. Po wprowadzeniu do leczenia rybawiryny skuteczność terapii wzrosła do 34 %, jeżeli trwała ona 6 miesięcy oraz do 42 % jeżeli trwała 12 miesięcy. Po wprowadzeniu do terapii pegylowanego interferonu wraz z rybawiryną skuteczność terapii wynosi u chorych z genotypem HCV innym niż 1 do 78 %, zaś do 55 % u chorych zakażonych genotypem 1 [19, 23, 84, 85, 86, 98, 101, 102].

Schematycznie postępy w terapii pzwz-C przedstawia rycina nr 1 [23].

Rycina 1. Skuteczność leczenia pzwz typu C na przestrzeni lat



Mechanizm działania interferonów jest złożony i obejmuje [19]:

- wzrost liczby cząstek MHC - klasy I, co wspomaga rozpoznawanie antygenów wirusa,
- pobudzenie proliferacji i czynnościowego różnicowania limfocytów,
- wzrost aktywności komórek NK, makrofagów oraz subpopulacji Th1 komórek CD 4+,
- hamowanie replikacji wirusa w zakażonej komórce.

Natomiast mechanizm działania rybawiryny polega na [19]:

- hamowaniu polimerazy NS5B wirusa HCV,
- zmniejszeniu wewnątrzkomórkowego stężenia guaniny,
- indukcji komórek typu Th1 CD4+,
- przyspieszaniu mutagenności wirusa, aż do doprowadzenia do powstania mutacji letalnych (nadmiar błędów).

Wprowadzenie pegylowanych interferonów poprawiło skuteczność terapii zakażenia HCV. Interferon pegylowany różni się od interferonu sprzężeniem metodami inżynierii genetycznej jego cząstki z glikolem polietylenowym (PEG). Takie sprzężenie powoduje zmniejszenie jego klirensu, wydłużenie okresu półtrwania i wzrost jego biodostępności. Dzięki cząsteczce glikolu polietylenowego lek dłużej utrzymuje się we krwi i jego poziom jest stabilniejszy [19, 28, 92].

Działania niepożądane interferonu i rybawiryny przedstawiono w tabelach 2 i 3 [6].

Tabela 2. Działania niepożądane interferonu

- | |
|---|
| <ul style="list-style-type: none">• GORĄCZKA• OBJAWY GRYPOPODOBNE• BEZSENNOŚĆ, POGORSZENIE NASTROJU, DEPRESJA• ZABURZENIA CZYNNOŚCI TARCZYCY• LEUKOPENIA, MAŁOPŁYTKOWOŚĆ• WYPADANIE WŁOSÓW |
|---|

- POGORSZENIE APETYTU, UTRATA MASY CIAŁA
- SKÓRNE REAKCJE ALERGICZNE

Tabela 3. Działania niepożądane rybawiryny

- HEMOLIZA
- WZROST STĘŻENIA KWASU MOCZOWEGO W SUROWICY
- KASZEL
- WYSYPKA, ŚWIĄD SKÓRY

Nie wszyscy chorzy na pzwz-C wymagają leczenia przeciwwirusowego, a kryteria włączania pacjentów do terapii ustalane przez grupy ekspertów w różnych krajach, w ostatnich latach, ulegają zmianom. Początkowo leczenie zalecano chorym na pzwz-C z utrzymującą się podwyższoną aktywnością ALT powyżej 6 miesięcy, z wyrównaną czynnością wątroby, zmianami histologicznymi wątroby polegającymi na obecności włóknienia i zapalenia oraz z nieobecnymi przeciwwskazaniami. Takie leczenie interferonem i rybawiryną, trwające od 24 do 48 tygodni, w zależności od genotypu wirusa, cechowało się skutecznością do 40 % [28, 101].

W ostatnich latach stwierdzono, iż pomimo prawidłowej aktywności ALT zmiany w wątrobie mogą być przebiegu pzwz-C zaawansowane i poddawano wątpliwość teorii, iż u chorych z prawidłową aktywnością ALT choroba rozwija się w stopniu minimalnym.

Schiffman z Uniwersytetu w Richmond zaprezentował wyniki badań, w których oceniano 480 chorych z pzw-C mających stale prawidłową aktywność ALT. Chorzy w ocenie histologicznej cechowali się mniejszym nasileniem choroby, niż chorzy z wysokimi aktywnościami ALT. Znaczna część tych pacjentów (36 %) miała jednak zaawansowane zmiany martwiczo-zapalne, a 10 % istotne nasilenie włóknienia. Na podstawie tych badań Schiffman zaleca, aby chorych z prawidłową aktywnością ALT traktować tak samo, jak tych z podwyższoną aktywnością ALT [21].

Kolejnym ważnym doniesieniem ostatniego okresu jest praca Prati i wsp. Autorzy wykazali, iż chorzy, z prawidłowymi parametrami ALT, którzy byli leczeni pegylowanym interferonem z rybawiryną i uzyskiwali SVR (trwała odpowiedź wirusologiczna - *sustained virological response*) cechowali się dalszym spadkiem aktywności ALT [22]. W związku z powyższymi faktami obecnie *American Association for the Study of the Liver Diseases* (AASLD) zaleca następujące podejście w ocenie włączania chorych z pzw-C do terapii przeciwwirusowej. Należy wyróżnić trzy grupy pacjentów, pierwsze dwie grupy to chorzy cechujący się albo niepodlegającymi dyskusji wskazaniami lub przeciwwskazaniami. Trzecia grupa to chorzy, którym włączenie terapii nie jest tak oczywiste i powinno się ich oceniać indywidualnie. Warunkiem włączenia pacjentów do terapii jest potwierdzenie obecności we krwi materiału genetycznego wirusa, czyli HCV-RNA. Zalecenia dotyczące kwalifikacji chorych do leczenia interferonem z rybawiryną przedstawiono w tabelach 4, 5 i 6 [23].

Tabela 4. Charakterystyka chorych, dla których kryteria włączenia do terapii są powszechnie akceptowane

- WIEK OD 18 ROKU ŻYCIA
- NIEPRAWIDŁOWA AKTYWNOŚĆ ALT
- W BIOPSI WĄTROBY CECHY PWZW ZE ZNACZĄCYM WŁÓKNIENIEM
- WYRÓWNANA CZYNNOŚĆ WĄTROBY (STĘŻENIE BILIRUBINY < 1,5 MG/DL, INR < 1,5, ALBUMINA > 3,4 G/DL, ILOŚĆ PŁYTEK > 75 TYS./MM³, BRAK ENCEFALOPATII, BRAK WODOBRZUSZA)
- NASTĘPUJĄCE PARAMETRY: HEMOGLOBINA > 13 G/DL DLA MĘŻCZYZN ORAZ > 12 G/DL DLA KOBIET; POZIOM NEUTROFILII > 1,5 TYS./MM³, KREATYNINA < 1,5 MG/DL
- NIE JEST PRZECIWSKAZANIEM DOBRZE KONTROLOWANA DEPRESJA
- BRAK PRZECIWSKAZAŃ BEZWZGLĘDNYCH

Tabela 5. Charakterystyka chorych z bezwzględnymi przeciwwskazaniami do włączenia leczenia

Tabela 6. Charakterystyka chorych, u których decyzja o włączeniu do grupy leczonych powinna być rozpatrywana indywidualnie

- UTRZYMUJĄCE SIĘ PRAWDŁOWE WARTOŚCI ALT
- PACJENCI UZALEŻNIENI OD NARKOTYKÓW LUB ALKOHOLU, ALE WYRAŻAJĄCYCH CHĘĆ DO PRZYSTĄPIENIA DO LECZENIA ODWYKOWEGO
- W BADANIU HISTOLOGICZNYM WĄTROBY BRAK ALBO NIEZNACZNE WŁÓKNIENIE
- WIEK < 18 ROKU ŻYCIA
- PRZEWLEKŁE SCHORZENIA NEREK
- NIEWYRÓWNANA MARSKOŚĆ WĄTROBY (B I C WEDŁUG KLASYFIKACJI CHILD-POUGH)
- PACJENCI PO PRZESZCZEPACH WĄTROBY

Celem leczenia pzw-C jest trwałe zahamowanie replikacji wirusa, brak HCV-RNA we krwi, zatrzymanie lub spowolnienie zmian histopatologicznych w wątrobie i normalizacja biochemiczna parametrów wątrobowych (ALT i AST).

Zróżnicowanie sekwencji nukleotydów w RNA wirusowym, obserwowane w poszczególnych genotypach i podtypach wirusa, ma istotny wpływ na odpowiedź na leczenie. Gorsze wyniki leczenia są charakterystyczne dla genotypu 1 oraz 4. Zróżnicowanie genotypowe HCV, a w konsekwencji zróżnicowanie w antygenowości, utrudnia także skonstruowanie skutecznej szczepionki [7, 8].

Niezmiernie ważna jest odpowiednia opieka lekarska nad chorym z pzw-C w trakcie leczenia schorzenia oraz jego powikłań. Kontynuowane są prace badawcze nad terapią pzw-C, pozwalają one zrozumieć patogenezę choroby i jej przebieg oraz na dalsze poszukiwanie nowych, skuteczniejszych metod terapii. Niezbędne jest także informowanie społeczeństwa, czym jest wzw-C, jak można się z przed nim uchronić, jak postępować w razie zachorowania. Uświadomienie zagrożeń związanych z zakażeniem HCV ma kluczowe znaczenie w zapobieganiu infekcji, gdyż jak dotąd brak jest metod jej prewencji metodami szczepień.

1.2. Gospodarka wapniowo-fosforanowa

1.2.1. Wapń

Zawartość wapnia w organizmie człowieka dorosłego wynosi około 1,5 kg (20-25 g/kg beztłuszczowej masy ciała). Około 99 % zasobów wapnia wchodzi w skład hydroksyapatytu, który jest podstawowym składnikiem układu kostnego człowieka, natomiast 0,01 % całkowitej puli wapnia występuje w płynach ustrojowych. Pozostała ilość wapnia występuje w przestrzeni międzykomórkowej i śródkomórkowej, głównie w postaci jonu dwuwartościowego. Wapń w tej postaci jest kofaktorem wielu enzymów, reguluje aktywność ATP-az, bierze udział w wielu fizjologicznych procesach

niezbędnych do prawidłowego funkcjonowania organizmu na poziomie komórkowym. Dienne zapotrzebowanie dorosłej osoby na wapń wynosi 25 mmol (1 g), taką ilość wapnia dorosły traci z moczem i kałem [29, 33].

Ilość wapnia w organizmie zależy od podaży w diecie, jest regulowana przez sam wapń, poprzez wapniowe receptory na enterocytach jelita cienkiego oraz przez szereg czynników hormonalnych, takich jak $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, PTH, kalcytoninę, estrogeny. Wymienione hormony odgrywają podstawową rolę w homeostazie wapnia poprzez wpływ na jego wchłanianie w przewodzie pokarmowym, resorpcję zwrotną w kanalikach nerkowych oraz uwalnianie z kości. Z całości dobowej podaży wapnia około 25-50 % jest resorbowane, głównie w jelicie cienkim [32].

Wapń w osoczu występuje w trzech formach, jedyną aktywną biologicznie formą jest wapń zjonizowany Ca^{++} [29]:

- wapń wolny (zjonizowany) – około 48 %
- wapń związany z białkami – około 45-50 %
- wapń związany z innymi jonami (cytrynianami, fosforanami, mleczanami, siarczanami).

Wapń związany z białkami w 80 % jest związany z albuminami, a w 20 % z globulinami. Stężenie albumin jest wprost proporcjonalne do stężenia wapnia całkowitego w surowicy.

Poza wyżej wymienionymi czynnikami, stężenie wapnia w osoczu zależy także od pH krwi. Zmiany pH krwi wpływają na stężenie wapnia zjonizowanego i tak nasilenie zasadowości krwi powoduje obniżenie stężenia wapnia zjonizowanego i odwrotnie, nasilenie kwasicy doprowadza do wzrostu stężenia wapnia zjonizowanego w surowicy [29].

Pomiar wapnia w surowicy stanowi istotny problem analityczny. Wapń jest kationem o silnym ładunku jonowym, ma tendencję do tworzenia trudno dysocjujących kompleksów z białkami i anionami organicznymi. Tylko około 48 % wapnia występuje w postaci wapnia zjonizowanego, czyli wolnego. Tylko ta postać wapnia jest dostępna procesom metabolicznym. Pomiar tej właśnie postaci jest więc najistotniejszy. Ocena stężenia wapnia zjonizowanego możemy dokonać przy pomocy trzech podstawowych sposobów. Najmniej dokładny jest pomiar przy założeniu, że 48 % wapnia całkowitego jest wapniem zjonizowanym. W tej metodzie zakłada się typowy dla osoby zdrowej odsetek albumin we krwi. Dokładniejszą metodą jest obliczanie korygujące, które polega na tym, że stężenie wapnia zmierzonego zostaje skorygowane z uwzględnieniem stężenia albumin danego pacjenta według wzoru [78, 79]:

$$\text{Ca skorygowane (mmol/l)} = \text{Ca oznaczone (mmol/l)} + 0,02 \times (40 - \text{stężenie albumin g/l})$$

Podobnym wzorem dysponujemy, jeżeli pacjent cechuje się zaburzeniami w zakresie pH:

$$\text{Ca skorygowane (mmol/l)} = \text{Ca oznaczone (mmol/l)} + 0,05 \times (7,4 - \text{pH})$$

Najdokładniejszą metodą jest pomiar stężenia wapnia z użyciem jonoselektywnej elektrody wapniowej. Składa się ona z membrany oddzielającej roztwór badany od roztworu wewnętrznego oraz elektrody wyprowadzającej, którą najczęściej jest elektroda chlorosrebrowa zanurzona w roztworze wewnętrznym chlorku wapnia, ewentualnie kalomelowa [80].

1.2.2. Fosfor

Fosfor w organizmie człowieka występuje zarówno w przestrzeni wewnątrzkomórkowej, jak i zewnątrzkomórkowej. Fosfor wewnątrzkomórkowy jest związany z lipidami i białkami, tworząc fosfolipidy i fosfoproteiny. Fosfor w takiej postaci pełni rolę substancji budulcowej błon komórkowych, jest składnikiem kwasów nukleinowych, nukleotydów, a także nośników wysokoenergetycznych wiązań, np. ATP [29]. Większość fosforu zewnątrzkomórkowego jest fosforem nieorganicznym w postaci HPO_4^- lub H_2PO_4^- . Pozostała część fosforu zewnątrzkomórkowego (około 12-15 %) jest związana z białkami.

Około 80 % całkowitych, ustrojowych zasobów fosforu, znajduje się w kościach. Fosfor razem z wapniem są głównymi składnikami kości. Minerale w kościach występują w dwóch formach: bezpostaciowej i krystalicznej. Początkowa forma - bezpostaciowa, istnieje w dwóch przejściowych postaciach [$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ i $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$], które tworzą następnie formy krystaliczne – apatyty, głównie jest to hydroksyapatyt [$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$] przechodzący w fluoroapatyt [$\text{Ca}_{10}(\text{PO})_6\text{F}_2$] [97].

1.2.3. Fosfataza kwaśna

Fosfataza kwaśna jest enzymem lizosomalnym produkowanym przez komórki wielu narządów, przede wszystkim stercza, ale także wątroby i nerek. Enzym ten w tkance kostnej jest produkowany przez osteoklasty. Wzrost aktywności kwaśnej fosfatazy obserwuje się w nowotworach gruczołu krokowego, w pierwotnych i przerzutowych nowotworach kości, osteoporozie, chorobie Pageta, pierwotnej nadczynności przytarczyc i trombopatiach. Do tej pory oznaczanie całkowitego stężenia fosfatazy kwaśnej nie

znalazło zastosowania w diagnostyce schorzeń tkanki kostnej, głównie ze względu na jej nieswoiste występowanie w kościach. Istotny w tej diagnostyce jest jedynie pomiar izoenzymu b winianoopornej fosfatazy kwaśnej (TRAP-b), która jest markerem resorpcji kości. Pomiar TRAP-b wykorzystuje się w diagnostyce chorych z pierwotnymi nowotworami kości, a także u chorych z przerzutami do kości o charakterze osteolitycznym, choć nie jest to parametr o dużej swoistości [29].

1.2.4. Witamina D₃

Witamina D₃ (cholekalcyferol; ciężar cząsteczkowy 384), w organizmie człowieka pochodzi z pokarmu (egzogenna) i jest również syntetyzowana de novo (endogenna). Synteza witaminy D₃ zaczyna się w naskórku, gdzie promieniowanie ultrafioletowe UV oddziałuje na 7-dehydrocholesterol (prowitamina D₃), z której powstaje prewitamina D₃. Ta pod wpływem ciepła wchodzi w szlak przemian metabolicznych, którego końcowym efektem jest witamina D₃. W dobrych warunkach nasłonecznienia dobową produkcję witaminy D₃ wynosi około 200-400 jednostek i jest wystarczająca dla potrzeb dorosłego organizmu [97].

Egzogenna witamina D₃ pochodzi z pokarmów zwierzęcych (witamina D₃) i roślinnych (ergokalcyferol – witamina D₂). Witamina D₂ podlega dalszym przemianom, w wyniku których powstaje witamina D₃.

Witamina D₃ jest nieaktywna biologicznie. Do uaktywnienia dochodzi w procesach hydroksylacji. Pierwszy etap hydroksylacji przy węglu 25 zachodzi w mikrosomach komórek wątrobowych w wyniku czego powstaje 25(OH)D₃. Następny etap

hydroksylacji przy węglu 1 ma miejsce w proksymalnej części kanalików nerkowych przy udziale mitochondriów. Powstający $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, czyli kalcytriol, jest aktywną formą witaminy D_3 . Również w nerkach powstają jednocześnie izomery kalcytriolu o mniejszym fizjologicznie znaczeniu, a mianowicie $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ oraz $25,26(\text{OH})_2\text{D}_3$ [29, 33].

Do wzrostu stężenia $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ w surowicy dochodzi w wyniku zmniejszenia stężenia wapnia i fosforanów, co powoduje wzrost produkcji PTH, który następnie nasila nerkową hydroksylację $25(\text{OH})\text{D}_3$ do $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$.

Podstawowym efektem działania $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, jest wzrost syntezy swoistego mRNA dla białka transportującego wapń przez nabłonek jelita cienkiego, doprowadza też do wzrostu wchłaniania fosforanów, a także stymuluje wchłanianie wapnia. Ponadto $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ działa na nerki, zwiększając wchłanianie zwrotne wapnia i fosforanów w kanalikach bliższych nerek oraz na kości, powodując uwalnianie z nich wapnia i fosforanów [29, 33].

1.2.5. Parathormon

Parathormon jest polipeptydem składającym się z 84 aminokwasów. Produkowany jest przez komórki przytarczyc. Gen odpowiadający za jego syntezę zlokalizowano na krótkim ramieniu chromosomu 11 [97]. Pierwotnym produktem genu PTH jest, składający się z 115 aminokwasów, preproPTH, który ulega następnie przekształceniu do proPTH, a ten następnie do PTH. Składnikiem aktywnie czynnym jest N-końcowy fragment, składający się z 34 aminokwasów, o masie cząsteczkowej 3500-4000. Okres półtrwania PTH we krwi wynosi 20 minut. Synteza PTH jest stymulowana przez niskie stężenie wapnia zjonizowanego we krwi na zasadzie ujemnego

sprężenia zwrotnego. Wzrost stężenia wapnia zjonizowanego hamuje wydzielanie PTH i na odwrót, przy spadku wapnia dochodzi do nasilenia jego uwalniania. PTH działa bezpośrednio na nerki i kości, pośrednio zaś na przewód pokarmowy. Parathormon podwyższa stężenie wapnia na skutek trzech odrębnych mechanizmów. Najistotniejszym z nich jest uwalnianie wapnia oraz fosforanów z kości w wyniku wzmożonej aktywności osteoklastów. Kolejnym mechanizmem jest nasilenie nerkowej hydroksylacji $25(\text{OH})\text{D}_3$ do $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, który wynika z nasilenia diurezy fosforanowej, co w konsekwencji doprowadza do wzrostu wchłaniania wapnia i fosforanów w jelitach. Najmniej istotnym mechanizmem jest wzrost reabsorpcji wapnia w ramieniu wstępującym pętli nefronu oraz w cewce dalszej nefronu, ponadto w wyniku oddziaływania PTH dochodzi do spadku resorpcji zwrotnej fosforanów. Efektem tego działania jest wzrost stężenia wapnia i stężenia poziomu fosforanów w surowicy [32, 97].

1.2.6. Kalcytonina

Kalcytonina jest 32 aminokwasowym monomerem o ciężarze cząsteczkowym 3400. Wytwarzana jest przez komórki C tarczycy pod wpływem wysokiego stężenia wapnia zjonizowanego w osoczu. Gen odpowiedzialny za produkcję kalcytoniny znajduje się na ramieniu krótkim chromosomu 11 [97]. Kalcytonina nasila aktywność osteoblastów i hamuje aktywność osteoklastów. W wyniku tego dochodzi do wzmożonego odkładania wapnia i fosforanów w kościach. Hormon ten ponadto zwiększa wydzielanie wapnia i fosforanów z moczem, a także pośrednio poprzez zwiększenie wewnątrzkomórkowego stężenia fosforanów, zmniejsza wytwarzanie $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Sumarycznym efektem działania kalcytoniny jest zmniejszenie stężenia wapnia i fosforanów w osoczu [29].

1.2.7. Estrogeny

Estrogeny są produkowane głównie przez jajniki, w niewielkim stopniu również powstają w korze nadnerczy i jądrach. Hormony te są niezbędne dla prawidłowego dojrzewania płciowego kobiet, a także cechują się licznymi efektami metabolicznymi, jak na przykład hamowaniem resorpcji kości. U kobiet w okresie menopauzalnym występuje niedobór estrogenów, w wyniku czego co trzecia kobieta w tym okresie jest zagrożona osteoporozą [29].

1.2.8. Markery obrotu kostnego

W ostatnich latach obserwujemy istotne zmiany w poglądach na temat roli markerów obrotu kostnego w diagnostyce i leczeniu uszkodzeń układu kostnego. Udokumentowano, iż wzrost poziomu tych markerów jest miarą nasilonego obrotu kostnego i jest niezależnym od gęstości mineralnej kości (BMD - *bone mineral density*) czynnikiem ryzyka złamań [30].

Kość jest tkanką bardzo aktywną metabolicznie. Dynamika metabolizmu kostnego jest uzależniona od okresu rozwoju człowieka. W okresie wzrostu organizmu proces kościotworzenia przeważa nad resorpcją kostną, czego wynikiem jest przyrost kości na grubość i długość. Procesy kościotworzenia i resorpcji odbywają się w ściśle określonych miejscach szkieletu, nazywanych jednostkami przebudowy kości (BRU *bone remodeling unit*), przez całe życie. U osób dorosłych w ciągu roku przebudowie ulega około 10 % całkowitej masy kostnej, obrót kości zbitiej wynosi około 4 %, a kości gąbczastej 25 %. Proces przebudowy kości jest procesem wielofazowym. Jeden epizod trwa około 3-6

miesiący, a składają się na niego fazy: spoczynkowa, aktywacji, resorpcji, odwrócenia procesów i kościotworzenia. W zależności od tego czy przeważa proces kościotworzenia czy resorpcji, efektem jest przyrost kości lub jej utrata [30].

Obrót kostny jest oceniany przy pomocy oznaczania stężenia markerów obrotu kostnego w surowicy krwi i moczu. Markery te są fragmentami białkowych elementów strukturalnych kości lub produktami ich degradacji, a także białkami lub enzymami uwalnianymi do krążenia w trakcie metabolicznej aktywności komórek kościotworzenia (osteoblastów) lub resorpcji (osteoklastów). Ponadto markery obrotu kostnego pozwalają oszacować przewidywane tempo ubytku masy kostnej, ryzyko złamań, a także monitorować skuteczność leczenia antyresorpcyjnego [29, 31].

Wyróżniamy następujące markery kościotworzenia [29, 31]:

- N-końcowy propeptyd prokolagenu typu I (PINP)
- C-końcowy propeptyd prokolagenu typu I (PICP)
- frakcja kostna fosfatazy alkalicznej (b-ALP)
- osteokalcyna (OC).

Wyróżniamy następujące markery resorpcji [29, 31]:

- C-końcowy usieciowany telopeptyd łańcucha alfa kolagenu typu I (CTX)
- N-końcowy usieciowany telopeptyd łańcucha alfa kolagenu typu I (NTX)
- hydroksyprolina (OHP)
- pirydynolina, dezokypirydynolina (PYD, DPD)
- karboksyterminalny telopeptyd kolagenu typ I (ICTP)
- winianiooporna fosfataza kwaśna izoenzym b (TRAP-b)
- sjaloproteina kostna (BSP).

Produkty metabolizmu kolagenu typu I są wysoce swoiste dla procesu resorpcji kości. Kolagen typu I jest głównym, białkowym składnikiem macierzy kostnej i stanowi około 90% jej masy. Niewielkie jego ilości występują również w innych tkankach, a mianowicie w skórze, ścięgnach, chrząstce włóknistej i naczyniach. Częstka kolagenu typu I składa się z trzech łańcuchów polipeptydowych (dwóch α_1 i jednego α_2) o charakterystycznej sekwencji aminokwasów (glicyna, prolina, hydroksyprolina). Początkowym produktem syntezy kolagenu I są pre- pro - alfa łańcuchy polipeptydowe, z których w dalszej kolejności są odcinane peptydy sygnałowe na końcach C i N oraz następnie dochodzi do procesów hydroksylacji i glikozylacji. Gotowe cząstki prokolagenu uwalniane są do przestrzeni zewnątrzkomórkowej, gdzie są przekształcane w kolagen. Terminalne propeptydy końca C i N zostają odcięte, a następnie kolagen samoistnie zaczyna organizować się w fibryle, czego końcowym efektem jest powstanie dojrzałego kolagenu [29, 31].

CTX jest uwalniany w trakcie procesu resorpcji kości, jego stężenie w moczu koreluje z ryzykiem złamania nasady bliższej kości udowej. CTX jest również dobrym markerem obrotu kostnego u rosnących dzieci [29].

1.3. Osteodystrofia wątrobowa

Wątroba jest niezbędna w regulacji homeostazy wielu narządów. Poznając patogenezę, przebieg oraz następstwa chorób wątroby, zwłaszcza przewlekłych, okazało się, iż u pacjentów cierpiących na schorzenia tego narządu dochodzi do niekorzystnych następstw dotyczących tkanki kostnej. Liczne badania służące poznaniu patologii wątroby mają na celu, przy coraz sprawniejszej terapii chorób tego narządu, jednocześnie

odpowiednio wczesne wdrożenie postępowania przeciwdziałającego niekorzystnym powikłaniom w tkance kostnej.

Osteodystrofia jest częstym powikłaniem przewlekłych chorób wątroby. Częstość jej występowania jest szacowana w granicach od 20 do 100 % chorych cierpiących na przewlekłą chorobę wątroby [34, 37, 55]. Dochodzi do niej zarówno w chorobach miększu wątroby, jak i zespołach cholestazy. Wśród chorób mięsistych osteodystrofia towarzyszy najczęściej alkoholowemu uszkodzeniu wątroby, częstość zaburzeń tkanki kostnej w grupie pacjentów bez marskości sięga 30 %, a z marskością odsetek ten jest jeszcze wyższy. Wśród chorób cholestazy osteodystrofia występuje bardzo często w pierwotnej żółciowej marskości wątroby (PBC – *primary biliary cirrhosis*). Przypadki osteodystrofii spotka się także u chorych z pierwotnym stwardniającym zapaleniem dróg żółciowych [96].

Patogeneza zaburzeń tkanki kostnej jest wciąż niejasna. Najpewniej jest ona wieloczynnikowa i związana zarówno z zaburzeniem fizjologicznych szlaków metabolicznych, jak i pojawieniem się w przebiegu choroby wątroby nowych, niekorzystnych czynników patologicznych. Część badań naukowych sugeruje, iż u podstaw osteodystrofii wątrobowej znajduje się upośledzenie syntezy kości, podczas gdy inne donoszą o przeważającej roli resorpcji kostnej, przy zachowanej prawidłowej lub obniżonej syntezie kości [34, 35]. Obecnie uważa się jednak, iż zaburzenia kostne mają głównie charakter osteoporozy, a w mniejszym stopniu osteomalacji, jakkolwiek wydaje się, iż obydwa procesy mogą jednocześnie, lecz w różnym stopniu, występować u pacjentów z chorobą wątroby [34, 36, 54]. Wraz z nasileniem uszkodzenia wątroby dochodzi do równoczesnego nasilenia cech osteodystrofii wątrobowej, co wyraża się obniżoną masą kostną i zaburzeniami parametrów gospodarki kostnej. Najbardziej nasilone zmiany występują u chorych z marskością wątroby [38, 68]. Dzięki postępowi w

leczeniu przyczynowym i objawowym wielu przewlekłych chorób wątroby, wydłuża się czas życia pacjentów z tymi schorzeniem, a tym samym wzrasta liczba osób, u których dochodzi do osteodystrofii wątrobowej. Klinicznie najistotniejszymi następstwami osteodystrofii jest bolesność oraz złamania kości [34].

Zmiany histologiczne w osteodystrofii wątrobowej są podobne do tych, które obserwuje się w osteoporozie pomenopauzalnej oraz związanej z wiekiem. Do zmian szybciej i w większym stopniu dochodzi w kości gąbczastej niż korowej [34, 57]. W badaniach nad osteodystrofią wątrobową wykorzystano technikę histomorfometrii. Jest to ilościowa, mikroskopowa ocena wycinka kości nieodwapnionej, pozwalająca oceniać elementy strukturalne kości na poziomie komórkowym, a także czynność komórek tkanki kostnej. Brak jest jednoznacznego wyjaśnienia charakteru zmian histologicznych w osteodystrofii wątrobowej. W licznych badaniach obserwowano głównie osłabienie tworzenia kości, czyli tak zwaną „*low turnover osteoporosis*” (osteoporozę ze zmniejszonym obrotem kostnym). W innych jednak badaniach, stwierdzano przy prawidłowej lub obniżonej syntezie, nasiloną resorpcję kostną, czyli tak zwaną „*high turnover osteoporosis*” (osteoporozę ze zwiększonym obrotem kostnym) [34, 35, 37, 51]. *Low turnover osteoporosis* cechuje się zaburzeniem funkcjonowania osteoblastów, redukcją syntezy kolagenu macierzy oraz osłabieniem procesów mineralizacji, natomiast charakterystyczne dla *high turnover osteoporosis* jest nasilenie aktywności osteoklastów, a synteza kolagenu macierzy i mineralizacja nie są zaburzone.

Potencjalnymi czynnikami zaburzającymi pracę osteoblastów w *low turnover osteoporosis* mogłyby być hiperbilirubinemia, niższy poziom insulinopodobnego czynnika wzrostu-1 (IGF-1, *insulin growth factor-1*), a czynnikami wpływającymi na osteoklasty w *high turnover osteoporosis* mogłyby być niedobór witaminy D₃ lub hipogonadyzm [34]. Być może brak jednego modelu uszkodzenia tkanki kostnej jest

związany z różnorodnymi mechanizmami uszkodzenia wątroby w przebiegu różnych chorób tego narządu.

Podsumowując, do potencjalnych przyczyn osteodystrofii wątrobowej należą zaburzenia wątrobowej hydroksylacji witaminy D₃, zaburzenia receptora dla witaminy D₃, wzrost poziomu parathormonu, niedobór IGF-1, hiperbilirubinemia, hipogonadyzm, odkładanie żelaza w tkankach, niedobór osteoprotegeryn, jatrogeny wpływ farmakoterapii, zaburzenia wchłaniania witaminy D₃, wapnia i fosforu, co jest związane ze spadkiem stężenia kwasów żółciowych i ponadto zaburzenie syntezy białek, do którego dochodzi wraz z pogarszaniem się czynności wątroby [34, 38].

Wzw-C jest jednym z najpoważniejszych problemów współczesnej medycyny. Na świecie zakażonych HCV jest około 170 milionów ludzi. Dzięki postępowi w naukach medycznych w ostatnich latach skuteczność terapii zakażenia HCV jest coraz wyższa, jednakże nadal niezadowalająca. Wciąż nie udaje się wyleczyć bardzo dużego odsetka chorych, ponadto w wielu biedniejszych regionach świata z racji ceny terapii tylko u niewielkiej grupy chorych podejmuje się takie leczenie. W wyniku tego zwiększa się liczba ludzi żyjących przewlekle z zakażeniem HCV. Stwierdzenie negatywnego wpływu przewlekłej infekcji HCV na gospodarkę wapniowo-fosforanową pozwoliłoby na wcześniejsze zastosowanie profilaktycznej farmakoterapii osłaniającej układ kostny. Analogicznie, stwierdzenie niekorzystnego wpływu na kości terapii przeciwwirusowej pozwoliłoby zabezpieczyć pacjentów profilaktyczną farmakoterapią w okresie terapii przeciwwirusowej.

1.4. Hipotezy badawcze

1. Chorzy z pzw-C cechują się gorszymi parametrami gospodarki wapniowo-fosforanowej w porównaniu do osób bez tej infekcji. Chorzy ci powinni podlegać systematycznej kontroli parametrów gospodarki wapniowo-fosforanowej i w razie potrzeby mieć wdrożoną odpowiednią farmakoterapię. Rodzaj terapii będzie zależał od otrzymanych wyników badań.
2. 48-tygodniowa terapia przeciwwirusowa interferonem alfa z rybawiryną powoduje pogorszenie parametrów gospodarki wapniowo-fosforanowej. Chorzy ci jednocześnie z terapią przeciwwirusową powinni mieć wdrożoną profilaktyczną farmakoterapię, która będzie miała na celu niedopuszczenie do uszkodzenia układu kostnego. Rodzaj terapii będzie zależał od otrzymanych wyników badań.

2. Cel pracy

Celem pracy jest:

1. Ocena parametrów gospodarki wapniowo-fosforanowej u chorych z pwzw-C w porównaniu z osobami bez tej infekcji.
2. Ocena wpływu 48-tygodniowego leczenia przeciwwirusowego interferonem alfa z rybawiryną na stan gospodarki wapniowo-fosforanowej u chorych z pwzw-C.

3. Materiał i metody

Badania przeprowadzano u 150 osób w wieku od 20 do 50 roku życia z pwzw-C (grupa pierwsza) i bez choroby wątroby (grupa druga – kontrolna).

Do grupy pierwszej, złożonej ze 100 osób, zostali zakwalifikowani chorzy z pwzw-C. Rozpoznanie było ustalone na podstawie obecności w surowicy przeciwciał anti-HCV, HCV-RNA oznaczonego metodą PCR i zmian zapalnych potwierdzonych badaniem histologicznym bioptatu wątroby. Bioptat wątroby był oceniany pod względem aktywności zapalno-martwiczej (G) i włóknienia (F) w półilościowej skali od 0 do 4 punktów według Batts-Ludwiga. Badania histopatologiczne wątroby zostały wykonane w Katedrze Patomorfologii Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego (kierownik: prof. dr hab. med. Jerzy Stachura). Chorzy z pwzw-C zostali podzieleni na podgrupy w zależności od zaawansowania procesu chorobowego w wątrobie.

Do grupy drugiej, kontrolnej, włączeni byli pacjenci (50 osób), którzy nie chorowali na wirusowe zapalenie wątroby (HBsAg nieobecny, przeciwciała anti-HCV nieobecne, prawidłowe wyniki badań biochemicznych oceniających stan wątroby) i bez obecnych w wywiadzie innych chorób wątroby.

Grupy pacjentów, zarówno z pwzw-C, jak i kontrolna, zostały tak dobrane, aby wyeliminować inne czynniki mogące wpłynąć na stan gospodarki wapniowo-

fosforanowej. Wiek badanych nie przekraczał 50 roku życia, ponadto z badań zostały wyłączone kobiety w okresie pomenopauzalnym i z zaburzeniami cyklu menstruacyjnego, pacjenci z obecnością innych przewlekłych chorób oraz przebyłą lub obecną farmakoterapią, które mogłyby doprowadzić do zmian w tkance kostnej.

Z grupy pierwszej, chorych na pwwz-C, wyodrębnionych było 25 chorych, zakażonych genotypem 1b HCV, którzy byli leczeni interferonem alfa i rybawiryną przez okres 48 tygodni, zgodnie z obowiązującymi zaleceniami. 11 pacjentów było leczonych pegylowanym interferonem alfa-2a (Pegasys firmy Roche) w dawce od 90 µg do 180 µg podawanym podskórnym 1 raz na tydzień oraz rybawiryną (Copegus firmy Roche). Rybawiryna była podawana u pacjentów z masą ciała do 75 kg w dawce 1000 mg na dobę, a u pacjentów z masą ciała równą i powyżej 75 kg w dawce 1200 mg na dobę. 14 pacjentów było leczonych pegylowanym interferonem alfa-2b (PegIntron firmy Schering-Plough) w dawce od 80 µg do 120 µg podawanym podskórnym 1 raz na tydzień oraz rybawiryną (Rebetol - firmy Schering-Plough Europe). Rybawiryna była podawana u pacjentów z masą ciała do 75 kg w dawce 1000 mg na dobę, a u pacjentów z masą ciała równą i powyżej 75 kg w dawce 1200 mg na dobę.

U tej grupy chorych oceniano parametry gospodarki wapniowo-fosforanowej dwukrotnie - przed i po terapii.

Wszyscy chorzy mieli oznaczane w surowicy krwi:

1. Stężenie wapnia całkowitego, wapnia zjonizowanego, fosforu nieorganicznego, fosfatazy kwaśnej.
2. Stężenie 25(OH)D₃, i-PTH, CTX.

Ponadto oznaczano w surowicy: aktywność aminotransferazy asparaginianowej i alaninowej, fosfatazy alkalicznej, gammaglutamylotranspeptydazy, cholinesterazy, stężenie bilirubiny, proteinogram, wskaźnik protrombiny. Badania biochemiczne zostały

wykonane w Zakładzie Diagnostyki Laboratoryjnej Katedry Biochemii Klinicznej Wydziału Lekarskiego Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego (kierownik: prof. dr hab. med. Jerzy Naskalski).

Stężenie wapnia całkowitego oznaczano metodą kolorymetryczną przy użyciu kompleksu okrezoftaleiny (analyzer - Hitachi 917, Modular P Roche), a następnie korygowano z wykorzystaniem stężenia albuminy we krwi dla każdego pacjenta. Stężenie wapnia zjonizowanego oznaczano z wykorzystaniem poziomu wapnia całkowitego i albumin we krwi dla każdego pacjenta. Stężenie fosforu oznaczano metodą z wykorzystaniem fosfomolibdenianu amonu i kwasu siarkowego, z użyciem testu UV (analyzer - Hitachi 917, Modular P Roche). Aktywność fosfatazy kwaśnej oznaczano metodą kinetyczną z p-nitrofenylofosforanem (analyzer - Hitachi 917, Modular P Roche). Stężenie 25(OH)D₃ oznaczano metodą ELISA, techniką kompetycyjną, przy użyciu testu EIA-3153 firmy DRG International, Inc, USA (analyzer – ELx800 Bio-Tek, Inc, USA). Stężenie i-PTH oznaczano metodą ELISA, techniką typu „sandwich”, przy użyciu testu DSL-10-8000 Active firmy DSL, Inc, USA (analyzer – ELx800 Bio-Tek, Inc, USA). Stężenie CTX oznaczano metodą ELISA, techniką typu „sandwich”, przy użyciu testu Serum CrossLaps ELISA firmy Nordic Bioscience Diagnostics A/S, Dania (analyzer – ELx800 Bio-Tek, Inc, USA). Aktywność aminotransferazy asparaginianowej i alaninowej oznaczano metodą kinetyczną z NADH, bez aktywacji fosforanem pirydoksalu według IFCC, temp. 37 st. C (analyzer - Hitachi 917, Modular P Roche). Aktywność fosfatazy alkalicznej oznaczano metoda kinetyczną, wg DGKC, z pNpp, buf DEA (analyzer - Hitachi 917, Modular P Roche). Aktywność gammaglutamylotranspeptydazy oznaczano metodą Szasza wg IFCC (analyzer - Hitachi 917, Modular P Roche). Aktywność cholinesterazy oznaczano metodą kinetyczną butyrylotiocholimą, temp. 37 st. C (analyzer - Hitachi 917, Modular P Roche). Stężenie

bilirubiny całkowitej oznaczano metodą DPD (analizator - Hitachi 917, Modular P Roche). Proteinogram oznaczano przy użyciu żelu agarozowego w systemie do elektroforezy Sebia (analizator – HYDRASYS, HYRYS 2, Sebia). Wskaźnik protrombiny oznaczano jako czas powstawania skrzepu po aktywacji tromboplastyną i jonami wapnia (analizator – Behring Coagulation System).

Diagnostyczne nakłucie wątroby wykonano sposobem Menghiniego z zastosowaniem igieł Hepafix firmy Braun o przekroju poprzecznym 1,6 mm. Dla zachowania pełnego bezpieczeństwa zdrowia pacjenta, do nakłucia kwalifikowano chorych, u których wykluczono istnienie przeciwwskazań do wykonania takiego zabiegu, tj. braku dostatecznego stłumienia wątrobowego, zaburzeń krzepnięcia, zmian ogniskowych w wątrobie i skórnych w okolicy miejsca ukłucia, zapalenia opłucnej. Każdy pacjent przed biopsją wątroby miał wykonywane badanie USG jamy brzusznej oraz oznaczany wskaźnik protrombiny i ilość płytek we krwi. Badanie przeprowadzano po udzieleniu choremu informacji o charakterze badania i wyrażeniu na nie zgody. Pobrany bioptat utrwalano w 10 % formalinie, a następnie zatapiano w bloczkach parafinowych i barwiono następującymi metodami:

1. hematoksylina i eozyna,
2. barwienie na włókna srebrochłonne według Gomori'ego,
3. barwienie trichromem Massona na obecność włókien kolagenowych,
4. barwienie metodą Shikaty na obecność HBsAg.

Półilościowa skala według Batts-Ludwiga pozwoliła ocenić bioptaty wątrobowe pod względem aktywności zapalno-martwiczej (G - *grading*) i włóknienia (S - *staging*)
Poniżej opisano zmiany histologiczne charakterystyczne dla ocenianego procesu zapalno-martwiczego i włóknienia [94].

Tabela 7. Stopień nasilenia aktywności procesu zapalno-martwiczego (G) w przestrzeniach wrotnych, okołowrotnych i na terenie zrazików w punktacji od 0 do 4 według Batts-Ludwiga.

0	Zmiany zapalne ograniczają się do przestrzeni wrotnej, brak martwicy kęsowej i cech zrazikowego zapalenia (obraz, który w klasycznej terminologii odpowiada <i>hepatitis chronica persistens</i>).
1	Okołowrotny naciek zapalny, ogniskowa martwica kęsowa i zrazikowe zmiany zapalne o minimalnym nasileniu (<i>hepatitis chronica activa minimalis</i>).
2	Okołowrotny naciek zapalny, martwica kęsowa wokół niektórych przestrzeni wrotnych i śródzrazikowe zmiany zapalne o niewielkim nasileniu (<i>hepatitis chronica activa minoris gradus</i>).
3	Okołowrotny naciek zapalny, martwica kęsowa wokół wszystkich przestrzeni wrotnych i zrazikowe zmiany zapalne o umiarkowanym nasileniu (<i>hepatitis chronica activa mediocris gradus</i>).
4	Okołowrotny naciek zapalny, martwica kęsowa o dużym nasileniu, współistnienie zmian zapalnych typu pomostowego (wrotno-żylnego), rozległe uszkodzenie komórek wątrobowych (<i>hepatitis chronica activa maioris gradus</i>).

Tabela 8. Stopień zaawansowania włóknienia (S) w wątrobie w punktacji od 0 do 4 według Batts-Ludwiga.

0	Brak.
1	Włóknienie w przestrzeniach wrotnych.
2	Włóknienie okołowrotne, obecność pojedynczych przegród pomiędzy sąsiednimi przestrzeniami wrotnymi.
3	Obecność przegród włóknistych łączących sąsiadujące przestrzenie wrotne, a także przestrzenie wrotne z żyłą środkową zrazika, początkowe zaburzenia architektury zrazika.
4	Marskość – przebudowa struktury wątroby i obecne guzki regeneracyjne.

Niniejszy projekt badawczy, będący podstawą rozprawy doktorskiej, został pozytywnie zaopiniowany przez Komisję Bioetyczną Uniwersytetu Jagiellońskiego – opinia KBET/55/B/2004.

Metody statystyczne

W celu uzyskania odpowiedzi na założone problemy badawcze przeprowadzono analizę statystyczną umożliwiającą ocenę zmienności parametrów gospodarki wapniowo-fosforanowej w zależności od zakażenia HCV, z uwzględnieniem płci. W tym celu przeprowadzono porównanie wybranych parametrów gospodarki wapniowo fosforanowej w grupie badanej i kontrolnej testem nieparametryczny Manna-Whitneya. Analizę tą przeprowadzono zarówno w całym materiale, jak i w grupie kobiet oraz mężczyzn. Ponadto została przeprowadzona w grupie osób zakażonych HCV analiza współzależności parametrów opisujących gospodarkę wapniowo-fosforanową z wybranymi parametrami biochemicznymi i stopniem uszkodzenia wątroby w ocenie histopatologicznej. Współzależność tą oceniano współczynnikiem korelacji liniowej r-Pearsona. Współzależność pomiędzy stopniem nasilenia aktywności procesu zapalno-

martwiczego oraz stopniem zaawansowania włóknienia w wątrobie oceniano współczynnikiem korelacji rang r-Spearmana.

Monitorowanie 25 chorych w trakcie 48-tygodniowej terapii interferonem alfa i rybawiryną pozwoliło na ocenę wpływu powyższego leczenia na gospodarkę wapniowo-fosforanową. Dwa badania: przed terapią i po terapii porównywano ze sobą testem Wilcoxon – jest to test nieparametryczny służący do porównania dwu badań powiązanych. Wnioskowanie statystyczne przeprowadzono na poziomie istotności mniejszym lub równym 0,05. W przeprowadzonej analizie posłużono się pakietem statystycznym Statistica 6.0. Uzyskane wyniki przedstawiono w formie tabel i wykresów.

4. Wyniki

Charakterystykę badanych chorych przedstawiono w tabeli 9.

Tabela 9. Charakterystyka badanej populacji.

		Grupa pacjentów z pwzw- C	Grupa kontrolna
Liczebność		100 osób	50 osób
Wiek [lata]		20-50 (średnio 40,4)	20-48 (średnio 35,1)
Płeć	kobiety	42 osoby (42 %)	25 osoby (50 %)
	mężczyźni	58 osób (58 %)	25 osoby (50 %)

Poniżej przedstawiono porównanie zbiorczych wyników poszczególnych parametrów biochemicznych w grupie chorych z pwzw-C i w grupie kontrolnej (tabela 10). W tabeli 11 przedstawiono uzyskane wyniki w grupie chorych z pwzw-C i w grupie kontrolnej z uwzględnieniem tylko kobiet, a w tabeli 12 z uwzględnieniem tylko mężczyzn.

Tabela 10. Porównanie poszczególnych parametrów biochemicznych w grupie chorych z pwzw-C (HCV) i w grupie kontrolnej (K)

Parametr	grupa	n	Wynik	odchylenie	min.	max.	poziom
			Średni	standardowe			istotności
Wapń całkowity (mmol/l)	HCV	10	2,339	0,139	2,03	2,62	0,012
	K	50	2,401	0,123	2,05	2,82	

Wapń zjonizowany (mmol/l)	HCV	10 0	0,751	0,150	0,39	1,05	<0,001
	K	50	0,835	0,079	0,74	1,2	
Fosfor (mmol/l)	HCV	10 0	1,047	0,169	0,68	1,48	<0,001
	K	50	1,211	0,189	0,71	1,7	
Fosfataza kwaśna (U/L)	HCV	10 0	3,54	0,88	1,9	6,8	<0,001
	K	50	4,66	0,93	2,5	6,9	
25(OH)D ₃ (nmol/l)	HCV	10 0	24,57	24,84	5	169,1	<0,001
	K	46	10,80	12,66	5	85,7	
i-PTH (pg/ml)	HCV	98	45,8	27,78	8,9	188,3	NS
	K	46	40,39	23,77	3,8	106,6	
CTX (ng/ml)	HCV	98	0,492	0,262	0,057	1,569	<0,001
	K	46	0,764	0,454	0,137	2,518	

Tabela 11. Porównanie poszczególnych parametrów biochemicznych w grupie chorych z
pwzw-C (HCV) i w grupie kontrolnej (K) u kobiet

Parametr	grupa	n	Wynik	odchylenie	min.	max.	poziom istotności
			Średni	standardowe			
Wapń całkowity (mmol/l)	HCV	4 2	2,329	0,134	2,03	2,57	NS
	K	2	2,398	0,144	2,05	2,82	
Wapń zjonizowany (mmol/l)	HCV	4 2	0,757	0,171	0,39	1,05	<0,001
	K	2 5	0,806	0,067	0,74	0,87	

Fosfor (mmol/l)	HCV	4	1,105	0,137	0,76	1,4	0,038
		2					
	K	2	1,183	0,168	0,86	1,52	
Fosfataza kwaśna (U/L)	HCV	4	3,41	0,71	2,4	5,5	<0,001
		2					
	K	2	4,16	0,63	2,5	5	
25(OH)D ₃ (nmol/l)	HCV	4	23,01	28,89	5	169,1	0,010
		2					
	K	2	12,07	16,86	5	85,7	
i-PTH (pg/ml)	HCV	4	49,58	32,34	9,9	188,3	NS
		2					
	K	2	36,92	18,8	3,8	70,5	
CTX (ng/ml)	HCV	4	0,490	0,213	0,214	1,003	NS
		2					
	K	2	0,579	0,282	0,137	1,334	
		3					

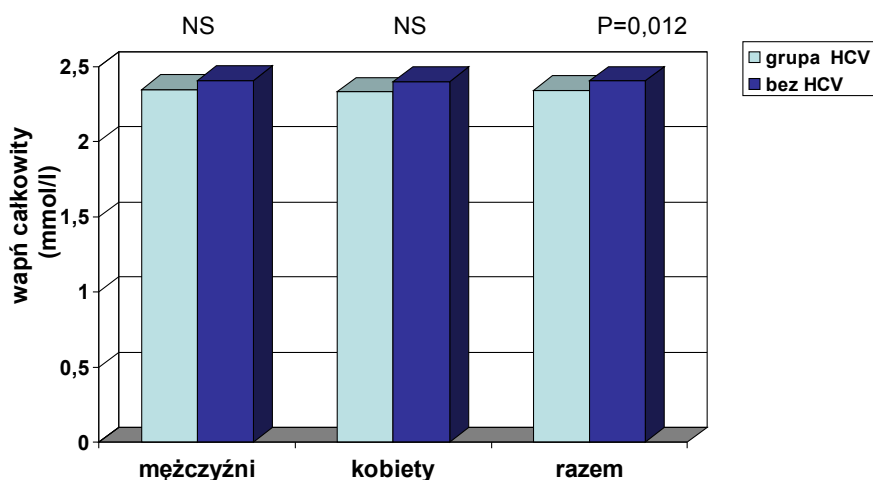
Tabela 12. Porównanie poszczególnych parametrów biochemicznych w grupie chorych z
pwzw-C (HCV) i w grupie kontrolnej (K), u mężczyzn

Parametr	grupa	n	Wynik Średni	odchylenie standardowe	min.	max.	poziom istotności
----------	-------	---	-----------------	---------------------------	------	------	----------------------

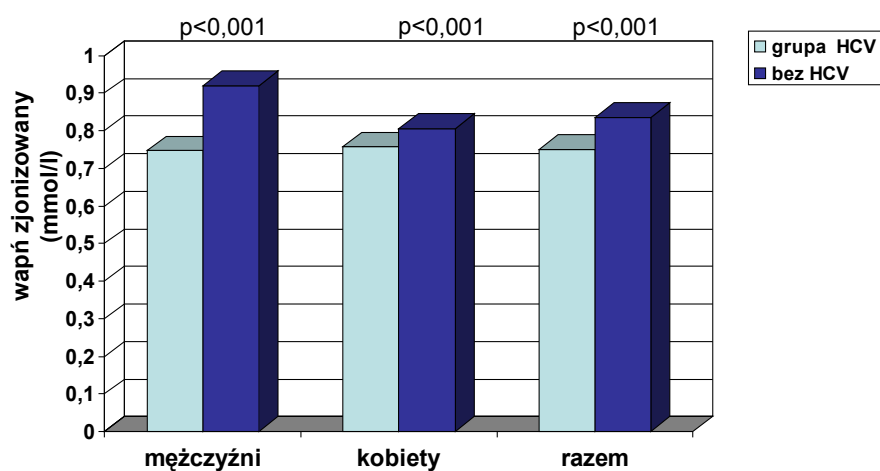
Wapń całkowity (mmol/l)	HCV	58	2,346	0,143	2,09	2,62	NS
	K	25	2,405	0,101	2,24	2,61	
Wapń zjonizowany (mmol/l)	HCV	58	0,747	0,132	0,40	1,05	<0,001
	K	25	0,92	0,094	0,75	1,2	
Fosfor (mmol/l)	HCV	58	1,008	0,178	0,68	1,48	<0,001
	K	25	1,239	0,208	0,71	1,7	
Fosfataza kwaśna (U/L)	HCV	58	3,63	0,98	1,9	6,8	<0,001
	K	25	5,15	0,93	3,6	6,9	
25(OH)D ₃ (nmol/l)	HCV	58	25,63	21,88	5,1	82,2	0,006
	K	23	9,54	6,33	6,1	28,9	
i-PTH (pg/ml)	HCV	56	43,23	24,19	8,9	127,6	NS
	K	23	43,86	28,36	3,8	106,6	
CTX (ng/ml)	HCV	56	0,493	0,293	0,057	1,569	<0,001
	K	23	0,949	0,519	0,211	2,518	

Porównanie wartości badanych parametrów biochemicznych w grupie chorych z pwzw-C i grupie kontrolnej, z uwzględnieniem podgrup kobiet i mężczyzn, przedstawiono na poniższych rycinach - od 2 do 8.

Rycina 2. Porównanie stężenia wapnia całkowitego w surowicy w grupie chorych z pzw-C i w grupie kontrolnej



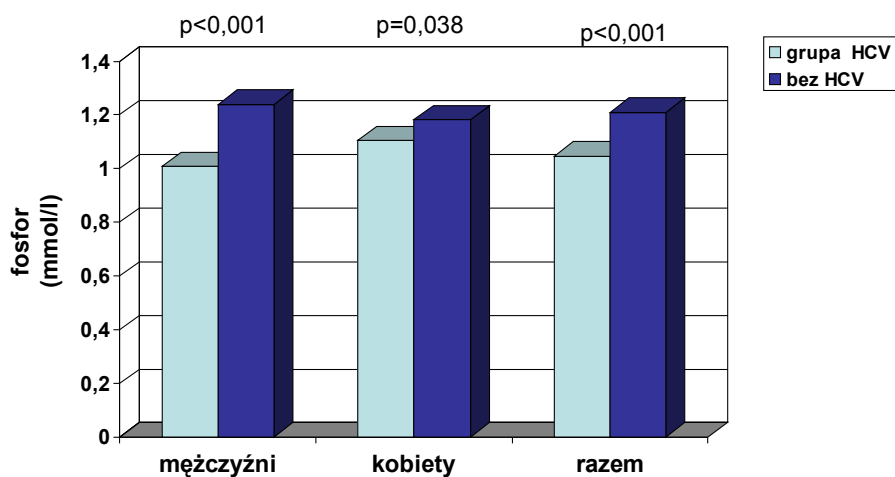
Rycina 3. Porównanie stężenia wapnia zjonizowanego w surowicy w grupie chorych z pzw typu C i w grupie kontrolnej



Zarówno stężenie wapnia całkowitego, jak i zjonizowanego w surowicy krwi było niższe w grupie osób chorujących na pzw-C w porównaniu do osób bez infekcji HCV, w całej grupie, jak i również biorąc pod uwagę pacjentów każdej płci osobno. Zależność ta była statystycznie istotna dla wapnia całkowitego dla całej grupy ($p=0,012$) oraz dla

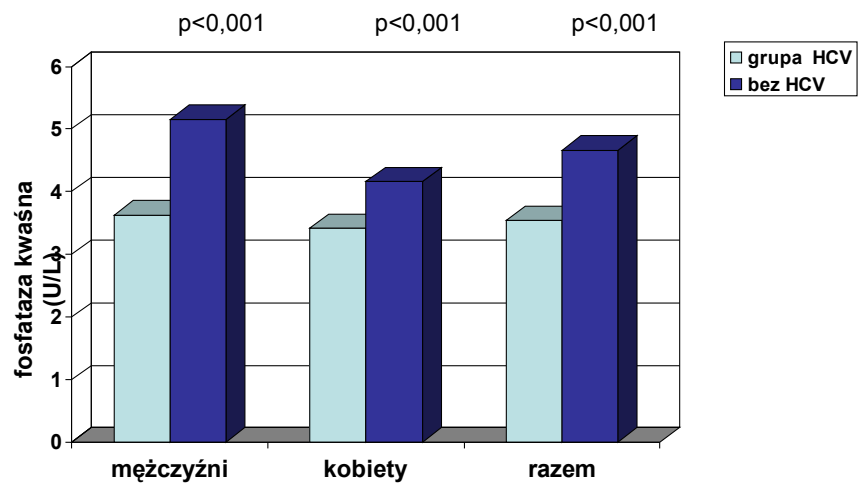
wapnia zjonizowanego dla całej grupy i osobno dla każdej płci ($p < 0,001$). Stężenie wapnia całkowitego u chorych z HCV, niezależnie od płci, mieściło się w zakresie normy. Stężenie wapnia zjonizowanego u chorych z HCV, niezależnie od płci, był poniżej wartości prawidłowych.

Rycina 4. Porównanie stężenia fosforu w surowicy w grupie chorych z pzwz typu C i w grupie kontrolnej



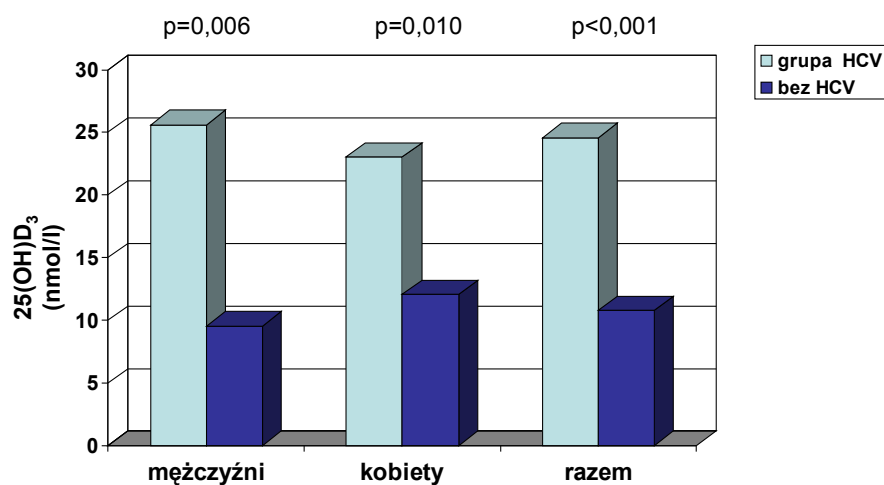
Stężenie fosforu w surowicy krwi był niższe w grupie osób chorujących na pzwz-C w porównaniu do osób bez infekcji HCV w całej grupie, jak i również biorąc pod uwagę pacjentów każdej płci osobno. Obserwowane różnice były statystycznie istotne, $p < 0,001$ dla całej grupy, $p = 0,038$ w grupie kobiet, $p < 0,001$ w grupie mężczyzn. Stężenie fosforu u chorych z HCV, niezależnie od płci, mieściło się w zakresie normy.

Rycina 5. Porównanie aktywności fosfatazy kwaśnej w surowicy w grupie chorych z pzwz typu C i w grupie kontrolnej



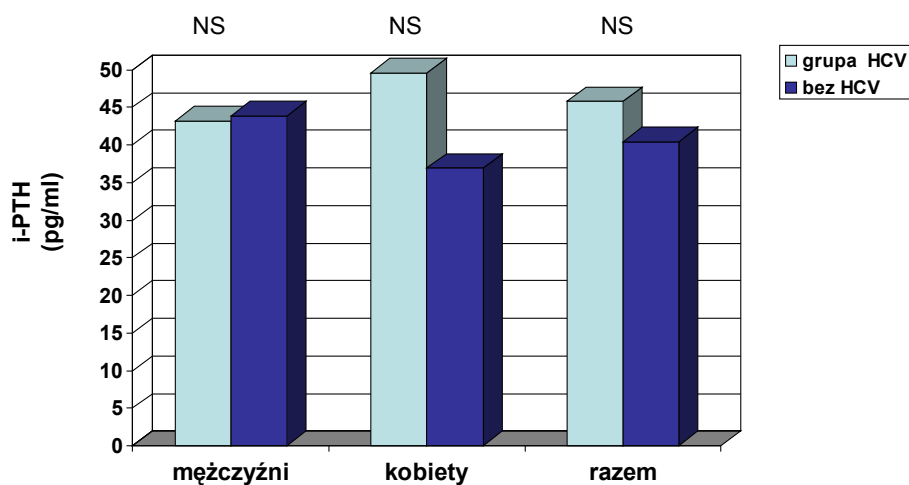
Aktywność fosfatazy kwaśnej w surowicy krwi była niższa w grupie osób chorujących na pzwz-C w porównaniu do osób bez infekcji HCV w całej grupie, jak i również biorąc pod uwagę pacjentów każdej płci osobno. Obserwowane różnice były statystycznie istotne ($p < 0,001$). Aktywność fosfatazy kwaśnej u chorych z HCV, niezależnie od płci, mieściła się w zakresie normy.

Rycina 6. Porównanie stężenia 25(OH)D₃ w surowicy w grupie chorych z pzwz typu C i w grupie kontrolnej



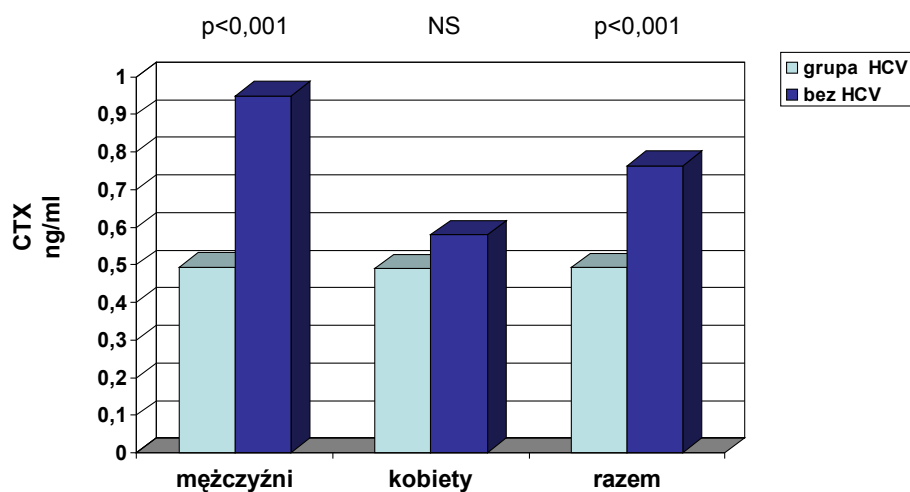
Stężenie 25(OH)D₃ w surowicy krwi było wyższe w grupie osób chorujących na pzwz-C w porównaniu do osób bez infekcji HCV, w całej grupie, jak i również biorąc pod uwagę pacjentów każdej płci osobno. Obserwowane różnice były statystycznie istotne dla całej grupy (p<0,001), w grupie kobiet (p=0,01) i w grupie mężczyzn (p=0,006). Stężenie 25(OH)D₃ u chorych z HCV w całej grupie i w grupie kobiet, a także w grupie kontrolnej, niezależnie od płci było poniżej wartości prawidłowych, natomiast u mężczyzn z HCV mieściło się w zakresie normy.

Rycina 7. Porównanie stężenia i-PTH w surowicy w grupie chorych z pwzw typu C i w grupie kontrolnej



Stężenie i-PTH w surowicy krwi było wyższe w grupie osób chorujących na pwzw-C w porównaniu do osób bez infekcji HCV, w całej grupie, jak również biorąc pod uwagę kobiety. W grupie mężczyzn obserwowano zależność odwrotną, chorzy z pwzw-C cechowali się niższym stężeniem i-PTH niż osoby bez tej infekcji, różnica ta jednak była nieduża. Obserwowane różnice w stężeniu i-PTH były jednak nieistotne statystycznie zarówno dla całej grupy, jak i dla obu płci osobno. Stężenie i-PTH u chorych z HCV, niezależnie od płci, mieściło się w zakresie normy.

Rycina 8. Porównanie stężenia CTX w surowicy w grupie chorych z pzwz typu C i w grupie kontrolnej



Stężenie CTX w surowicy krwi było niższe w grupie osób chorujących na pzwz-C w porównaniu do osób bez infekcji HCV, w całej grupie, jak również biorąc pod uwagę pacjentów każdej płci osobno. Obserwowane różnice były statystycznie istotne dla całej grupy oraz w podgrupie mężczyzn ($p<0,001$) oraz nieistotne statystycznie w podgrupie kobiet. Stężenie CTX u kobiet z HCV i w grupie kontrolnej, niezależnie od płci, było powyżej wartości prawidłowych, natomiast u mężczyzn z HCV mieściło się w zakresie normy.

W kolejnych tabelach, od 13 do 19, przedstawiono współzależność pomiędzy badanymi parametrami gospodarki wapniowo-fosforanowej a wybranymi parametrami biochemicznymi oceniającymi stan wątroby u chorych z pzwz-C w całej grupie, a także z uwzględnieniem płci. Do oceny tych współzależności wykorzystano współczynnik korelacji liniowej r Pearsona.

Tabela 13. Współzależność pomiędzy stężeniem wapnia całkowitego w surowicy krwi a wybranymi parametrami biochemicznymi u chorych z pwzw-C
(współczynnik korelacji liniowej r Pearsona)

Parametr	KOBIEТЫ		kobiety		mężczyźni	
	I		współczynnik korelacji	poziom istotności	współczynnik korelacji	poziom istotności
	MĘŻCZYŻNI					
	współczynnik korelacji	poziom istotności				
ALT	-0,068	NS	0,074	NS	-0,193	NS
AST	0,098	NS	0,027	NS	-0,230	NS
GGTP	0,077	NS	0,102	NS	0,050	NS
Cholinesteraza	0,232	0,02	0,334	0,035	0,164	NS
INR	-0,309	0,002	-0,401	0,010	-0,249	0,06
Bilirubina	-0,109	NS	-0,357	0,024	0,005	NS
Białko całkowite	0,253	0,020	0,287	NS	0,225	NS
Albumina	0,338	0,007	0,397	0,033	0,349	0,047
Alfa ₁ globuliny	0,053	NS	0,059	NS	0,073	NS
Alfa ₂ globuliny	0,409	0,001	0,449	0,015	0,377	0,033
Beta globuliny	0,511	<0,001	0,527	0,003	0,517	0,002
Gama globuliny	-0,072	NS	-0,288	NS	0,063	NS

Analizując dane zawarte w tabeli 13 zwraca uwagę statystycznie istotna, wprost proporcjonalna zależność pomiędzy stężeniem wapnia całkowitego a aktywnością cholinesterazy w surowicy krwi i statystycznie istotna, odwrotnie proporcjonalna zależność pomiędzy stężeniem wapnia całkowitego a wartością INR w surowicy krwi.

Tabela 14. Współzależność pomiędzy stężeniem wapnia zjonizowanego w surowicy krwi a wybranymi parametrami biochemicznymi u chorych z pwzw-C
(współczynnik korelacji liniowej r Pearsona)

Parametr	KOBIEТЫ		kobiety		mężczyźni	
	I		współczynnik korelacji	poziom istotności	współczynnik korelacji	poziom istotności
	MĘŻCZYŻNI					
	współczynnik korelacji	poziom istotności				

ALT	0,140	NS	0,106	NS	0,191	NS
AST	0,195	NS	0,177	NS	0,225	NS
GGTP	0,021	NS	0,024	NS	0,020	NS
Cholinesteraza	-0,168	NS	0,338	NS	-0,008	NS
INR	0,112	NS	0,285	NS	-0,113	NS
Bilirubina	0,186	NS	-0,006	NS	0,363	0,038
Białko	-0,661	<0,001	-0,690	<0,001	-0,624	<0,001
całkowite						
Albumina	-0,704	<0,001	-0,0663	<0,001	-0,809	<0,001
Alfa ₁ globuliny	0,058	NS	0,063	NS	0,090	NS
Alfa ₂ globuliny	-0,314	0,014	-0,229	NS	-0,434	0,013
Beta globuliny	-0,336	0,008	-0,316	NS	-0,366	0,040
Gama globuliny	-0,155	NS	-0,005	NS	-0,347	0,052

Analizując dane zawarte w tabeli 14 zwraca uwagę brak statystycznie istotnych zależności pomiędzy stężeniem wapnia zjonizowanego w surowicy krwi a głównymi parametrami wątrobowymi krwi.

Tabela 15. Współzależność pomiędzy stężeniem fosforu w surowicy krwi a wybranymi parametrami biochemicznymi u chorych z pwzw-C
(współczynnik korelacji liniowej r Pearsona)

Parametr	KOBIEТЫ		kobiety		mężczyźni	
	I		współczynnik korelacji	poziom istotności	współczynnik korelacji	poziom istotności
	MĘŻCZYŹNI					
	współczynnik korelacji	poziom istotności				
ALT	0,153	NS	-0,018	NS	0,284	0,031
AST	0,156	NS	0,010	NS	0,272	0,039
GGTP	0,100	NS	0,301	0,06	0,079	NS
Cholinesteraza	-0,325	0,001	-0,201	NS	-0,272	0,039
INR	0,206	0,042	0,301	0,06	0,184	NS
Bilirubina	-0,024	NS	-0,027	NS	0,037	NS
Białko	0,035	NS	0,034	NS	0,090	NS
całkowite						
Albumina	0,149	NS	0,073	NS	-0,161	NS
Alfa ₁ globuliny	-0,134	NS	-0,129	NS	-0,114	NS
Alfa ₂ globuliny	0,073	NS	0,131	NS	0,016	NS
Beta globuliny	0,101	NS	-0,081	NS	0,234	NS

Gama globuliny	0,142	NS	0,095	NS	0,103	NS
----------------	-------	----	-------	----	-------	----

Oceniając tabelę 15 zwraca uwagę statystycznie istotna, odwrotnie proporcjonalna zależność pomiędzy stężeniem fosforu a aktywnością cholinesterazy w surowicy krwi i statystycznie istotna, wprost proporcjonalna zależność pomiędzy stężeniem fosforu a wartością INR w surowicy krwi.

Tabela 16. Współzależność pomiędzy stężeniem fosfatazy kwaśnej w surowicy krwi a wybranymi parametrami biochemicznymi u chorych z pwzw-C
(współczynnik korelacji liniowej r Pearsona)

Parametr	KOBIEТЫ		kobiety		mężczyźni	
	I		współczynnik korelacji	poziom istotności	współczynnik korelacji	poziom istotności
	współczynnik korelacji	poziom istotności				
ALT	-0,066	NS	-0,002	NS	-0,108	NS
AST	-0,095	NS	-0,076	NS	-0,108	NS
GGTP	-0,098	NS	-0,074	NS	-0,140	NS
Cholinesteraza	0,236	0,019	0,212	NS	0,203	NS
INR	-0,182	NS	-0,099	NS	0,246	0,06
Bilirubina	-0,028	NS	-0,215	NS	0,021	NS
Białko	-0,043	NS	0,137	NS	-0,183	NS
całkowite						
Albumina	0,041	NS	0,116	NS	-0,070	NS
Alfa ₁ globuliny	-0,058	NS	0,027	NS	-0,101	NS
Alfa ₂ globuliny	0,073	NS	0,263	NS	-0,025	NS
Beta globuliny	0,130	NS	0,341	0,07	-0,012	NS
Gama globuliny	-0,175	NS	-0,082	NS	-0,184	NS

Oceniając tabelę 16 zwraca uwagę statystycznie istotna, wprost proporcjonalna zależność pomiędzy stężeniem fosfatazy kwaśnej a aktywnością cholinesterazy w surowicy krwi.

Tabela 17. Współzależność pomiędzy stężeniem 25(OH)D₃ w surowicy krwi a wybranymi parametrami biochemicznymi u chorych z pwzw-C (współczynnik korelacji liniowej r Pearsona)

Parametr	KOBIECY		kobiety		mężczyźni	
	I		współczynnik korelacji	poziom istotności	współczynnik korelacji	poziom istotności
	MĘŻCZYŻNI					
	współczynnik korelacji	poziom istotności				
ALT	0,151	NS	0,217	NS	0,075	NS
AST	0,184	NS	0,187	NS	0,195	NS
GGTP	0,128	NS	0,078	NS	0,161	NS
Cholinesteraza	-0,080	NS	-0,131	NS	-0,091	NS
INR	0,203	0,050	0,115	NS	0,287	0,032
Bilirubina	0,145	NS	0,037	NS	0,223	NS
Białko całkowite	0,200	NS	0,166	NS	0,233	NS
Albumina	0,155	NS	0,204	NS	0,098	NS
Alfa ₁ globuliny	0,134	NS	0,038	NS	0,210	NS
Alfa ₂ globuliny	0,073	NS	0,181	NS	-0,058	NS
Beta globuliny	0,031	NS	0,168	NS	-0,128	NS
Gama globuliny	0,077	NS	-0,151	NS	0,364	0,048

Oceniając tabelę 17 zwraca uwagę statystycznie istotną, wprost proporcjonalną zależność pomiędzy stężeniem 25(OH)D₃ a wartością INR w surowicy krwi.

Tabela 18. Współzależność pomiędzy stężeniem i-PTH w surowicy krwi a wybranymi parametrami biochemicznymi u chorych z pwzw-C (współczynnik korelacji liniowej r Pearsona)

Parametr	KOBIE TY					
	I		kobiety		mężczyźni	
	MĘŻCZYŹNI					
	współczynnik	poziom	współczynnik	poziom	współczynnik	poziom
	korelacji	istotności	korelacji	istotności	korelacji	istotności
ALT	-0,074	NS	-0,100	NS	-0,054	NS
AST	-0,026	NS	-0,065	NS	0,006	NS
GGTP	-0,089	NS	-0,244	NS	0,059	NS
Cholinesteraza	-0,066	NS	0,037	NS	-0,078	NS
INR	-0,288	0,005	-0,293	0,07	-0,280	0,037
Bilirubina	-0,082	NS	0,024	NS	-0,143	NS
Białko	0,060	NS	0,096	NS	0,035	NS
całkowite						
Albumina	0,052	NS	0,112	NS	0,006	NS
Alfa ₁ globuliny	-0,195	NS	0,028	NS	-0,273	NS
Alfa ₂ globuliny	0,076	NS	-0,094	NS	0,226	NS
Beta globuliny	0,096	NS	0,110	NS	0,081	NS
Gama globuliny	0,137	NS	0,047	NS	0,225	NS

Oceniając tabelę 18 zwraca uwagę statystycznie istotna, odwrotnie proporcjonalna zależność pomiędzy stężeniem i-PTH a wartością INR w surowicy krwi.

Tabela 19. Współzależność pomiędzy stężeniem CTX w surowicy krwi a wybranymi parametrami biochemicznymi u chorych z pzw-C
(współczynnik korelacji liniowej r Pearsona)

Parametr	KOBIE TY					
	I		kobiety		mężczyźni	
	MĘŻCZYŹNI					
	współczynnik	poziom	współczynnik	poziom	współczynnik	poziom
	korelacji	istotności	korelacji	istotności	korelacji	istotności
ALT	0,121	NS	0,109	NS	0,139	NS
AST	0,015	NS	0,040	NS	-0,001	NS
GGTP	0,012	NS	-0,048	NS	0,038	NS
Cholinesteraza	0,086	NS	0,164	NS	0,059	NS
INR	0,013	NS	0,092	NS	-0,030	NS
Bilirubina	-0,093	NS	-0,141	NS	-0,075	NS
Białko	-0,234	NS	-0,155	NS	-0,305	0,037

całkowite						
Albumina	-0,042	NS	0,010	NS	-0,096	NS
Alfa ₁ globuliny	-0,088	NS	0,012	NS	-0,109	NS
Alfa ₂ globuliny	-0,103	NS	-0,088	NS	-0,178	NS
Beta globuliny	-0,035	NS	-0,190	NS	0,041	NS
Gama globuliny	-0,159	NS	-0,0955	NS	-0,188	NS

Oceniając tabelę 19 zwraca uwagę brak statystycznie istotnych zależności pomiędzy stężeniem CTX w surowicy krwi a głównymi parametrami wątrobowymi krwi.

Poniżej przedstawiono współzależność pomiędzy badanymi parametrami gospodarki wapniowo-fosforanowej a stopniem nasilenia aktywności procesu zapalno-martwiczego w przestrzeniach wrotnych, okołowrotnych i na terenie zrazików wątrobowych u chorych z pwzw-C w całej grupie, a także z uwzględnieniem grupy tylko kobiet oraz grupy tylko mężczyzn (tabele 20, 21). Do oceny tych współzależności wykorzystano współczynnik korelacji rang Spearmana.

Tabela 20. Współzależność pomiędzy stopniem nasilenia aktywności procesu zapalno-martwiczego w przestrzeniach wrotnych, okołowrotnych i na terenie zrazików wątrobowych a wybranymi parametrami biochemicznymi u chorych z pwzw-C

(współczynnikiem korelacji rang Spearmana)

Parametr	KOBIECY		kobiety		mężczyźni	
	I		współczynnik korelacji	poziom istotności	współczynnik korelacji	poziom istotności
	współczynnik korelacji	poziom istotności				
Wapń całkowity	0,074	NS	0,336	NS	-0,097	NS
Wapń zjonizowany	0,164	NS	0,245	NS	0,034	NS
Fosfor	0,096	NS	0,338	NS	-0,077	NS
Fosfataza	-0,092	NS	-0,276	NS	-0,013	NS

kwaśna						
25(OH)D ₃	-0,008	NS	0,519	0,039	-0,227	NS
i-PTH	0,142	NS	-0,095	NS	0,252	NS
CTX	-0,129	NS	0,005	NS	-0,125	NS

Oceniając tabelę 20 zwraca uwagę brak statystycznie istotnych zależności pomiędzy stopniem nasilenia aktywności procesu zapalno-martwiczego w przestrzeniach wrotnych, okołowrotnych i na terenie zrazików a wybranymi parametrami gospodarki wapniowo-fosforanowej we krwi.

Tabela 21. Współzależność pomiędzy stopniem zaawansowania włóknienia w wątrobie a wybranymi parametrami biochemicznymi u chorych z pwzw-C (współczynnikiem korelacji rang Spearmana)

Parametr	KOBIECY		kobiety		mężczyźni	
	I					
	MĘŻCZYŹNI					
	współczynnik korelacji	poziom istotności	współczynnik korelacji	poziom istotności	współczynnik korelacji	poziom istotności
Wapń całkowity	-0,148	NS	-0,229	NS	-0,173	NS
Wapń zjonizowany	0,202	NS	0,346	NS	0,052	NS
Fosfor	0,045	NS	0,318	NS	-0,106	NS
Fosfataza kwaśna	-0,114	NS	-0,319	NS	-0,117	NS
25(OH)D ₃	-0,163	NS	-0,005	NS	-0,234	NS
i-PTH	0,076	NS	-0,183	NS	0,183	NS
CTX	-0,170	NS	-0,154	NS	-0,201	NS

Oceniając tabelę 21 zwraca uwagę brak statystycznie istotnych zależności pomiędzy stopniem zaawansowania włóknienia w wątrobie a wybranymi parametrami gospodarki wapniowo-fosforanowej we krwi.

Poniżej przedstawiono porównanie zbiorczych wyników poszczególnych parametrów biochemicznych w grupach chorych z pwzw-C przed i po 48-tygodniowej

terapii interferonem alfa z rybawiryną w całej grupie badanej (tabela 22) oraz w grupie kobiet (tabela 23) i w grupie mężczyzn (tabela 24).

Tabela 22. Porównanie poszczególnych parametrów biochemicznych u chorych z pzw-
C przed i po 48-tygodniowej terapii interferonem alfa z rybawiryną

Parametr	grupa	n	Wynik Średni	odchylenie standardowe	min.	max.	poziom istotności
-----------------	--------------	----------	-------------------------------	---	-------------	-------------	--------------------------

Wapń całkowity (mmol/l)	przed	25	2,330	0,136	2,1	2,55	NS
	terapią po terapii		2,353	0,127	2,13	2,61	
Wapń zjonizowany (mmol/l)	przed	25	0,872	0,086	0,69	1,06	NS
	terapią po terapii		0,847	0,102	0,49	0,99	
Fosfor (mmol/l)	przed	25	1,044	0,164	0,68	1,42	NS
	terapią po terapii		0,999	0,093	0,72	1,14	
Fosfataza kwaśna (U/L)	przed	25	3,55	0,65	2,4	4,7	NS
	terapią po terapii		3,36	0,561	2,2	4,4	
25(OH)D ₃ (nmol/l)	przed	25	42,26	30,65	5	169,1	0,002
	terapią po terapii		18,72	18,24	5,6	80,7	
i-PTH (pg/ml)	przed	25	27,03	13,02	8,9	60,6	<0,001
	terapią po terapii		69,62	34,04	13,7	188,3	
CTX (ng/ml)	przed	25	0,535	0,185	0,245	1,003	<0,001
	terapią po terapii		0,297	0,111	0,070	0,512	

Oceniając tabelę 22 zwraca uwagę statystycznie istotne obniżenie stężenia 25(OH)D₃ i CTX oraz podwyższenie stężenia i-PTH w surowicy krwi po 48-tygodniowej terapii interferonem alfa z rybawiryną. Brak statystycznie istotnej zależności w zakresie pozostałych, ocenianych parametrów.

Tabela 23. Porównanie poszczególnych parametrów biochemicznych u chorych z pzw-
C przed i po 48-tygodniowej terapii interferonem alfa z rybawiryną u kobiet

Parametr	grupa	n	Wynik Średni	odchylenie standardowe	min.	max.	poziom istotności
Wapń całkowity (mmol/l)	przed	10	2,341	0,113	2,16	2,51	NS
	terapią po terapii		2,353	0,109	2,23	2,51	

Wapń zjonizowany (mmol/l)	przed	10	0,849	0,110	0,69	1,06	NS
	terapią po terapii		0,829	0,156	0,49	0,99	
Fosfor (mmol/l)	przed	10	1,141	0,111	1,02	1,40	0,039
	terapią po terapii		1,047	0,070	0,94	1,14	
Fosfataza kwaśna (U/L)	przed	10	3,51	0,706	2,40	4,3	NS
	terapią po terapii		3,34	0,412	2,80	4	
25(OH)D ₃ (nmol/l)	przed	10	46,39	47,02	5	169,1	NS
	terapią po terapii		19,94	14,61	5,60	56	
i-PTH (pg/ml)	przed	10	32,85	14,804	10,50	60,6	0,013
	terapią po terapii		76,54	44,34	13,70	188,3	
CTX (ng/ml)	przed	10	0,635	0,230	0,245	1,003	0,001
	terapią po terapii		0,304	0,068	0,214	0,426	

Tabela 23 przedstawia parametry w podgrupie kobiet. Zwraca uwagę statystycznie istotne obniżenie stężenia fosforu i CTX oraz podwyższenie stężenia i-PTH w surowicy krwi po 48-tygodniowej terapii interferonem alfa z rybawiryną. Brak statystycznie istotnej zależności w zakresie pozostałych, ocenianych parametrów.

Tabela 24. Porównanie poszczególnych parametrów biochemicznych u chorych z pzwz-
C przed i po 48-tygodniowej terapii interferonem alfa z rybawiryną, u mężczyzn

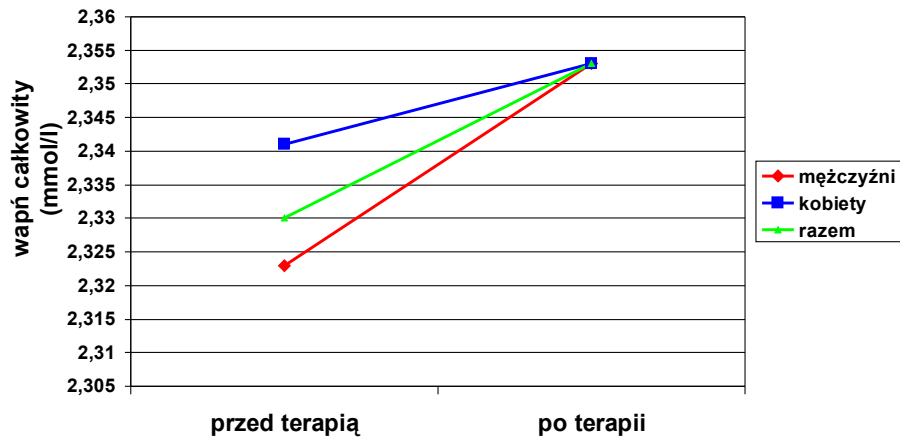
Parametr	grupa	n	Wynik	odchylenie	min.	max.	poziom istotności
			Średni	standardowe			
Wapń całkowity (mmol/l)	przed	15	2,323	0,152	2,1	2,55	NS
	terapią po terapii		2,353	0,141	2,13	2,61	
Wapń zjonizowany (mmol/l)	przed	15	0,887	0,065	0,79	1,0	NS
	terapią po terapii		0,859	0,042	0,8	0,91	
Fosfor (mmol/l)	przed	15	0,98	0,16	0,68	1,42	NS
	terapią po terapii		0,97	0,09	0,72	1,1	
Fosfataza kwaśna (U/L)	przed	15	3,57	0,64	2,4	4,7	NS
	terapią po terapii		3,37	0,65	2,2	4,4	
25(OH)D ₃ (nmol/l)	przed	15	39,51	13,00	5	52,9	0,002
	terapią po terapii		17,91	20,77	5,6	80,7	

i-PTH (pg/ml)	przed	15	23,15	0,045	8,9	44,6	<0,001
	terapią po terapii		65,00	25,79	22,2	127,6	
CTX (ng/ml)	przed	15	0,470	0,113	0,336	0,702	<0,001
	terapią po terapii		0,294	0,135	0,070	0,512	

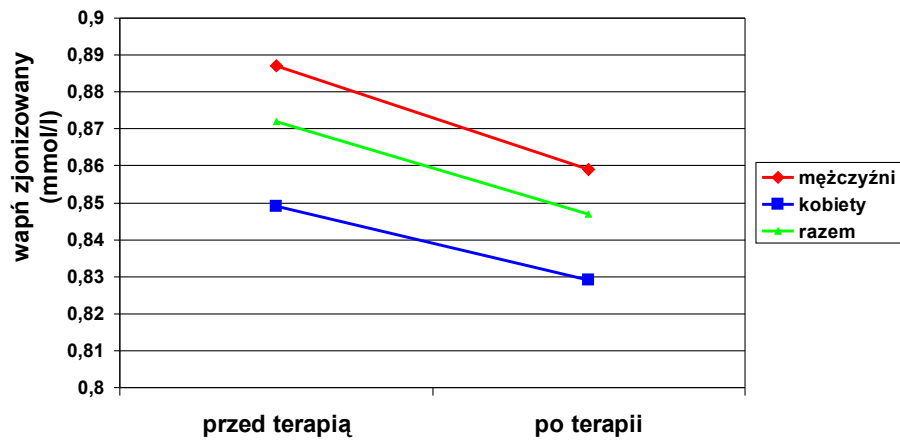
Tabela 24 przedstawia parametry w podgrupie mężczyzn. Zwraca uwagę statystycznie istotne obniżenie stężenia 25(OH)D₃ i CTX oraz podwyższenie stężenia i-PTH w surowicy krwi po 48-tygodniowej terapii interferonem alfa z rybawiryną. Brak statystycznie istotnej zależności w zakresie pozostałych, ocenianych parametrów.

Porównanie wartości każdego z ocenianych parametrów w grupach pacjentów z pwzw-C przed i po 48-tygodniowej terapii interferonem alfa z rybawiryną, z uwzględnieniem podgrup kobiet i mężczyzn przedstawiono w postaci poniższych Rycin od 9 do 15.

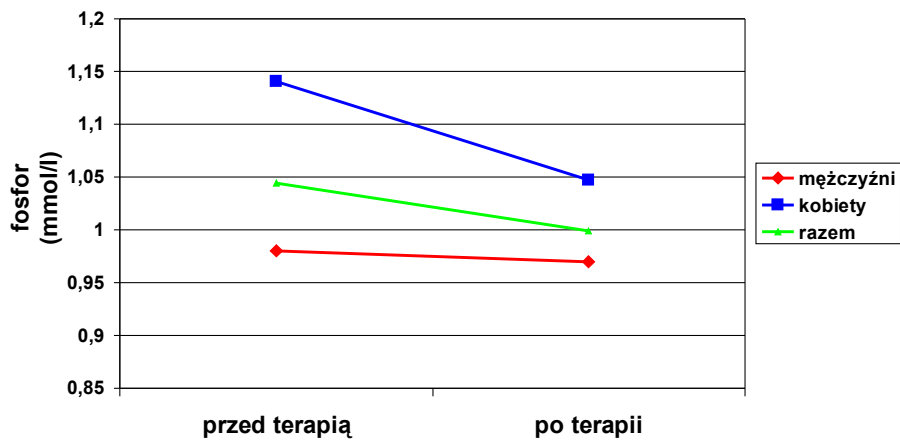
Rycina 9. Porównanie stężenia wapnia całkowitego w surowicy chorych z pzwz typu C przed i po 48-tygodniowej terapii interferonem alfa z rybawiryną



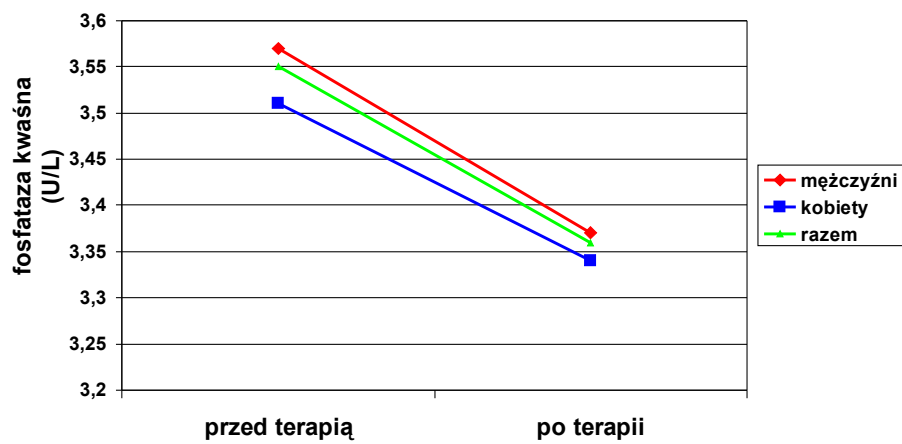
Rycina 10. Porównanie stężenia wapnia zjonizowanego w surowicy chorych z pzwz typu C przed i po 48-tygodniowej terapii interferonem alfa z rybawiryną



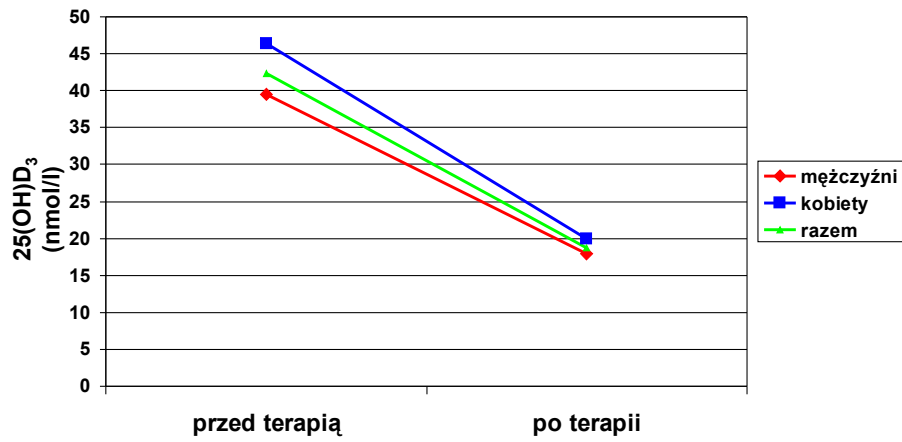
Rycina 11. Porównanie stężenia fosforu w surowicy chorych z pzwz typu C przed i po 48-tygodniowej terapii interferonem alfa z rybawiryną



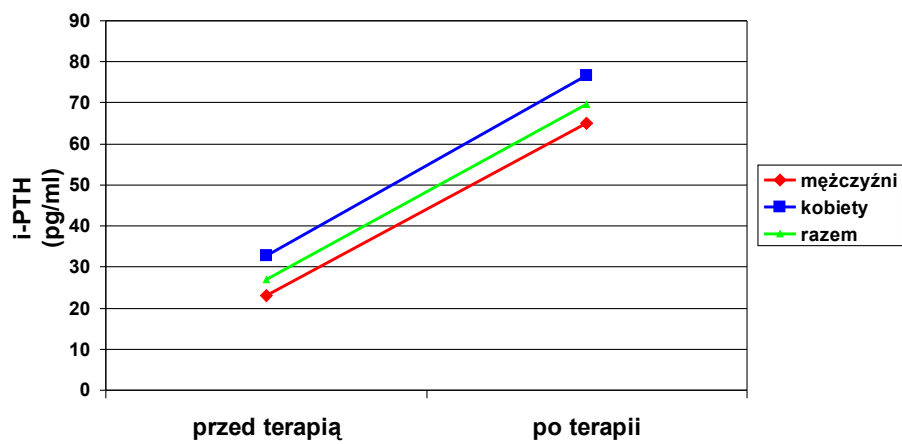
Rycina 12. Porównanie aktywności fosfatazy kwaśnej w surowicy chorych z pzwz typu C przed i po 48-tygodniowej terapii interferonem alfa z rybawiryną



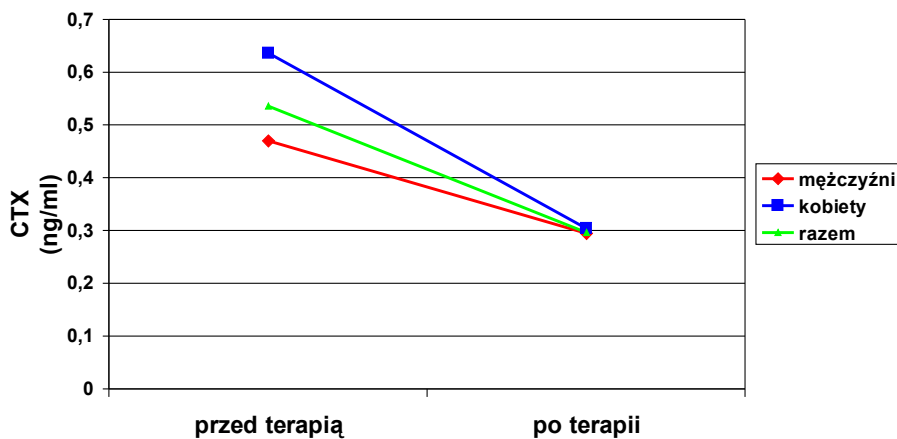
Rycina 13. Porównanie stężenia 25(OH)D₃ w surowicy chorych z pzwz typu C przed i po 48-tygodniowej terapii interferonem alfa z rybawiryną



Rycina 14. Porównanie stężenia i-PTH w surowicy chorych z pzwz typu C przed i po 48-tygodniowej terapii interferonem alfa z rybawiryną



Rycina 15. Porównanie stężenia CTX w surowicy chorych z pzwz typu C przed i po 48-tygodniowej terapii interferonem alfa z rybawiryną



5. Dyskusja

Osteodystrofia wątrobowa jest częstym powikłaniem przewlekłych chorób wątroby. Patogeneza jej rozwoju nie jest do końca poznana i wydaje się być wieloczynnikowa. Do potencjalnych i licznych przyczyn osteodystrofii można zaliczyć zaburzenia wątrobowej hydroksylacji witaminy D₃, zaburzenia w zakresie receptora dla witaminy D₃, wzrost stężenia w surowicy PTH, niedobór IGF-1, hiperbilirubinemię, hipogonadyzm, odkładanie żelaza w tkankach, niedobór osteoprotegeryny, jatrogeny wpływ farmakoterapii, zaburzenia wchłaniania witaminy D₃, wapnia i fosforu, co jest związane ze spadkiem stężenia kwasów żółciowych oraz zaburzenia syntezy białek, do którego dochodzi wraz z pogarszaniem się czynności wątroby [34, 38].

Niniejsze badania wykazały u chorych z pzwz-C niższe wartości podstawowych makroelementów gospodarki wapniowo-fosforanowej w porównaniu do grupy kontrolnej.

Stężenie wapnia całkowitego, zjonizowanego i fosforu w surowicy krwi chorych na pwzw-C było niższe niż w grupie kontrolnej w całej grupie, jak również biorąc pod uwagę pacjentów każdej płci osobno. Zależność ta była statystycznie istotna dla wapnia całkowitego dla całej grupy, natomiast w przypadku wapnia zjonizowanego i fosforu dla całej grupy oraz osobno dla każdej płci. Należy jednak zwrócić uwagę, iż stężenia wapnia całkowitego, a także fosforu u pacjentów z pwzw-C, niezależnie od płci, mieściły się w zakresie normy, natomiast stężenie wapnia zjonizowanego u tych pacjentów, niezależnie od płci, było poniżej wartości prawidłowych.

Porównując wyniki niniejszych badań z dotychczas publikowanymi wynikami należy zwrócić uwagę, iż u chorych z przewlekłą chorobą wątroby stwierdzano do tej pory zarówno obniżone stężenia wapnia całkowitego, jak i prawidłowe lub obniżone stężenie wapnia zjonizowanego oraz fosforanów w surowicy [37, 38, 54, 68, 103, 104].

Analizując zachowanie się $25(\text{OH})\text{D}_3$ we krwi chorych, w niniejszym badaniu stwierdzono wyższe jego stężenie u chorych z pwzw-C w porównaniu z grupą kontrolną, a także, gdy brano pod uwagę pacjentów każdej płci osobno. Obserwowane różnice były statystycznie istotne. Należy jednak zwrócić uwagę na fakt, iż stężenie $25(\text{OH})\text{D}_3$ u pacjentów z pwzw-C w całej grupie i w grupie kobiet, a także w grupie kontrolnej, było poniżej wartości prawidłowych, natomiast u mężczyzn z pwzw-C mieściło się w zakresie normy.

Metabolizm witaminy D_3 został dobrze poznany. W mikrosomach komórek wątrobowych dochodzi do hydroksylacji witaminy D przy węglu 25 i w efekcie tego powstaje $25(\text{OH})\text{D}_3$, która następnie podlega hydroksylacji przy węglu 1 w mitochondriach proksymalnej części kanalików nerkowych. Hydroksylacja witaminy D_3 warunkuje jej przejście w formę aktywną, czyli $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, która jest odpowiedzialna za wzrost wchłaniania wapnia oraz fosforanów z przewodu pokarmowego, a także

pobudza zarówno osteoblasty, jak i osteoklasty w kościach. Sumarycznym efektem tych przemian jest podwyższenie stężenia wapnia i fosforanów w surowicy tak, aby zapewnić jak najlepsze warunki dla procesu mineralizacji kości. W przewlekłej chorobie wątroby, w wyniku zmniejszenia masy czynnych hepatocytów, można spodziewać się obniżenia stężenia aktywnej formy witaminy D₃ w surowicy i w konsekwencji zaburzenia homeostazy gospodarki wapniowo-fosforanowej, w której bierze też udział PTH. W dotychczasowych badaniach oceniających zachowanie się metabolitów witaminy D₃ w grupie chorych z przewlekłą chorobą wątroby brak jest jednoznacznych wyników. Stwierdzano zarówno prawidłowe [36, 39], jak i obniżone stężenie zarówno 25(OH)D₃, jak i 1,25(OH)₂D₃ [37]. Wyniki niniejszego badania wykazały obniżone stężenie 25(OH)D₃ u chorych na pzwz-C. Porównując pacjentów z dokonaną marskością wątroby z pacjentami z przewlekłym uszkodzeniem wątroby, ale jeszcze bez przebudowy narządu typowego dla marskości, w grupie chorych z marskością stwierdzono niższe stężenie obu metabolitów witaminy D₃ [38]. Analizując dotychczasowe doniesienia naukowe, wydaje się jednak, iż zwłaszcza u chorych z marskością stężenie 1,25(OH)₂D₃ jest bardzo często obniżone [36, 37, 38, 61, 69]. Zmiany te powinny mieć wpływ na gęstość mineralną kości i rozwój osteoporozy. Jednakże nie stwierdzono korelacji pomiędzy niskim stężeniem 1,25(OH)₂D₃ w surowicy krwi pacjentów z przewlekłą chorobą wątroby a nasileniem osteoporozy [34, 42, 43]. Próby suplementacji 1,25(OH)₂D₃, czy też 25(OH)D₃ nie przyniosły żadnych efektów poprawy masy kostnej, czy zmniejszenia częstości złamań kości związanych z upadkami chorych [34, 40, 41]. Przypuszcza się, iż prawdopodobnie obniżone stężenie witaminy D₃ w surowicy krwi może nie być związane z zaburzeniami jej wątrobowej hydroksylacji. Hipotetycznymi przyczynami tego stanu byłoby nadmierne, nerkowe wydzielanie witaminy, zaburzenia żywieniowe, lub zmniejszenie krążenia wątrobowego witaminy D₃ [34, 44]. Metabolity witaminy D₃ są

transportowane w surowicy przez białko DBP. Pomimo stwierdzenia niższego poziomu DBP w surowicy osób z marskością wątroby, poziom wolnej frakcji metabolitów witaminy D₃ nie był obniżony [38, 69].

Kolejnym, ważnym związkiem biorącym udział w homeostazie gospodarki wapniowo-fosforanowej jest PTH. Nadmierny jego wzrost we krwi doprowadza do utraty masy kostnej, wskutek nasilenia resorpcyjnej aktywności osteoklastów. W dotychczasowych badaniach oceniających poziom PTH w grupie pacjentów z przewlekłą chorobą wątroby nie stwierdzano istotnych różnic w porównaniu do pacjentów bez przewlekłej choroby wątroby [38, 54].

Wyniki niniejszych badań też te obserwacje potwierdzają. Badając zachowanie się i-PTH u chorych na pwzw-C stwierdzono, że stężenie i-PTH w surowicy było wyższe u tych chorych, a szczególnie wśród płci żeńskiej w porównaniu do grupy kontrolnej. Natomiast w grupie mężczyzn obserwowano zależność odwrotną, a mianowicie pacjenci z pwzw-C cechowali się niższym stężeniem i-PTH niż pacjenci bez infekcji, jednak różnice te były nieistotne statystycznie. Stężenie i-PTH we krwi chorych na pwzw-C było prawidłowe.

W bazach medycznych dostępnych jest kilka prac naukowych oceniających zachowanie się markerów obrotu kostnego w chorobach wątroby. Duarte i wsp. wykazali brak korelacji pomiędzy NTX w moczu z osteodystrofią wątrobową u pacjentów z pwzw-C [36]. Soliz-Herruzo i wsp. oceniali stężenie OC i b-ALP we krwi oraz PYD w moczu chorych z pwzw-C leczonych INF i RBV nie stwierdzając odchyień od wartości prawidłowych [46]. Steinberg i wsp. wykazali niższe stężenie OC i wyższe b-ALP we krwi kobiet z chorobą wątroby w stosunku do grupy kontrolnej. Ponieważ OC jest markerem resorpcji, a b-ALP markerem kościotworzenia, to w teoretycznych rozważaniach spodziewalibyśmy się raczej korelacji odwrotnych [104]. Również

Tsuneoka i wsp. wykazali, iż chorych z przewlekłą chorobą wątroby cechuje prawidłowe stężenie OC we krwi i PYD oraz DPD w moczu, jakkolwiek pacjenci z marskością wątroby cechowali się statystycznie wyższym poziomem DPD w moczu niż chorzy z przewlekłą chorobą wątroby, ale bez marskości [38]. Natomiast odchylenia w markerach obrotu kostnego wykazali Crosbie i wsp., którzy stwierdzili statystycznie znaczący wzrost wartości markerów resorpcji, a mianowicie DPD, PYD i OHP w moczu chorych z przewlekłą chorobą wątroby [37].

Brak jest doniesień na temat stężenia CTX w chorobach wątroby. W niniejszym badaniu stężenie CTX w surowicy krwi badanych chorych na pwzw-C było niższe w porównaniu z grupą kontrolną. Obserwowane różnice były statystycznie istotne dla całej grupy chorych, a także w podgrupie mężczyzn. Stężenie CTX u kobiet z pwzw-C i w grupie kontrolnej, było powyżej wartości prawidłowych, natomiast u mężczyzn z pwzw-C mieściło się w zakresie normy. CTX jest uwalniany w czasie osteoklastycznej resorpcji kości, oceniając powyższe wyniki nie zaobserwowano, aby pacjenci z pwzw-C cechowali się wyższym stężeniem CTX, czyli nasiloną resorpcją kostną, w stopniu większym niż pacjenci z grupy kontrolnej. Analizując zachowanie się CTX u badanych chorych wydaje się, iż albo w przebiegu pwzw-C nie dochodzi do nasilenia aktywności osteoklastów w stosunku do pacjentów bez tej infekcji, albo CTX nie jest dobrym dla pacjentów z pwzw-C markerem uszkodzenia gospodarki wapniowo-fosforanowej. Niezbędne wydaje się być przeprowadzenie dalszych badań oceniających inne markery obrotu kostnego, zarówno resorpcji, jak i syntezy.

Fosfataza kwaśna do tej pory nie była szeroko wykorzystywana w diagnostyce uszkodzenia gospodarki wapniowo-fosforanowej. Wynika to z faktu, iż nie jest ona enzymem swoistym dla kości, jest produkowana również przez komórki innych tkanek, a mianowicie przede wszystkim stercza, ale także wątroby i nerek. Ponieważ w

piśmiennictwie brak jest danych na temat zachowania się aktywności fosfatazy kwaśnej w osteodystrofii wątrobowej, a sam mechanizm osteodystrofii wątrobowej nie jest w pełni jasny, dlatego też w niniejszych badaniach uwzględniono ocenę aktywności tego enzymu. Stwierdzono, iż aktywność fosfatazy kwaśnej w surowicy była niższa w grupie pacjentów z pwzw-C w całej grupie, jak również biorąc pod uwagę pacjentów każdej płci osobno. Obserwowane różnice były statystycznie istotne, aktywność fosfatazy kwaśnej u pacjentów z pwzw-C, niezależnie od płci, mieściła się w zakresie normy.

Próbując ustalić, które parametry biochemiczne, oceniające czynność wątroby, korelują z parametrami gospodarki wapniowo fosforanowej, przeprowadzono w niniejszej pracy stosowne porównania z wykorzystaniem współczynnika korelacji liniowej r Pearsona. Badania te wykazały, iż jedynie dwa parametry, a mianowicie INR i aktywność cholinesterazy w surowicy krwi, korelują w sposób statystycznie istotny z wybranymi parametrami gospodarki wapniowo-fosforanowej. Zaobserwowano mianowicie wprost proporcjonalną zależność pomiędzy stężeniem wapnia całkowitego a aktywnością cholinesterazy w surowicy i odwrotnie proporcjonalną zależność pomiędzy stężeniem wapnia całkowitego a wartością INR w surowicy. Ponadto stwierdzono odwrotnie proporcjonalną zależność pomiędzy stężeniem fosforu a aktywnością cholinesterazy w surowicy krwi i wprost proporcjonalną zależność pomiędzy stężeniem fosforu a wartością INR w surowicy. Zaobserwowano również wprost proporcjonalną zależność pomiędzy stężeniem $25(\text{OH})\text{D}_3$ a wartością INR w surowicy i odwrotnie proporcjonalną zależność pomiędzy stężeniem i-PTH a wartością INR w surowicy. Brak jest informacji w dostępnych bazach medycznych na temat obecności takich korelacji. W teoretycznych rozważaniach należałoby się spodziewać wprost proporcjonalnej korelacji pomiędzy wapniem i fosforem a cholinesterazą oraz odwrotnie proporcjonalnej z INR, bowiem u chorych z dużym uszkodzeniem wątroby dochodzi do wzrostu INR i obniżenia stężenia

cholinesterazy. Właśnie takie korelacje zaobserwowano w zakresie wapnia, natomiast odwrotnie niż oczekiwano w zakresie fosforu. Również biorąc pod uwagę 25(OH)D₃ zaobserwowano wprost proporcjonalną korelację do INR, a należy pamiętać, iż wraz z uszkodzeniem wątroby wzrasta INR, czyli należałoby spodziewać się obniżenia 25(OH)D₃.

W dalszej części pracy podjęto próbę oceny wpływu stopnia uszkodzenia wątroby na parametry gospodarki wapniowo-fosforanowej, poddając je korelacji z wynikami badań histopatologicznych bioptatów wątroby. Badanie histopatologiczne bioptatu wątroby pozwala ocenić stopień nasilenia aktywności procesu zapalno-martwiczego w przestrzeniach wrotnych, okołowrotnych i na terenie zrazików oraz stopień zaawansowania włóknienia w wątrobie według stosowanej w tej pracy skali Battsa-Ludwiga. Wiadomo jest, iż przebieg pzw-C może różnić się w zależności od osobniczych cech chorego, od czynników środowiskowych, od interakcji wirus-gospodarz. U części chorych, mimo długo trwającego procesu infekcyjnego, zmiany w wątrobie mogą być niewielkie i na odwrót, mimo krótkiego czasu trwania zakażenia, może dojść do znacznego uszkodzenia wątroby. Dzięki badaniu histopatologicznemu można dokładnie ocenić, jak bardzo proces chorobowy uszkodził wątrobę. W niniejszym badaniu stwierdzono brak statystycznie istotnych zależności pomiędzy stopniem nasilenia aktywności procesu zapalno-martwiczego oraz stopniem zaawansowania włóknienia w wątrobie a ocenianymi parametrami gospodarki wapniowo-fosforanowej we krwi.

Podsumowując, wyniki powyższych badań wykazały u chorych z pzw-C niższe wartości podstawowych makroelementów gospodarki wapniowo-fosforanowej w porównaniu do grupy kontrolnej, czyli wapnia i fosforu, natomiast odchylenia w zakresie 25(OH)D₃ są najpewniej następstwem tych zmian. Obserwowane u chorych z pzw-C różnice w zakresie parametrów gospodarki wapniowo-fosforanowej, zwłaszcza wapnia i

fosforu, są na tyle nieduże, iż nie wydaje się, aby pacjentom z pwzw-C należało wprowadzać profilaktyczną farmakoterapię. Należy uwzględnić jednak fakt, iż pacjent z pwzw-C może być narażony na inny czynnik lub inne schorzenie, które negatywnie wpływa na gospodarkę wapniowo-fosforanową, a co w konsekwencji może prowadzić do szybszego rozwoju omawianych zmian. Takich pacjentów należy szczególnie uważnie obserwować oraz przeprowadzać właściwą diagnostykę. Wydaje się, iż właściwe by było ocenienie stężenia wapnia całkowitego, zjonizowanego, fosforu, witaminy D₃ i PTH we krwi oraz badania densytometrycznego kości raz na 3-5 lat u chorych do 50 roku życia, natomiast co dwa lata u chorych po 50 roku życia. U pacjentów z pwzw-C nie zaobserwowano odchyleń od wartości prawidłowych w zakresie i-PTH i fosfatazy kwaśnej, poziom CTX we krwi nie był wyższy niż w grupie kontrolnej, przy czym zarówno w grupie kontrolnej jak i z pwzw-C przekraczał wartości prawidłowe. Niezbędna jest dalsza ocena markerów obrotu kostnego u chorych z pwzw-C, ale także ocena stężenia CTX we krwi w obrębie dużej grupy zdrowych pacjentów, celem unormowania zakresu wartości prawidłowych. Przeprowadzone analizy statystyczne wykazały, iż konsekwentnie dwa parametry, to znaczy INR i cholinesteraza, korelowały z parametrami wapniowo-fosforanowymi, ale patogeneza tych korelacji nie do końca jest jasna.

Ponadto należy jeszcze zwrócić uwagę, iż w grupie kontrolnej obserwowano stężenia 25(OH)D₃ poza wartościami normy. Hipotetycznie można tu wymienić dwie przyczyny takiego stanu. Brak jest do tej pory badań na dużych grupach pacjentów zdrowych z uwzględnieniem poszczególnych krajów i regionów. Być może należałoby skorygować wartości prawidłowe tych parametrów dla populacji polskiej. Drugą hipotezą jest zły stan gospodarki wapniowo-fosforanowej w populacji polskiej. Mogłoby to wynikać z coraz to większego nacisku w ostatnich dwudziestu latach na sukces w pracy

zawodowej, a więc w mniejszym stopniu poświęcenia odpowiedniej ilości czasu na rekreację na powietrzu, a także na regularne, zdrowe odżywianie się. Odpowiednia dieta, wysiłek fizyczny i nasłonecznienie stanowią podstawowe elementy niezbędne do prawidłowego rozwoju układu kostnego. Wydaje się istotne przeprowadzenie w przyszłości badań na dużych grupach zdrowych osób w zakresie zachowania się 25(OH)D₃.

Brak jest wystarczającej ilości danych w piśmiennictwie na temat oddziaływania terapii przeciwwirusowej interferonem alfa z rybawiryną na układ kostny. Nieliczne badania dowodzą niekorzystnego wpływu tej terapii na gęstość mineralną kości, jakkolwiek mechanizm takiego oddziaływania nie został poznany [46]. Odnotowano osteopenię w przebiegu hiperplazji komórek szpiku w trakcie terapii interferonem z rybawiryną [47]. Badanie Soliz-Herruzo i wsp. dotyczyło oceny układu kostnego u chorych leczonych interferonem oraz interferonem z rybawiryną. Grupa chorych leczonych interferonem z rybawiryną cechowała się znacząco mniejszymi wartościami BMD, *t-score*, *z-score* w stosunku do grupy leczonej samym interferonem. Takich różnic nie obserwowano w zakresie stężenia wapnia, fosforu, osteokalcyny, i-PTH, 25-hydroksykalcysterolu w surowicy krwi oraz pirydynoliny w moczu. W grupie 19 chorych otrzymujących terapię skojarzoną, u około 20 % osób stwierdzono osteoporozę (*t-score* poniżej - 2,5), a u wszystkich pacjentów osteopenię (*t-score* od - 1,0 do -2,5). Warto zwrócić uwagę, iż u żadnego z pacjentów tej grupy nie stwierdzono prawidłowej wartości *t-score*. W grupie, która otrzymywała tylko interferon, wszyscy chorzy cechowali się prawidłową wartością *t-score* [46]. Jakkolwiek brak jest pomiarów *t-score* przed terapią, to jednak trudno przypuszczać, żeby przed włączeniem wszyscy chorzy mieli nieprawidłowe wartości *t-score*, również porównanie do grupy leczonej tylko interferonem dowodzi niekorzystnego wpływu terapii skojarzonej na układ kostny. Nie

jest jasne, czy na taki wynik ma wpływ stosowanie w terapii rybawiryny, czy też może podawanych obydwu leków razem. Interferon jest preparatem, który w badaniach *in vivo* hamował różnicowanie się osteoklastów oraz obniżał poziom wydalanych z moczem produktów degradacji kolagenu, pirydynoliny i deoksypirydynoliny, będących markerami resorpcji kostnej. Potencjalnie więc interferon powinien doprowadzać do wzrostu gęstości mineralnej kości, jednak brak do tej pory takich doniesień potwierdzonych w badaniach klinicznych [34, 74].

Urganci i wsp. przeprowadzili ocenę wpływu 12-miesięcznej terapii zakażenia HCV w grupie 20 dzieci w wieku od 6 do 15 roku życia. Zarówno w podgrupie 13 chorych leczonych interferonem alfa i rybawiryną, jak i w podgrupie 7 chorych leczonych tylko interferonem alfa nie obserwowano statystycznie znaczących różnic w zakresie BMD i *z-score* oceniając te parametry przed i po terapii. Nie obserwowano także odchyleń od prawidłowych wartości w zakresie parametrów wapnia całkowitego, fosforu, PTH, 25(OH)D₃ i stężenia wapnia w moczu [95].

Drugim celem niniejszego badania była ocena wpływu leczenia przeciwwirusowego interferonem alfa z rybawiryną na stan gospodarki wapniowo-fosforanowej u pacjentów z pwzw-C.

Oceniając wyniki tej części badań należy przede wszystkim zwrócić uwagę na brak statystycznie istotnych zmian w zachowaniu się podstawowych makroelementów gospodarki wapniowo-fosforanowej, a mianowicie wapnia i fosforu, u chorych po przeprowadzonym leczeniu przeciwwirusowym. Zaobserwowano natomiast statystycznie istotne obniżenie stężenia 25(OH)D₃ oraz podwyższenie stężenia i-PTH w surowicy po 48-tygodniowej terapii interferonem alfa z rybawiryną. Biorąc jednak pod uwagę prawidłowe stężenia makroelementów kostnych, wapnia i fosforu, nie wydaje się, aby

obserwowane niewielkie odchylenia w zakresie tych hormonów były istotne dla zdrowia pacjentów.

Podsumowując, należy stwierdzić, że 48-tygodniowa terapia przeciwwirusowa interferonem alfa z rybawiryną nie wpływa niekorzystnie na stan gospodarki wapniowo-fosforanowej u chorych z pwzw-C.

Jak już wspomniano patogeneza osteodystrofii wątrobowej jest niejasna i najpewniej wieloczynnikowa. Z tego powodu podejmowano próby znalezienia innych przyczyn mechanizmu osteodystrofii.

Podwyższone stężenie bilirubiny w surowicy w przebiegu cholestazy jest prawdopodobnym czynnikiem etiologicznym rozwoju osteoporozy. W przebiegu pwzw-C u większości chorych stężenie bilirubiny w surowicy krwi nie przekracza wartości prawidłowych. Podobnie zachowują się zwykle enzymy cholestatyczne, takie jak fosfataza alkaliczna, czy GGTP, niemniej jednak u części pacjentów, zwłaszcza ze znacznym uszkodzeniem wątroby w przebiegu pwzw-C, można zaobserwować cholestazę. Mechanizm wpływu cholestatycznych chorób wątroby na układ kostny nie jest jasny, natomiast ich związek z osteodystrofią został dobrze udokumentowany [39, 49, 53]. W przebiegu chorób cholestatycznych obserwuje się zaburzenie równowagi pomiędzy procesem tworzenia i resorpcji kości. Dochodzi zarówno do zmniejszenia aktywacji osteoblastów [39, 50, 51], jak i nasilenia działania osteoklastów [39, 52], natomiast nie jest jasny mechanizm indukcji tych komórek kości w cholestazie. Przypuszcza się, że hiperbilirubinemia wpływa hamująco na aktywność osteoblastów. W badaniach *in vitro* wykazano, iż bilirubina niezwiązana uzyskiwana od pacjentów z żółtaczką, hamowała proliferację osteoblastów [34, 56, 57]. Choroby wątroby przebiegające z cholestazą były jednymi z pierwszych schorzeń wątroby, z którymi powiązano zmiany w układzie kostnym. Pierwsze badania dotyczyły zwłaszcza chorych z

PBC. Jako główną hipotezę zmian w kościach przyjmowano u tych chorych zaburzenia wchłaniania wapnia i witaminy D₃ z przewodu pokarmowego w przebiegu cholestazy. Obecnie w dalszym ciągu nie neguje się obecności tych zaburzeń, jednakże nie jest wiadomo, dlaczego BMD nie koreluje z poziomem witaminy D₃, a także, co bardzo istotne, dlaczego u pacjentów z niskim poziomem witaminy D₃ po jego uzupełnieniu, nie dochodzi do odpowiedniej poprawy gęstości kostnej. Być może sama hiperbilirubinemia jest ważniejsza w mechanizmie zaburzeń kostnych, niż związane z cholestazą zaburzenia wchłaniania. Dlatego suplementacja wapnia i witaminy D₃, przy utrzymującej się hiperbilirubinemii, nie są wystarczające do poprawy BMD [49].

Do innych czynników, mogących tłumaczyć mechanizm rozwoju osteodystrofii wątrobowej, należy polimorfizm genu receptora dla witaminy D₃ (VDR – *vitamin D receptor*). Wykazano bowiem związek pomiędzy gęstością mineralną kości a wariantem genu VDR, kodującego białka receptora dla witaminy D₃. Gen VDR jest kodowany przez allele opisywane jako B/b, A/a oraz T/t [70]. Nie poznano do tej pory fizjologicznego mechanizmu wpływu polimorfizmu genotypu receptora dla witaminy D₃ na gęstość mineralną kości. Prawdopodobnie ma on związek z zaburzeniami jelitowego wchłaniania wapnia, a także zróżnicowania tkankowej wrażliwości na witaminę D₃ [70].

Witamina D₃, oprócz swojej podstawowej roli regulatora homeostazy gospodarki wapniowo-fosforanowej, pełni też funkcje immunoregulacyjne. Aktywuje monocyty, reguluje odpowiedź komórkową, hamuje proliferację limfocytów, produkcję immunoglobulin i syntezę cytokin [70]. Uważa się, iż w niektórych chorobach zakaźnych znacząca grupa pacjentów cechuje się nadmierną lub znacznie niższą obecnością poszczególnych wariantów genu VDR. Bellamy i wsp. postuluje ochronną rolę wariantu tt genu VDR w rozwoju przewlekłego wirusowego zapalenia wątroby [70]. Nie tłumaczy to, co prawda, bezpośredniego związku genu VDR z osteodystrofią wątrobową, ale

zwraca uwagę na powiązanie, które wymaga dalszych badań [70, 71]. Na potwierdzenie tych rozważań należy przytoczyć badanie Springer i wsp., który stwierdził wśród pacjentów z PBC zależność pomiędzy genotypem receptora witaminy D₃ a rozwojem osteodystrofii wątrobowej. U pacjentów z obecnością allelu T genu VDR stwierdzano 2 do 3-krotnie większy wzrost ryzyka złamania kręgosłupa [72].

Tkanka kostna jest bardzo aktywna metabolicznie. Przez cały okres życia zachodzą w niej procesy syntezy i resorpcji kości. Mechanizm kontrolujący te procesy nie jest w pełni poznany, wiadomo jednak, iż ważnymi elementami regulującymi są cytokiny, takie jak: TGF beta (*transforming growth factor beta*), TNF alfa (*tumor necrosis factor alfa*), IL-1, IL-6. Bezpośrednio lub pośrednio, w wyniku wpływu na inne cytokiny, oddziałują one na osteoblasty i osteoclasty [96].

Przypuszcza się, iż w mechanizmie osteodystrofii prawdopodobnie bierze też udział IGF-1 (określany też jako somatomedyna). IGF-1 jest produkowany przez wątrobę pod wpływem stymulacji przez hormon wzrostu oraz insulinę. IGF-1 pobudza osteoblasty do proliferacji i różnicowania [34, 58, 59]. Stwierdzono, iż chorzy z marskością wątroby i osteoporozą cechowali się znacząco niższym stężeniem IGF-1 w surowicy krwi niż chorzy z marskością wątroby, ale bez osteoporozy, a także wyższym niż pacjenci bez choroby wątroby i bez osteoporozy [34, 60, 61]. W zwierzęcych modelach doświadczalnych, podając szczurom z osteodystrofią wątrobową IGF-1, uzyskiwano wzrost masy kostnej i gęstości mineralnej kości. Wyniki tych badań sugerują, iż IGF-1 pełni istotną rolę w mechanizmie rozwoju osteodystrofii wątrobowej u ludzi [62, 63].

Hipogonadyzm jest znanym czynnikiem etiologicznym rozwoju osteoporozy. W przebiegu przewlekłych chorób wątroby dochodzi do hipogonadyzmu na drodze redukcji podwzgórzowego uwalniania gonadotropin, jak i bezpośredniego oddziaływania na gonady [34, 48]. Efektem hipogonadyzmu jest obniżenie się poziomu estrogenu, co może

doprowadzić do szybszego rozwoju osteoporozy zarówno u kobiet, jak i u mężczyzn z przewlekłą chorobą wątroby. U mężczyzn konsekwencją hipogonadyzmu jest spadek poziomu testosteronu, ponieważ jednak testosteron jest metabolizowany do estrogenu, dlatego u mężczyzn dochodzi do obniżenia poziomu tego hormonu. W badaniach histomorfometrycznych kości mężczyzn z marskością poalkoholową stwierdzono pogorszenie syntezy kości i nasilenie resorpcji, co korelowało z obniżonym poziomem testosteronu [73].

Nadmierne odkładanie żelaza w tkankach jest charakterystyczne dla wielu chorób wątroby. Dochodzi do niego w hemochromatozie, chorobie genetycznie uwarunkowanej, w której jednym z uszkodzonych narządów jest wątroba. Może także występować w alkoholowym uszkodzeniu wątroby, niealkoholowym tłuszczowym zapaleniu wątroby (NASH, *nonalcoholic steatohepatitis*) i pzwz-C. Niekorzystny wpływ żelaza na kości jest głównie związany z hipogonadyzmem, do którego dochodzi na drodze dwóch mechanizmów. W wyniku odkładania się złogów hemosyderyny w przednim płacie przysadki spada wydzielanie hormonów tropowych, w tym FSH i LH, czego następstwem jest zanik gonad. Ponadto gonady są uszkodzane w wyniku bezpośredniego odkładania w nich żelaza [66, 67].

Do hipotetycznych czynników biorących udział w rozwoju osteodystrofii wątrobowej należy osteoprotegeryna (OPG), określana też jako OCIF (*osteoclastogenesis inhibitory factor*, czyli czynnik hamujący rozwój osteoklastów) lub TR1 (*TNF receptor-like molecule*, czyli molekula wykazująca podobieństwo do receptora TNF). Związek ten jest produkowany przez wątrobę, hamuje aktywność i różnicowanie osteoklastów zarówno *in vitro*, jak i *in vivo*. Myszy z defektem genów regulujących syntezę OPG cechowały się szybkim rozwojem osteoporozy i występowaniem licznych złamań kości, natomiast myszy z nadmierną ekspresją OPG cechowały się wzrostem gęstości

mineralnej kości i ciężką osteopetrozą, wynikającą z nadmiernego hamowania różnicowania i aktywności osteoklastów [64, 65]. Przewlekła choroba wątroby może hipotetycznie doprowadzić, poprzez obniżenie się poziomu OPG we krwi, do nadmiernej aktywacji osteoklastów i w konsekwencji do wzmożonej resorpcji kości [34].

Kolejnymi czynnikami przyczyniającymi się do osteodystrofii są zmniejszone przyjmowanie pokarmów oraz unieruchomienie. Dotyczy to głównie pacjentów w zaawansowanej fazie choroby, przeważnie w okresie marskości, zwłaszcza niewyrównanej. Unieruchomienie jest przeważnie związane z dużym stopniem wodobrzuszu, utrudniającym poruszanie się pacjentów. Z doświadczeń własnych wynika, iż często chorzy o przeciętnej wadze około 70 kg przed rozwojem pzwz-C, w fazie marskości wątroby z obecnością rozwiniętego wodobrzusza mogą ważyć nawet 100 kilogramów, z obwodem brzucha sięgającym 100-110 cm, przy czym jest to przyrost wagi związany wyłącznie z wodobrzuszem. Łatwo uświadomić sobie trudności, jakie mają ci chorzy z porannym wstawaniem z łóżka, ze zmianą pozycji w pozycji leżącej lub z chodzeniem [39].

W związku z coraz to lepszą dostępnością do transplantacji wątroby, jako metody leczenia niewydolności tego narządu, ważnym problemem stały się zaburzenia pozabiegowe gęstości mineralnej kości. Największy spadek jest obserwowany w pierwszych 6 miesiącach po przeszczepie narządu. W ciągu pierwszych 24 miesięcy po przeszczepie stwierdza się wzrost poziomu osteokalcyny oraz prokolagenu, co świadczy o nasilonej syntezie kostnej. Jednocześnie stwierdza się też wzrost telopeptydu, markera resorpcji kości. Wydaje się więc, iż osteoporoza pojawiająca się lub też nasilająca się po przeszczepie jest osteoporozą z wysokim obrotem kostnym, z przewagą resorpcji [39]. Przyczyna takiego uszkodzenia układu kostnego może być związana z leczeniem wdrażanym po transplantacji. Do przeszczepu kwalifikowani są pacjenci z marskością

wątroby i wyżej wymienione czynniki są już obecne przed transplantacją. Innym, ważnym czynnikiem, pojawiającym się po przeszczepie wątroby, jest leczenie immunosupresyjne. Wykazano związek pomiędzy dawką leków immunosupresyjnych a poziomem markerów metabolizmu kostnego [39]. Trautwein i wsp. stwierdzili, iż wraz ze wzrostem dawki glikokortykosteroidów wzrasta poziom telopeptydu. Utrata masy kostnej zachodzi najszybciej w trakcie pierwszych 12 miesięcy terapii prednizonem, zazwyczaj podawanego w dawce powyżej 7,5 mg na dobę. Zauważono ponadto, iż utrata masy kostnej jest większa u chorych z PBC lub PSC niż u tych chorych, u których do przeszczepu doszło w przebiegu pwzw. Większość badań oceniających utratę masy kostnej u pacjentów po transplantacji trwała 24 miesiące. Po tym okresie, w końcowym punkcie obserwacji, gęstość mineralna kości była niższa u pacjentów z PBC lub PSC niż z pwzw. Brak jest pewnego wytłumaczenia tego zjawiska, być może ma to związek z częstszym występowaniem PBC u kobiet, stąd duża grupa pacjentek w okresie pomenopauzalnym może stanowić istotny czynnik wpływający na wyniki porównania z grupą chorych na pwzw [39]. Obniżenie BMD po przeszczepie wątroby wykazał także Meys i wsp., natomiast McDonald i wsp. stwierdzili w swojej pracy, iż BMD obniża się po transplantacji, ale po około roku zaczyna narastać [75, 76, 77]. Według opracowania Rouillarda i wsp., do spadku masy kostnej dochodzi w krótszym okresie od 3 do 6 miesięcy po przeszczepie, a w ciągu następnych 12 miesięcy nie obserwuje się już dalszego spadku, a u części pacjentów gęstość mineralna kości wzrasta. Pierwsze miesiące po transplantacji wiążą się ze wzmożonym ryzykiem atraumatycznych złamań kręgosłupa, częstotliwość tych złamań szacuje się nawet na 30 %. Najwyższym ryzykiem złamań cechują się pacjenci z już obecnym niskim BMD przed przeszczepem. Dotyczy to głównie pacjentów z prawidłowo funkcjonującą wątrobą [34, 45, 49]. Potwierdza to rolę wątroby w osteodystrofii wątrobowej. Jak ważna jest ta rola ukazuje fakt, iż dochodzi do

wzrostu gęstości kostnej, pomimo wciąż obecnego leczenia immunosupresyjnego, a decydującym czynnikiem jest tu dobrze funkcjonująca, przeszczepiona wątroba. W związku z powyższymi doniesieniami, niezbędne jest wdrożenie odpowiedniego postępowania terapeutycznego jeszcze przed planowaną transplantacją, gdyż spadek masy kostnej po przeszczepie jest bezsprzeczny. Niezbędne wydają się być dalsze badania, celem pełnego wyjaśnienia zarówno etiologii obniżenia BMD, jak i oceny BMD w dłuższym okresie, po dalszych latach od transplantacji wątroby.

Podsumowując wyniki niniejszego badania, należy zwrócić uwagę na fakt, iż brak jest w literaturze doniesień na temat badań, które oceniałyby parametry gospodarki wapniowo-fosforanowej na dużej grupie pacjentów z pzw-C. Badania oceniające tą gospodarkę u pacjentów z przewlekłą chorobą wątroby dotyczyły patologii wątroby o różnej etiologii. W kilku badaniach autorzy skupiali się tylko na wzw, zawsze jednak były to grupy pacjentów zarówno z wzw typu B, jak i wzw typu C. Ponadto w dostępnych internetowych bazach medycznych górna granica wieku w tych badaniach wahała się pomiędzy 60 a 79 rokiem życia; jedynie w badaniu Steinberga i wsp. najstarszy pacjent miał 52 lata [104].

W badaniach nad osteodystrofią wątrobową niezbędne jest zwrócenie uwagi na wiek pacjentów, aby uniknąć jego negatywnego wpływu na tkankę kostną. U osób po 50 roku życia nasilają się procesy resorpcyjne kości, przy czym ma to miejsce w różnym stopniu u różnych pacjentów. Można więc sądzić, iż wiek może być istotnym czynnikiem fałszującym wyniki badań nad osteodystrofią wątrobową.

6. Wnioski

1. Poziom podstawowych parametrów gospodarki wapniowo-fosforanowej człowieka, to jest wapnia i fosforu w surowicy krwi, jest niższy u chorych na pwzw-C, w porównaniu do grupy kontrolnej, natomiast stężenie 25(OH)D₃ w surowicy krwi jest wyższe u chorych z pwzw-C w porównaniu do grupy kontrolnej.
2. Chorzy z pwzw-C cechują się gorszymi parametrami gospodarki wapniowo-fosforanowej niż osoby bez tej infekcji, lecz zmiany te nie są na tyle duże, aby wymagały wprowadzania profilaktycznej farmakoterapii. Współistnienie u osoby z infekcją HCV innego czynnika lub schorzenia, które negatywnie wpływa na gospodarkę wapniowo-fosforanową, wskazuje na potrzebę dalszej obserwacji chorego w tym zakresie.
3. 48-tygodniowa terapia przeciwwirusowa interferonem alfa z rybawiryną nie wpływa negatywnie na stan gospodarki wapniowo-fosforanowej u chorych z pwzw-C.

7. Wykaz skrótów

W kolejności alfabetycznej:

ALT - aminotransferaza alaninowa

AST – aminotransferaza asparaginianowa

b-ALP - frakcja kostna fosfatazy alkalicznej

BMD - *bone mineral density* (gęstość mineralna kości)

BRU – *bone remodeling unit* (jednostka przebudowy kości)

CTX - C-końcowy usieciowany telopeptyd łańcucha alfa kolagenu typu I

DBP - *vitamin D binding protein* (białko wiążące witaminę D)

DPD - dezokyspirydynolina

ELISA - *enzyme linked immunosorbent assay* (test immunoenzymatyczny)

GGTP - gammaglutamylotranspeptydaza

HBV - *hepatitis B virus* (wirus zapalenia wątroby typu B)

HCV - *hepatitis C virus* (wirus zapalenia wątroby typu C)

HIV – *human immunodeficiency virus* (ludzki wirus nabytego niedoboru odporności)

IFN - interferon

IGF-1 - *insulin growth factor-1* (insulinopodobny czynnik wzrostowy-1)

IL-1 – interleukina 1

IL-2 – interleukina 2

IL-6 – interleukina 6

i-PTH – *intact parathormon* (natywny parathormon)

LDH – dehydrogenaza mleczanowa

NTX- N-końcowy usieciowany telopeptyd łańcucha alfa kolagenu typu I

OC - osteokalcyna

OHP - hydroksyprolina

OPG – osteoprotegeryna

PBC – *primary biliary cirrhosis* (pierwotna żółciowa marskość wątroby)

PCR - *polymerase chain reaction* (reakcja łańcuchowa polimerazy)

PEG – glikol polietylenowy

PSC – *primary sclerosing cholangitis* (pierwotne zwłókniające zapalenie dróg żółciowych)

PTH - parathormon

PYD - pirydynolina

pwzw - przewlekłe wirusowe zapalenie wątroby

pwzw-C - przewlekłe wirusowe zapalenie wątroby typu C

RT-PCR - *reverse transcription polymerase chain reaction* (reakcja PCR z użyciem odwrotnej transkryptazy)

RBV - rybawiryna

TNF alfa - *tumor necrosis factor alfa* (czynnik martwicy nowotworu)

TRAP-b - izoenzym b winianioopornej fosfatazy kwaśnej

VDR - *vitamin D receptor* (receptor witaminy D)

wzw-C - wirusowe zapalenie wątroby typu C

8. Piśmiennictwo

1. Juszczak J.: Wirusowe zapalenie wątroby typu C. [w:] Wirusowe zapalenia wątroby. red. Dziubek Z. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa, 2000, 277-287.
2. Zakim D., Boyer T.D., Wright T.L., Manns M.P.: Zakim and Boyer's Hepatology. Fifth Edition. Saunders Elsevier, Philadelphia, 2006.
3. Sleisenger M.H., Feldman M., Friedman L.S., Brandt L.J.: Sleisenger & Fordtrans's Gastrointestinal And Liver Disease. Eighth Edition. Saunders Elsevier, Philadelphia, 2006.
4. Liang T.J., Rehermann B., Seeff L.B. et al.: Pathogenesis, natural history, treatment and prevention of hepatitis C. *Ann. Intern. Med.* 2000, 132, 296-305.
5. Larson A.M., Carithers R.L.: Hepatitis C in clinical practice. *J. Intern. Med.* 2001, 249, 111-120.
6. Gładysz A., Rotter K., Mikołajewska I.: Przewlekłe wirusowe zapalenia wątroby – problem nadal aktualny. *Medical update Przewlekłe zapalenie wątroby* 2001. 2002, 1, 5-7.
7. Koike K., Kyoji M., Kimura S.: Role of hepatitis C virus in the development of hepatocellular carcinoma: transgenic approach to viral hepatocarcinogenesis. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 2002, 17, 394-400.
8. Gładysz A., Piszko P., Ingot M.: Leczenie skojarzone przewlekłego wirusowego zapalenia wątroby typu C.. *Medical update Przewlekłe zapalenie wątroby* 2000. 2001, 1, 5-7.

9. McHutchison J.G., Bacon B.R.: Chronic hepatitis C: an age wave of disease burden. *Am. J. Manag. Care.* 2005, 11, 286-95.
10. Naumov N.V.: Hepatitis C virus infection in Eastern Europe. *J. Hepatol.* 1999, 31, 1, 84-87.
11. Marcelin P.: Hepatitis C: the clinical spectrum of the disease. *J. Hepatol.* 1999, 31, 1, 9-16.
12. Memon M.I., Memon A.M.: Hepatitis C: an epidemiological review. *J. Viral Hepatitis.* 2002, 9, 84-100.
13. Di Bisceglie A.M.: Hepatitis C. *Lancet* 1998, 351, 351-355.
14. Moyer L.A., Mast E.E., Alter M.J.: Hepatitis C: part I. Routine serologic testing and diagnosis. *Am. Fam. Physician.* 1999, 59, 79-88.
15. Weiner A.J., Thaler M.M., Crawford K. et al.: A unique, predominant hepatitis C virus variant found in an infant born to a mother with multiple variants. *J. Virol.* 1993, 67, 4365-4368.
16. Wejstal R., Hermodsson S., Iwarson S. et al.: Mother to infant transmission of hepatitis C virus infection. *J. Med. Virol.* 1990, 30, 178-180.
17. Nagata I., Shiraki K., Tanimoto K. et al.: Mother to infant transmission of hepatitis C virus. *J. Pediatr.* 1992, 120, 432-434.
18. Ogasawara S., Kage M., Kosai K. et al.: Hepatitis C virus RNA in saliva and breastmilk of hepatitis C carrier mothers. *Lancet* 1993, 341, 561.
19. Juszczak J.: Hepatitis C – Vademecum diagnostyki i leczenia przeciwwirusowego. Termedia Wydawnictwa Medyczne, Poznań 2003.
20. Afdhal N.H.: The natural history of hepatitis C. *Sem. Liv. Dis.* 2004, 24, 3-8.
21. Shiffman M. et al.: Natural history of chronic hepatitis C (CHC) in patients with persistently normal ALT levels in the multinational peginterferon alfa-2a (40 KD)

- (PEGASYS) plus ribavirin (COPEGUS) study: comparison of baseline histology with baseline data from patients with elevated ALT levels enrolled in phase III studies. *Hepatology* 2004, 40, 397.
22. Prati D. et al: How normal are normal alanine aminotransferase (ALT) levels in patients with chronic hepatitis C (CHC)? Data from the randomized, multinational peginterferon alfa-2a (40 KD) (PEGASYS) plus ribavirin (COPEGUS) trial in patients with persistently 'normal' ALT levels. *Hepatology* 2004, 40, 395.
 23. Strader D.B., Wright T., Thomas D.L. et al: Diagnosis, management and treatment of hepatitis C. *Hepatology* 2004, 39, 1147-1171.
 24. Ferreira-Gonzalez A., Shiffman M.L.: Use of diagnostic testing for managing hepatitis C virus infection. *Sem. Liv. Dis.* 2004, 24, 9-18.
 25. Cielecka-Kuszyk J., Pawłowska J.: Badanie histopatologiczne w przewlekłym wirusowym zapaleniu wątroby: klasyfikacja, określenie stopnia aktywności zmian zapalnych i włóknienia. *Hepatologia Polska* 1997, 4, 37-41.
 26. Mizukoshi E., Rehermann B.: Immune responses and immunity in hepatitis C virus infection. *J. Gastroenterol.* 2001, 36, 799-808.
 27. Freeman A.J., Marinos G., French R.A. et al.: Immunopathogenesis of hepatitis C virus infection. *Immunol. Cell Biol.* 2001, 79, 515-536.
 28. Fried M.W., Hadziyannis M.D.: Treatment of chronic hepatitis C infection with peginterferons plus ribavirin. *Sem. Liv. Dis.* 2004, 24, 47-54.
 29. Dembińska-Kieć A., Naskalski J. (red.): Diagnostyka laboratoryjna z elementami biochemii klinicznej. Urban&Partner, Wrocław, 2002.
 30. Karczmarewicz E.: Wartość diagnostyczna markerów obrotu kostnego – uzgodnienia 2000. [w] : Diagnostyka osteoporozy 2000. red R.S. Lorenc. Osteoforum Warszawa, 2000.

31. Karczmarewicz E.: Biochemiczne markery obrotu kostnego. [w]: Osteoporoza, poradnik dla lekarzy. Red. R.S. Lorenc, W.P. Olszyński. Osteoforum Warszawa, 2004.
32. Bushinsky D.A., Monk R.D.: Calcium. *Lancet* 1998, 352, 306-11.
33. Tomaszewski J.J.: Diagnostyka laboratoryjna. Wydawnictwo Lekarskie PZWL. Warszawa, 1993.
34. Rouillard S., Lane N.E.: Hepatic osteodystrophy. *Hepatology* 2001, 33, 301-307.
35. MacCaughan G.W., Feller R.B.: Osteoporosis in chronic liver disease: pathogenesis, risk factors and management. *Dig. Dis.* 1994, 12, 223-231.
36. Duarte M.P.C., Farias M.L.F., Coelho H.S.M. et al.: Calcium-parathyroid hormone-vitamin D axis and metabolic bone disease in chronic viral liver disease. *J. Gastroenterol.* 2001, 16, 1022-1027.
37. Crosbie O.M., Freaney R., McKenna M.J. et al.: Bone density, vitamin D status and disordered bone remodeling in end-stage chronic liver disease. *Calcif. Tissue. Int.* 1999, 64, 295-300.
38. Tsuneoka K., Tameda Y., Takase K. et al.: Osteodystrophy in patients with chronic hepatitis and liver cirrhosis. *J. Gastroenterol.* 1996, 31, 669-678.
39. Trautwein C., Possienke M., Schlitt H.J. et al.: Bone density and metabolism in patients with viral hepatitis and cholestatic liver diseases before and after liver transplantation. *Am. J. Gastroenterol.* 2000, 95, 2343-2351.
40. Matloff D.S., Kaplan M.M., Neer R.M. et al.: Osteoporosis in primary biliary cirrhosis: effects of 25-hydroxyvitamin D₃ treatment. *Gastroenterology* 1982, 83, 97-102.

41. Herlong H.F., Recker R.R., Maddrey W.C.: Bone disease in primary biliary cirrhosis: histologic features and response to 25-hydroxyvitamin D. *Gastroenterology* 1982, 83, 103-108.
42. Hay J.E., Lindor K.D., Wiesner R.H. et al.: The metabolic bone disease of primary sclerosing cholangitis. *Hepatology* 1991, 14, 257-261.
43. Hodgson S.F., Dickson E.R., Wahner H.W. et al.: Bone loss and reduced osteoblast function in primary biliary cirrhosis. *Ann. Intern. Med.* 1985, 103, 855-860.
44. Hay J.E.: Bone disease in cholestatic liver disease. *Gastroenterology* 1995, 108, 276-283.
45. Adler RA, Rosen CJ: Glucocorticoids and osteoporosis. *Endocrinol. Metab. Clin. North Am.* 1994, 23, 641-654.
46. Solis-Herruzo J.A., Castellano G., Fernandez I. et al.: Decreased bone mineral density after therapy with alpha interferon in combination with ribavirin for chronic hepatitis C. *J. Hepatol.* 2000, 33, 812-817.
47. Framarin L., Avataneo T., Salzedo E. et al.: Vertebral osteopenia due to bone marrow hyperplasia during interferon-alpha and ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *Dig. Liver Dis.* 2003, 35, 732-734.
48. Bell H, Raknerud N, Falch J.A. et al.: Inappropriately low levels of gonadotrophins in amenorrhoeic women with alcoholic and non-alcoholic cirrhosis. *Eur. J. Endocrinol.* 1995, 132, 444-449.
49. Sylvester F.A.: Bone abnormalities in gastrointestinal and hepatic disease. *Cur. Op. Pediatr.* 1999, 11, 402-407.

50. Guanabens N., Pares A., Marinoso L. et al.: Factors influencing the development of metabolic bone disease in primary biliary cirrhosis. *Am. J. Gastroenterol.* 1990, 85, 1356-1362.
51. Stellon A.J., Webb A., Compston J. et al.: Low bone turnover state in primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 1987, 7, 137-142.
52. Eastell R., Dickson E.R., Hodgson S.F.: Rates of vertebral bone loss before and after liver transplantation in women with primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 1991, 14, 296-300.
53. Heubi J.E., Higgins J.V., Argao E.A. et al.: The role of magnesium in the pathogenesis of bone disease in childhood cholestatic liver disease: a preliminary report. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 1997, 25, 301-306.
54. Karan M.A., Nilgün E., Tascioglu C. et al.: Osteodystrophy in posthepatic cirrhosis. *Yonsei Med. J.* 2001, 42, 547-552.
55. Bonkovsky H.L., Hawkins M., Steinberg K. et al: Prevalence and prediction of osteopenia in chronic liver disease. *Hepatology* 1990, 12, 273-280.
56. Heaney R.P.: The bone-remodeling transient: implications for the interpretation of clinical studies of bone mass change. *J. Bone Miner. Res.* 1994, 9, 1515-1523.
57. Janes C.H, Dickson E.R., Okazaki R. et al.: Role of the hyperbilirubinemia in the impairment of osteoblast proliferation associated with cholestatic jaundice. *J. Clin. Invest.* 1995, 95, 2581-2586.
58. Sloopweg M.C, Hoogerbrugge C.M., de Poorter T.L. et al.: The presence of classical insulin-like growth factor (IGF) type-I and -II receptors on mouse osteoblasts: autocrine/paracrine growth effect of IGFs. *J. Endocrinol.* 1990, 125, 271-277.

59. Ohlsson C., Bengtsson B.A., Isaksson O.L.P. et al.: Growth hormone and bone. *Endocr. Rev.* 1998, 19, 55-79.
60. Hattori N., Kurahachi H., Ikekubo K. et al.: Serum growth hormone-binding protein, insulin-like growth factor-I, and growth hormone in patients with liver cirrhosis. *Metabolism* 1992, 41, 377-381.
61. Gallego-Rojo F.J., Gonzalez-Calvin J.L., Munoz-Torres M. et al.: Bone mineral density, serum insulin-like growth factor I, and bone turnover markers in viral cirrhosis. *Hepatology* 1998, 28, 695-699.
62. Cemborain A., Castilla-Cortazar I., Garcia M. et al.: Osteopenia in rats with liver cirrhosis: beneficial effects of IGF-I treatment. *J. Hepatol.* 1998, 28, 122-131.
63. Cemborain A., Castilla-Cortazar I., Garcia M. et al.: Effects of IGF-I treatment on osteopenia in rats with advanced liver cirrhosis. *J. Physiol. Biochem.* 2000, 56, 91-99.
64. Mina H., Moronyb S., Sarosib I., et al.: Osteoprotegerin reverses osteoporosis by inhibiting endosteal osteoclasts and prevents vascular calcification by blocking a process resembling osteoclastogenesis. *J. Exp. Med.* 2000, 192, 463-474.
65. Bucay N., Sarosi I., Dunstan C.R. et. al.: Osteoprotegerin-deficient mice develop early onset osteoporosis and arterial calcification. *Genes. Dev.* 1998, 12, 1260-1268.
66. Czepiel J., Biesiada G., Mach T.: Hemochromatoza - patogeneza i leczenie. *Nowa Klinika* 2003, 10, 65-69.
67. Cibor D., Ciećko-Michalska I., Mach T.: Hemochromatoza - opis dwóch przypadków. *Przegl. Lek.* 2000, 57, 358-361.

68. Corazza G.R., Trevisani F., Di Stefano M. i wsp.: Early increase of bone resorption in patients with liver cirrhosis secondary to viral hepatitis. *Dig. Dis. Sci.* 2000, 45, 1392-1399.
69. Imawari M., Akanuma Y., Itakura H. i wsp.: The effects of disease of the liver on serum 25-hydroxyvitamin D and on the serum binding protein for vitamin D and its metabolites. *J. Lab. Clin. Med.* 1979, 93, 171-180.
70. Bellamy R., Ruwende C., Corrah T. i wsp.: Tuberculosis and chronic hepatitis B virus infection in Africans and variation in the vitamin D receptor gene. *J. Inf. Dis.* 1999, 179, 721-724.
71. Eisman J.A.: Vitamin D receptor gene variants: implications for therapy. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 1996, 6, 361-365.
72. Springer J.E., Cole D.E.C., Rubin L.A. i wsp.: Vitamin-D receptor genotypes as independent genetic predictors of decreased bone mineral density in primary biliary cirrhosis. *Gastroenterology* 2000, 1118, 145-151.
73. Chappard D., Plantard B., Fraisse H. i wsp.: Bone changes in alcoholic cirrhosis of the liver. A histomorphometric study. *Pathol. Res. Pract.* 1989, 18, 480-485.
74. Miki T., Yoshida H., Shioi A. i wsp.: Effect of interferon alpha on calcium and bone metabolism in patients with chronic hepatitis. *J. Bone. Miner. Metab.* 1993, 11, 39-44.
75. Shiomi S., Masaki K., Habu D. i wsp.: Calcitriol for bone disease in patients with cirrhosis of the liver. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 1999, 14, 547-552.
76. Meys E., Fontanges E., Fourcade N. i wsp.: Bone loss after liver transplantation. *Am. J. Med.* 1994, 97, 445-450.
77. McDonald J.A., Dunstan C.R., Dilworth P. i wsp.: Bone loss after liver transplantation *Hepatology* 1991, 14, 613-619.

78. Anyszek T: Analityczne aspekty oznaczania wapnia w diagnostyce klinicznej. *Badanie i Diagnoza* 1998, 4, 17-20.
79. Solnica B., Naskalski J.: Znaczenie diagnostyczne hiperkalcemii. *Badanie i Diagnoza* 2005, 11, 25-28.
80. Małek A.: Elektrody membranowe: jonoselektywna elektroda wapniowa. *Badanie i Diagnoza* 1998, 4, 20-23.
81. Jerome K.R., Gretch D.R.: Laboratory approaches to the diagnosis of hepatitis C virus infection. *Minerva. Gastroenterol. Dietol.* 2004, 50, 9-20.
82. Alberti A., Vario A., Ferrari A., et al.: Review article: chronic hepatitis C-natural history and cofactors. *Aliment Pharmacol Ther.* 2005, 22, 74-8.
83. D'Souza R., Foster G.R.: Diagnosis and treatment of hepatitis C. *J. R. Soc. Med.* 2004, 97, 223-5.
84. Kim A.I., Saab S.: Treatment of hepatitis C. *Am. J. Med.* 2005, 118, 808-15.
85. Heathcote J., Main J.: Treatment of hepatitis C. *J. Viral. Hepat.* 2005, 12, 223-35.
86. Abonyi M.E., Lakatos P.L.: Ribavirin in the treatment of hepatitis C. *Anticancer Res.* 2005, 25, 1315-20.
87. Shepard C.W., Finelli L., Alter M.J.: Global epidemiology of hepatitis C virus infection. *Lancet Infect. Dis.* 2005, 5, 558-67.
88. Bellentani S., Miglioli L., Bedogni G.: Epidemiology of hepatitis C virus infection. *Minerva Gastroenterol. Dietol.* 2005, 51, 15-29.
89. Kohla M., Bonacini M.: Pathogenesis of hepatitis C virus infection. *Minerva Gastroenterol. Dietol.* 2006, 52, 107-23.
90. Herrine S.K., Rossi S., Navarro V.J.: Management of patients with chronic hepatitis C infection. *Clin. Exp. Med.* 2006, 6, 20-6.

91. Sterling R.K., Bralow S.: Extrahepatic manifestations of hepatitis C virus. *Curr. Gastroenterol. Rep.* 2006, 8, 53-9.
92. Rizzetto M.: Therapy for chronic hepatitis C. Present status. *Minerva Gastroenterol. Dietol.* 2000, 46, 81-6.
93. Vento S., Nobili V., Cainelli F.: Clinical course of infection with hepatitis C. *BMJ* 2006, 18, 374-5.
94. Batts K.P., Ludwig J.: Chronic hepatitis. An update on terminology and reporting. *Am. J. Surg. Pathol.* 1995, 19, 1409-1417.
95. Urganci N., Gulec S.G., Arapoglu M. et al.: The effect of ribavirin on bone density in patients with chronic hepatitis C treated with interferon-ribavirin therapy. *J Ped. Gastroenterol. Nutr.* 2005, 41, 650-652.
96. van der Merwe S.W., Attfield D., Fevery J. et al.: Hepatic osteodystrophy: the influence of liver disease and portal hypertension on cytokine activation. *Med. Hypot.* 2000, 54, 842-845.
97. Buczkowska-Otto E.: Homeostaza gospodarki fosforanowo-wapniowej w populacji rozwojowej. Część I: Mechanizmy regulacji homeostazy w warunkach zdrowia. *Endokrynologia, Diabetologia i Choroby Przemiany Materii Wieku Rozwojowego.* 2002, 8, 97-103.
98. Saracco G., Olivero A., Ciancio S. et al.: Therapy of chronic hepatitis C: a critical review. *Cur. Drug Targ. – Inf. Dis.* 2003, 3, 25-32.
99. Freeman A.J., Law M.G., Kaldor J.M. et al.: Predicting to cirrhosis in chronic hepatitis C virus infection. *J. Vir. Hepatitis.* 2003, 10, 285-293.
100. Poynard T., Yuen M., Ratzin V. et al.: Viral hepatitis C. *Lancet* 2003, 362, 2095-100.
101. Zaman A., Fennerty M.B., Keeffe E.B.: Systemic review: peginterferon vs

- standard interferon in the treatment of chronic hepatitis C. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2003, 18, 661-670.
102. Lake-Bakaar G.: Current and future therapy for chronic hepatitis C virus liver disease. *Cur. Drug Targ. – Inf. Dis.* 2003, 3, 247-253.
103. Kalef-Ezra J.A., Merkouropoulos M.H., Challa A. et al.: Amount and composition of bone minerals in chronic liver disease. *Dig. Dis. Sci.* 1996, 41, 1008-1013.
104. Steinberg K.K., Bonkovsky H.L., Caudill S.P. et al.: Osteocalcin and bone alkaline phosphatase in the serum of women with liver disease. *Ann. Clin. Lab. Sci.* 1991, 21, 305-314.
105. Manns M.P., Wedemeyer H., Cornberg M.: Treating viral hepatitis C: efficacy, side effects, and complications. *Gut.* 2006, 55, 1350-9.
106. Prati D.: Transmission of hepatitis C virus by blood transfusions and other medical procedures: a global review. *J. Hepatol.* 2006, 45, 607-16.
107. Stribling R., Sussman N., Vierling J.M.: Treatment of hepatitis C infection. *Gastroenterol. Clin. North. Am.* 2006, 35, 463-86.

9. Streszczenie w języku polskim

Wirusowe zapalenie wątroby typu C (wzw-C) jest powodowane przez wirusa HCV. Według danych WHO 3 % populacji na świecie (około 170 milionów osób) jest zakażonych tym wirusem, w Polsce powyżej 700 tysięcy. W ponad 70 % przypadków ostra faza infekcji przebiega bezobjawowo. U 80 % chorych dochodzi do przejścia zakażenia w proces przewlekły, który po latach może prowadzić do marskości wątroby. Podstawowymi testami diagnostycznymi w rozpoznaniu zakażenia HCV są oznaczenie przeciwciał anti-HCV metodą ELISA i badanie materiału genetycznego wirusa (HCV-RNA) metodą RT-PCR. Leczenie przewlekłego wirusowego zapalenia wątroby typu C (pwzw-C) polega na podawaniu pegylowanego interferonu alfa₂ z rybawiryną, a skuteczność tej terapii wynosi u chorych z genotypem HCV 2 i 3 do 78 %, zaś do 55 % u chorych zakażonych genotypem 1.

Ilość wapnia i fosforu w organizmie człowieka zależy od podaży w diecie i jest regulowana przez wapniowe receptory w jelicie cienkim oraz przez szereg czynników hormonalnych, np.: 1,25(OH)₂D₃, parathormon (PTH), kalcytoninę, estrogeny. Witamina D₃ podlega procesom hydroksylacji w komórkach wątrobowych i następnie w kanalikach nerkowych, a powstający 1,25(OH)₂D₃ jest jej aktywną formą. PTH, syntetyzowany w przytarczycach, działa bezpośrednio na nerki i kości, pośrednio zaś na przewód pokarmowy, czego efektem jest wzrost stężenia wapnia i fosforanów w surowicy. W ostatnich latach wzrasta rola markerów obrotu kostnego w diagnostyce i leczeniu uszkodzeń układu kostnego. C-końcowy usieciowany telopeptyd łańcucha alfa kolagenu typu I (CTX) jest markerem uwalnianym w trakcie procesu resorpcji kości.

Osteodystrofia jest częstym powikłaniem przewlekłych chorób wątroby. Dochodzi do niej zarówno w chorobach miększu wątroby, jak i zespołach cholestazy.

Celem pracy była ocena parametrów gospodarki wapniowo-fosforanowej u chorych z pwzw-C w porównaniu z osobami bez tej infekcji oraz ocena wpływu 48-

tygodniowego leczenia interferonem alfa z rybawiryną na stan gospodarki wapniowo-fosforanowej u chorych z pwzw-C. Badania przeprowadzono u 150 osób w wieku od 20 do 50 roku życia z pwzw-C (grupa pierwsza, 100 osób) i bez patologii wątroby (grupa druga – kontrolna, 50 osób). Grupy pacjentów zostały tak dobrane, aby wyeliminować inne czynniki mogące wpłynąć na stan gospodarki wapniowo-fosforanowej. Z grupy pierwszej (pwzw-C), wyodrębniono 25 chorych, którzy byli leczeni interferonem alfa i rybawiryną przez 48 tygodni. U tych chorych oceniano parametry dwukrotnie - przed i po terapii. Wszyscy pacjenci mieli oznaczane w surowicy krwi: stężenie wapnia całkowitego, wapnia zjonizowanego, fosforu nieorganicznego, fosfatazy kwaśnej, 25(OH)D₃, i-PTH, CTX. Ponadto oznaczano ALT, AST, fosfatazę alkaliczną, GGTP, cholinesterazę, bilirubinę, proteinogram, wskaźnik protrombiny. Część pacjentów z pwzw-C miało wykonane badanie histopatologiczne wątroby celem oceny stopnia nasilenia aktywności procesu zapalno-martwiczego i włóknienia w wątrobie. Wyniki poddano analizie statystycznej.

Badania wykazały u chorych z pwzw-C niższe wartości podstawowych makroelementów gospodarki wapniowo-fosforanowej w porównaniu do grupy kontrolnej, czyli wapnia i fosforu, natomiast odchylenia w zakresie 25(OH)D₃ były najpewniej następstwem tych zmian. Obserwowane u chorych z pwzw-C różnice w zakresie parametrów gospodarki wapniowo-fosforanowej, zwłaszcza wapnia i fosforu, były na tyle nieduże, iż nie wydaje się, aby pacjentom z pwzw-C należało wprowadzać profilaktyczną farmakoterapię. U chorych nie zaobserwowano odchyień od wartości prawidłowych w zakresie i-PTH i fosfatazy kwaśnej, a poziom CTX we krwi nie był wyższy niż w grupie kontrolnej. Przeprowadzone badania wykazały, iż konsekwentnie dwa parametry, to znaczy INR i cholinesteraza, korelowały z parametrami wapniowo-fosforanowymi. Stwierdzono brak statystycznie istotnych zależności pomiędzy stopniem nasilenia

aktywności zapalno-martwiczej i zaawansowaniem włóknienia w wątrobie a ocenianymi parametrami gospodarki wapniowo-fosforanowej we krwi. Ponadto stwierdzono, że 48-tygodniowa terapia przeciwwirusowa interferonem alfa z rybawiryną nie wpływa niekorzystnie na stan gospodarki wapniowo-fosforanowej u chorych z pwzw-C, co posiada ważne implikacje praktyczne.

10. Streszczenie w języku angielskim

Hepatitis C is caused by HCV (hepatitis C virus). According to WHO's data approximately 3 % of world's population (around 170 milion) is infected, more than 700 thousands in Poland. In 70 % of the cases an acute phase of infection is asymptomatic.

Around 80 % of the patients develop chronic hepatitis, which can after years lead to the liver cirrhosis. The basic diagnosis of hepatitis C can be made by demonstrating the presence of anti-HCV antibodies in serum (using ELISA test) and HCV-RNA (using RT-PCR method). Interferon alpha plus ribavirin are the standard treatment of chronic hepatitis C. Effectiveness of this therapy is up to 78 % among patients with HCV genotype 2 and 3 and up to 55 % among patients with HCV genotype 1.

The amount of calcium and phosphorus in the human body depends on diet and is regulated by calcium receptors in small intestine and other hormones like: $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, parathormone, calcitonin, estrogens. Vitamin D_3 is hydroxylated first in the liver and next in the kidneys, and the result of the hydroxylations is $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, which is an active form of vitamin D_3 . PTH is synthesized in parathyroid glands, it acts directly on the kidneys and bones and indirectly on the digestive system, which leads to an increasing level of calcium and phosphorus in serum. In the last years the role of bone turnover markers in diagnosing and treatment of bone diseases is increasing. C-terminal telopeptide of type I collagen (CTX) is the marker of bone resorption.

Hepatic osteodystrophy is common side effect among patients with chronic liver diseases. It can be observed both in parenchymatous and in cholestatic liver diseases.

The aim of the study was to analyze the bone mineral metabolism status among patients with hepatitis C and compare it with patients without hepatitis C. The second aim was to evaluate the impact of 48 week lasting therapy with interferon alpha and ribavirin on the bone mineral metabolism status among patients with chronic hepatitis C. Bone mineral metabolism parameters were studied at 100 patients with chronic hepatitis C, aged 20 to 50 years old, and at 50 patients without hepatitis C. Patients had no other diseases which could impair on the bone mineral metabolism status. 25 patients with hepatitis C, who were treated with interferon alpha plus ribavirin during 48 weeks were

analyzed 2 times - before and after this therapy. All the patients were measured serum total and ionized calcium, phosphorus, acid phosphatase, 25(OH)D₃, intact parathyroid hormone (i-PTH), CTX, alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase, gamma-glutamyl transpeptidase (GGTP), cholinesterase, bilirubin, protein fraction pattern, prothrombin time. The group of the patients with hepatitis C had liver biopsy to assess the correlation between the liver inflammatory and fibrosis changes and bone mineral metabolism status.

Results of our analyses showed lower levels of serum calcium and phosphorus among patients with hepatitis C comparing to the patients without this infection, which caused increased 25(OH)D₃ level. The differences which were observed, was not so intense, that should required prophylactic pharmacotherapy. The level of i-PTH and acid phosphatase were in normal ranges and level of CTX was not increased in the group of patients with hepatitis C comparing with control group. We found correlation between INR and cholinesterase and bone mineral metabolism status. We found no correlation between liver inflammation and fibrosis and bone mineral metabolism status. Moreover we found no effect of 48-week interferon alpha plus ribavirin therapy on the bone mineral metabolism status among patients with chronic hepatitis C.

11. Wykaz rycin

- Rycina 1. Skuteczność leczenia pzw-C na przestrzeni lat.
- Rycina 2. Porównanie stężenia wapnia całkowitego w surowicy w grupie chorych z pzw-C i w grupie kontrolnej.

- Rycina 3. Porównanie stężenia wapnia zjonizowanego w surowicy w grupie chorych z pwzw-C i w grupie kontrolnej.
- Rycina 4. Porównanie stężenia fosforu w surowicy w grupie chorych z pwzw-C i w grupie kontrolnej.
- Rycina 5. Porównanie aktywności fosfatazy kwaśnej w surowicy w grupie chorych z pwzw-C i w grupie kontrolnej.
- Rycina 6. Porównanie stężenia 25(OH)D₃ w surowicy w grupie chorych z pwzw-C i w grupie kontrolnej.
- Rycina 7. Porównanie stężenia i-PTH w surowicy w grupie chorych z pwzw-C i w grupie kontrolnej.
- Rycina 8. Porównanie stężenia CTX w surowicy w grupie chorych z pwzw-C i w grupie kontrolnej.
- Rycina 9. Porównanie stężenia wapnia całkowitego w surowicy chorych z pwzw-C przed i po 48-tygodniowej terapii interferonem alfa z rybawiryną
- Rycina 10. Porównanie stężenia wapnia zjonizowanego w surowicy chorych z pwzw-C przed i po 48-tygodniowej terapii interferonem alfa z rybawiryną.
- Rycina 11. Porównanie stężenia fosforu w surowicy chorych z pwzw-C przed i po 48-tygodniowej terapii interferonem alfa z rybawiryną.
- Rycina 12. Porównanie aktywności fosfatazy kwaśnej w surowicy chorych z pwzw-C przed i po 48-tygodniowej terapii interferonem alfa z rybawiryną.
- Rycina 13. Porównanie stężenia 25(OH)D₃ w surowicy chorych z pwzw-C przed i po 48-tygodniowej terapii interferonem alfa z rybawiryną.
- Rycina 14. Porównanie stężenia i-PTH w surowicy chorych z pwzw-C przed i po 48-tygodniowej terapii interferonem alfa z rybawiryną.

- Rycina 15. Porównanie stężenia CTX w surowicy chorych z pzw-C przed i po 48-tygodniowej terapii interferonem alfa z rybawiryną.

12. Wykaz tabel

- Tabela 1. Liczba zachorowań i zapadalność na wzw-C w Polsce w latach 1998-2004.
- Tabela 2. Działania niepożądane interferonu.

- Tabela 3. Działania niepożądane rybawiryny.
- Tabela 4. Charakterystyka chorych, dla których kryteria włączenia do terapii są powszechnie akceptowane.
- Tabela 5. Charakterystyka chorych z bezwzględnymi przeciwwskazaniami do włączenia leczenia.
- Tabela 6. Charakterystyka chorych, u których decyzja o włączeniu do grupy leczonych powinna być rozpatrywana indywidualnie.
- Tabela 7. Stopień nasilenia aktywności procesu zapalno-martwiczego (G) w przestrzeniach wrotnych, okołowrotnych i na terenie zrazików w punktacji od 0 do 4 według Batts-Ludwiga.
- Tabela 8. Stopień zaawansowania włóknienia (S) w wątrobie w punktacji od 0 do 4 według Batts-Ludwiga.
- Tabela 9. Charakterystyka badanej populacji.
- Tabela 10. Porównanie poszczególnych parametrów biochemicznych w grupie chorych z pwzw-C (HCV) i w grupie kontrolnej (K).
- Tabela 11. Porównanie poszczególnych parametrów biochemicznych w grupie chorych z pwzw-C (HCV) i w grupie kontrolnej (K) u kobiet.
- Tabela 12. Porównanie poszczególnych parametrów biochemicznych w grupie chorych z pwzw-C (HCV) i w grupie kontrolnej (K), u mężczyzn.
- Tabela 13. Współzależność pomiędzy stężeniem wapnia całkowitego w surowicy krwi a wybranymi parametrami biochemicznymi u chorych z pwzw-C (współczynnik korelacji liniowej r Pearsona).
- Tabela 14. Współzależność pomiędzy stężeniem wapnia zjonizowanego w surowicy krwi a wybranymi parametrami biochemicznymi u chorych z pwzw-C (współczynnik korelacji liniowej r Pearsona).

- Tabela 15. Współzależność pomiędzy stężeniem fosforu w surowicy krwi a wybranymi parametrami biochemicznymi u chorych z pwzw-C (współczynnik korelacji liniowej r Pearsona).
- Tabela 16. Współzależność pomiędzy stężeniem fosfatazy kwaśnej w surowicy krwi a wybranymi parametrami biochemicznymi u chorych z pwzw-C (współczynnik korelacji liniowej r Pearsona).
- Tabela 17. Współzależność pomiędzy stężeniem 25(OH)D₃ w surowicy krwi a wybranymi parametrami biochemicznymi u chorych z pwzw-C (współczynnik korelacji liniowej r Pearsona).
- Tabela 18. Współzależność pomiędzy stężeniem i-PTH w surowicy krwi a wybranymi parametrami biochemicznymi u chorych z pwzw-C (współczynnik korelacji liniowej r Pearsona).
- Tabela 19. Współzależność pomiędzy stężeniem CTX w surowicy krwi a wybranymi parametrami biochemicznymi u chorych z pwzw-C (współczynnik korelacji liniowej r Pearsona).
- Tabela 20. Współzależność pomiędzy stopniem nasilenia aktywności procesu zapalno martwiczego w przestrzeniach wrotnych, okołowrotnych i na terenie zrazików wątrobowych a wybranymi parametrami biochemicznymi u chorych z pwzw-C (współczynnikiem korelacji rang Spearmana).
- Tabela 21. Współzależność pomiędzy stopniem zaawansowania włóknienia w wątrobie a wybranymi parametrami biochemicznymi u chorych z pwzw-C (współczynnikiem korelacji rang Spearmana).
- Tabela 22. Porównanie poszczególnych parametrów biochemicznych u chorych z pwzw-C przed i po 48-tygodniowej terapii interferonem alfa z rybawiryną.

- Tabela 23. Porównanie poszczególnych parametrów biochemicznych u chorych z pww-C przed i po 48-tygodniowej terapii interferonem alfa z rybawiryną u kobiet.
- Tabela 24. Porównanie poszczególnych parametrów biochemicznych u chorych z pww-C przed i po 48-tygodniowej terapii interferonem alfa z rybawiryną u mężczyzn.