

## ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ REVIEW

# Ο ρόλος των κυτταροκινών στη χρόνια ηπατίτιδα C

Η λοίμωξη από τον ιό της ηπατίτιδας C προκαλεί χρόνια νόσο περίπου στο 3% του πληθυσμού της γης και έχει ως αποτέλεσμα τη φλεγμονή και την κίρρωση του ήπατος. Επί του παρόντος δεν υπάρχει αποτελεσματική θεραπεία για όλους τους ασθενείς, ενώ δεν έχει επιτευχθεί και η δημιουργία εμβολίου. Η ανοσιακή απόκριση έναντι του ιού της ηπατίτιδας C αποτελεί αντικείμενο έρευνας, τόσο για την κατανόηση των μηχανισμών που διέπουν τη νόσο, όσο και για νέες θεραπευτικές προσεγγίσεις. Οι κυτταροκίνες αποτελούν διαλυτά μόρια ενός δικτύου επικοινωνίας μεταξύ των κυττάρων, το οποίο είναι υπεύθυνο για τη ρύθμιση της ανοσιακής απόκρισης. Αυτό το πολύπλοκο δίκτυο των κυτταροκινών αρχίζει να λειτουργεί κατά την αρχική φάση της λοίμωξης, επιτρέποντας την ανάπτυξη της φυσικής και της επίκτητης ανοσίας, και συμμετέχει όχι μόνο στον έλεγχο του ιού, αλλά και στους μηχανισμούς βλάβης του ήπατος που τελικά οδηγούν και στην κίρρωση. Η μικτή κρουσφαιριναιμία, μια από τις σημαντικότερες εξωηπατικές εκδηλώσεις της χρόνιας ηπατίτιδας C, χαρακτηρίζεται επίσης από την απορρύθμιση του δικτύου των κυτταροκινών και τη διαταραχή της ανάπτυξης των Β-λεμφοκυττάρων. Το προφίλ των κυτταροκινών της ηπατίτιδας C έχει μελετηθεί εκτεταμένα και συνεχώς εμπλουτίζεται με νέα στοιχεία. Οι ιντερφερόνες τύπου III που συμβάλλουν στην αντι-ική ανοσία, η ιντερλευκίνη 33 που αποτελεί ένα από τα νεότερα μέλη της οικογένειας της ιντερλευκίνης 1, ο νέος υπότυπος των Τ βοηθητικών λεμφοκυττάρων που παράγουν την ιντερλευκίνη 17, καθώς και ο ενεργοποιητικός παράγοντας των Β-λεμφοκυττάρων, που σχετίζεται με αυτοάνοσες εκδηλώσεις της ηπατίτιδας C, αποτελούν τμήμα των εν λόγω στοιχείων. Στην παρούσα ανασκόπηση επιχειρείται η περιγραφή των πρόσφατων δεδομένων της βασικής έρευνας, αλλά και των κλινικών μελετών, σχετικά με τις κυτταροκίνες στην ανοσιακή απόκριση ασθενών με χρόνια ηπατίτιδα C, καθώς και στην κρουσφαιριναιμία που προκαλείται από αυτή.

### 1. ΛΟΙΜΩΞΗ ΑΠΟ ΤΟΝ ΙΟ ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ C

Ο ιός της ηπατίτιδας C (HCV) αποτελεί μια από τις κυριότερες αιτίες ιογενούς ηπατίτιδας και ένα παγκόσμιο πρόβλημα υγείας, έχοντας μολύνει περισσότερους από 170 εκατομμύρια ανθρώπους.<sup>1</sup> Η λοίμωξη προκαλεί οξεία και χρόνια ηπατίτιδα. Η οξεία ηπατίτιδα είναι ασυμπτωματική και πολύ σπάνια οδηγεί σε οξεία ηπατική ανεπάρκεια. Σε ποσοστό 60–80% των περιπτώσεων της οξείας διαφεύγει του ανοσιακού συστήματος και αναπτύσσει χρόνια λοίμωξη, που χαρακτηρίζεται από παρατεταμένη ασυμπτωματική περίοδο και μπορεί να οδηγήσει περίπου το 20% των ασθενών σε κίρρωση. Από αυτούς, το 4% θα αναπτύξει ηπατοκυτταρικό καρκίνο (ΗΚΚ). Η HCV κίρρωση ευθύνεται για το 15–30% των ηπατικών μεταμοσχεύσεων.<sup>2</sup> Η συχνότητα των συγκεκριμένων επιπλοκών προβλέπεται να αυξηθεί,<sup>3</sup>

πιθανόν στα επίπεδα της Ιαπωνίας, όπου η διασπορά του ιού συνέβη δεκαετίες νωρίτερα από την αντίστοιχη στις Δυτικές χώρες.<sup>4</sup>

Ο HCV ανακαλύφθηκε από τους Choo et al το 1989 με την τότε νέα μέθοδο της μοριακής κλωνοποίησης αντί της κλασικής μεθόδου απομόνωσης του ιού.<sup>5</sup> Είναι σχετικά μικρός RNA ηπατοτρόπος ιός (9.600 βάσεων) που ανήκει στην οικογένεια των Flaviridae. Το γονιδίωμά του κωδικογραφεί για μια πολυπρωτεΐνη περίπου 3.000 αμινοξέων, που ακολούθως τέμνεται πρωτεολυτικά σε επί μέρους τρεις δομικές (πρωτεΐνη του πυρηνοκαψιδίου c, πρωτεΐνη του φακέλου E1 και E2) και 7 μη δομικές περιοχές (NS1, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A και NS5B).<sup>6</sup> Είναι γνωστή η ύπαρξη τουλάχιστον 6 διαφορετικών γονοτύπων του HCV με διαφορετική γεωγραφική κατανομή και διαφορετική

ΑΡΧΕΙΑ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ 2013, 30(6):659–674  
ARCHIVES OF HELLENIC MEDICINE 2013, 30(6):659–674

Π.Ι. Κωνσταντινίδης,  
Σ.Π. Ντουράκης

Β΄ Πανεπιστημιακή Παθολογική Κλινική,  
Περιφερειακό Γενικό Νοσοκομείο  
Αθηνών «Ιπποκράτειο», Αθήνα

The role of cytokines in chronic  
hepatitis C

Abstract at the end of the article

### Λέξεις ευρητηρίου

Ανοσιακή απόκριση  
Ηπατίτιδα C  
Κρουσφαιριναιμία  
Κυτταροκίνες  
Χημειοκίνες

Υποβλήθηκε 13.4.2013  
Εγκρίθηκε 27.4.2013

ανταπόκριση στη αντι-ική θεραπεία. Ο άνθρωπος θεωρείται ο μόνος φυσικός ξενιστής του ιού. Οι χιμπατζήδες έχουν μολυνθεί πειραματικά, αλλά «η φυσική» μόλυνσή τους δεν έχει εξακριβωθεί.

Ο αριθμός των μολυσμένων ηπατοκυττάρων στη χρόνια ηπατίτιδα C παραμένει άγνωστος, εξ αιτίας της απουσίας αξιόπιστων μεθόδων μέτρησής τους σε βιοψίες ήπατος. Είναι γνωστό όμως ότι σε ασθενείς χωρίς θεραπεία τα επίπεδα του ιού στο αίμα βρίσκονται σχετικά σταθερά με μικρές μόνο διακυμάνσεις ( $<10^1$  IU/mL). Αυτό σημαίνει ότι υπάρχει ισορροπία μεταξύ παραγωγής και κάθαρσης του ιού. Υπολογίζεται ότι  $10^{12}$  ιικά σωματίδια απελευθερώνονται την ημέρα από το ήπαρ μολυσμένων ατόμων. Επίσης, υπολογίζεται ότι ο μέσος χρόνος ζωής κάθε ιικού σωματίου στον ορό είναι 2–3 ώρες.<sup>7</sup> Σε τυπική λοίμωξη, το ιικό φορτίο κυμαίνεται από  $10^4$ – $10^7$  IU/mL.

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

## 2. ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΕΣ

Οι κυτταροκίνες αποτελούν μικρού μοριακού βάρους ( $<30$

kDa) διαλυτές πρωτεΐνες, πεπτιδία ή γλυκοπρωτεΐνες, που εκκρίνονται από τα κύτταρα τα οποία συμμετέχουν στους μηχανισμούς της ανοσιακής απόκρισης του οργανισμού. Κατέχουν αξιοσημείωτες ιδιότητες, όπως ο πλειοτροπισμός (μια δεδομένη κυτταροκίνη επιδρά σε περισσότερα από ένα κύτταρα), ο πλεονασμός (διαφορετικές κυτταροκίνες επάγουν την ίδια λειτουργία), η ειδικότητα (ο υποδοχέας κάθε κυτταροκίνης, παρά τις κοινές αλυσίδες, έχει διαφορετικά μόρια μετάδοσης ενδοκυττάρου σήματος), η συνέργεια και ο ανταγωνισμός.

Εξ αιτίας της απουσίας ενός ολοκληρωμένου συστήματος ταξινόμησης οι κυτταροκίνες αναγνωρίζονται με ποικίλους τρόπους, όπως από το κύτταρο προέλευσης (π.χ. μονοκίνες από μονοκύτταρα), από την ιδιότητά τους (π.χ. παράγοντας νέκρωσης όγκου), από τη λειτουργία τους στην ανοσιακή απόκριση (π.χ. προφλεγμονώδη ή αντιφλεγμονώδη), ενώ πρόσφατα περιγράφηκε η δομική ταξινόμηση ανάλογα με τον υποδοχέα. Η λειτουργική ταξινόμηση (πίν. 1), που πιθανόν να είναι η πλέον πρακτική στην κλινική και στην ερευνητική πράξη, περιλαμβάνει τις εξής κατηγορίες:<sup>8,9</sup>

- Ανοσορρυθμιστικές κυτταροκίνες που παράγονται από τα T βοηθητικά 1 (T helper 1, Th1) ενεργοποιημένα λεμφοκύτταρα, όπως η ιντερλευκίνη 12 (IL-12), η ιντερλευκίνη 18 (IL-18) και η ιντερφερόνη  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ).
- Κυτταροκίνες που παράγονται από τα T βοηθητικά 2 (T helper 2, Th2), όπως η ιντερλευκίνη 4 (IL-4), η ιντερλευκίνη 5 (IL-5), η ιντερλευκίνη 6 (IL-6), η ιντερλευκίνη 10 (IL-10), η ιντερλευκίνη 13 (IL-13) και η ιντερλευκίνη 33 (IL-33). Οι Th2 κυτταροκίνες αναστέλλουν τις Th1, την αντιγονοπαρουσιαστική ικανότητα των μακροφάγων, ενώ επάγουν τον πολλαπλασιασμό των B κυττάρων και την παραγωγή αντισωμάτων. Η στροφή

**Πίνακας 1.** Λειτουργική ταξινόμηση των κυτταροκινών.

Κατηγορία	Κύριες λειτουργίες	Κυτταροκίνες
Th1 κυτταροκίνες	Th1 απόκριση, κλωνική ανάπτυξη των CTL	IFN- $\gamma$ , IL-12, IL-18
Th2 κυτταροκίνες	Th2 απόκριση, παραγωγή αντισωμάτων	IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13, IL-33
Th17 κυτταροκίνες	Th17 απόκριση, αυτοανοσία	IL-17, IL-23, IFN- $\gamma$
Προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες	Αύξηση φλεγμονής, φυσική ανοσιακή απόκριση	IL-1, TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8
Παράγοντες ανάπτυξης λεμφοκυττάρων	Κλωνική ανάπτυξη, πόλωση Th1, Th2, Th17	IL-2, IL-4, IL-7, IL-17, IL-15
Αντιφλεγμονώδεις κυτταροκίνες	Μείωση φλεγμονής	IL-10, IL-13, TGF- $\beta$ , IFN $\alpha/\beta$
Αιμοποιητικές κυτταροκίνες	Αιμοποίηση, Προ- και αντι-φλεγμονώδης δράση	GM-CSF, G-CSF, IL-3, IL-7
Ιντερφερόνες τύπου I	Αντι-ική, MHC I, αντιφλεγμονώδης, αντιαγγειογενετική δράση	IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$
Ιντερφερόνες τύπου II	Ενεργοποίηση μακροφάγων, MHC II	IFN- $\gamma$

CTL: Κυτταροτοξικά T-λεμφοκύτταρα, IL: Ιντερλευκίνη, Th: T βοηθητικά, IFN: Ιντερφερόνη, MHC: Μείζον σύμπλεγμα ιστοσυμβατότητας, TNF: Παράγοντας νέκρωσης όγκου, GM-CSF: Παράγοντας διέγερσης αποικιών κοκκιοκυττάρων-μακροφάγων, G-CSF: Αυξητικός παράγοντας αποικιών κοκκιοκυττάρων

προς την Th1 ή την Th2 απόκριση θεωρείται σημαντική στον καθορισμό της κλινικής έκφρασης της νόσου, της εξέλιξης της HCV λοίμωξης σε χρονιότητα, καθώς και της βλάβης του ήπατος από τον ιό.<sup>10,11</sup>

- Προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες, όπως η ιντερλευκίνη 1 (IL-1), ο παράγοντας νέκρωσης όγκου (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ), η IL-6 και η ιντερλευκίνη 8 (IL-8).
- Κυτταροκίνες που παράγονται από τα T βοηθητικά 17 (T helper 17, Th17) κύτταρα και είναι σημαντικές για τη διαφοροποίησή τους.
- Αιμοποιητικές κυτταροκίνες (παράγοντες που διεγείρουν αποικίες αιμοποιητικών κυττάρων), όπως ο αυξητικός παράγοντας κοκκιοκυττάρων-μακροφάγων (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF), ο αυξητικός παράγοντας κοκκιοκυττάρων (granulocyte colony-stimulating factor, G-CSF), ο αυξητικός παράγοντας μακροφάγων (macrophage colony stimulating factor, M-CSF) και η ερυθροποιητίνη.
- Παράγοντες ανάπτυξης και διαφοροποίησης, όπως ο αυξητικός παράγοντας αιμοπεταλίων (platelet derived growth factor, PDGF), ο επιδερμικός αυξητικός παράγοντας (epidermal growth factor, EGF), ο αυξητικός παράγοντας ινοβλαστών (fibroblast growth factors, FGF) και ο αυξητικός παράγοντας μεταμόρφωσης  $\beta$  (transforming growth factor beta, TGF- $\beta$ ).

### 3. ΑΝΟΣΙΑΚΗ ΑΠΟΚΡΙΣΗ ΚΑΙ ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΕΣ ΣΤΗΝ HCV ΛΟΙΜΩΞΗ

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

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

#### 3.1. Φυσική ανοσία

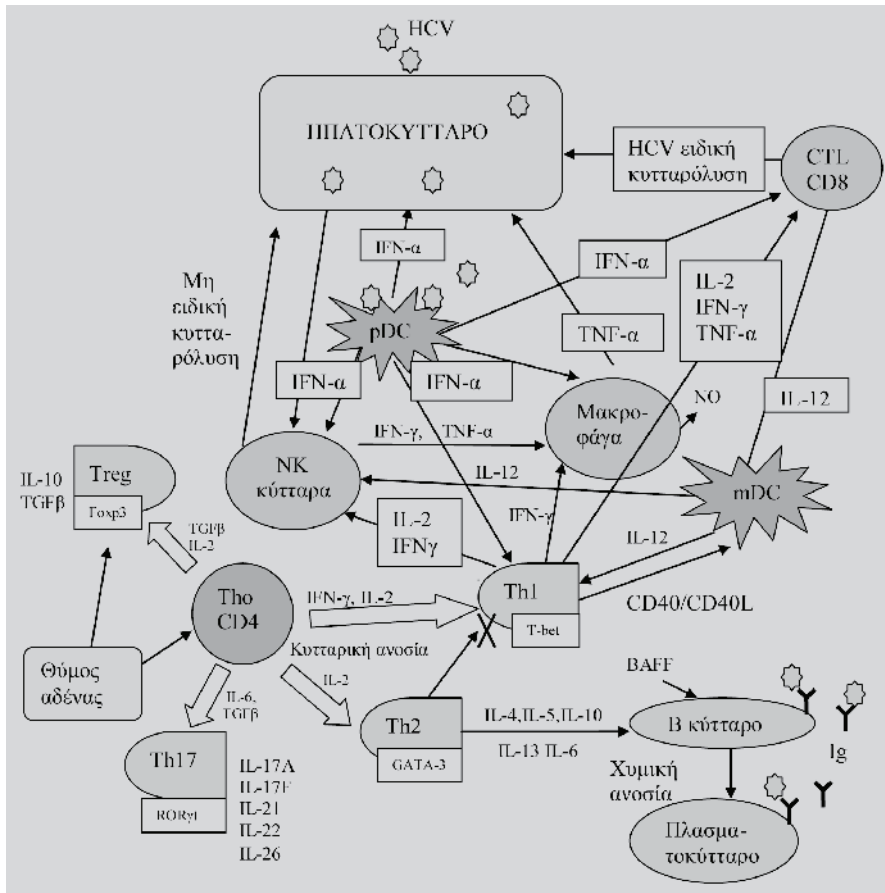
Η φυσική ανοσία έρχεται πρώτη σε επαφή με τον εισβολέα και γι' αυτό δρα άμεσα και ταχέως. Οι μηχανισμοί άμυνάς της

περιλαμβάνουν ποικίλα κύτταρα, όπως τα ουδετερόφιλα, τα μακροφάγα, τα ηωσινόφιλα, τα ιστιοκύτταρα, τα φυσικά κυτταροκτόνα κύτταρα (NK), τα μη φυσικά κυτταροκτόνα T κύτταρα (NKT) και παράγοντες του συμπληρώματος. Τα NK παράγουν μεγάλο αριθμό κυτταροκινών και έναν ισχυρό παράγοντα, τον TNF. Τα ιστιοκύτταρα επίσης παράγουν κυτταροκίνες, όπως την IL-4 που ενεργοποιεί τα ηωσινόφιλα και άλλα φλεγμονώδη κύτταρα, και την IL-5 που ενεργοποιεί τα Β-λεμφοκύτταρα για την παραγωγή IgE αντισώματος. Τα δένδριτικά κύτταρα (DC), τα μακροφάγα και οι ινοβλάστες συμμετέχουν στη φυσική ανοσία παράγοντας τις ιντερφερόνες (interferons, IFNs) και διάφορες πρωτεΐνες για να καταστείλουν τον εισβολέα.

Στο ήπαρ υπάρχει ένας μεγάλος αριθμός μακροφάγων (κύτταρα Kupffer), DC, NK και NKT κυττάρων. Όταν ο HCV μολύνει το ήπαρ εκκρίνονται από τα μολυσμένα ηπατοκύτταρα IFNs τύπου I (εικ. 1). Τα NK κύτταρα αποτελούν την πρώτη γραμμή άμυνας που θα αντιμετωπίσει ο HCV<sup>12</sup> και ενεργοποιούνται από τις IFNs τύπου I,<sup>13</sup> που φαίνεται από *in vitro* πειράματα ότι εκκρίνονται εκτός από τα μολυσμένα ηπατοκύτταρα και από τα πλασματοκυτταροειδή DC (pDC).<sup>14</sup> Η δράση των IFNs δεν βασίζεται μόνο στον κυτταρικό θάνατο των μολυσμένων ηπατοκυττάρων και στη δημιουργία αντι-ιικού περιβάλλοντος στα γειτονικά μη μολυσμένα ηπατοκύτταρα, αλλά και στην ενεργοποίηση των υπολοίπων κυττάρων της φυσικής ανοσίας.<sup>15</sup> Τα κύτταρα αυτά ενισχύουν την ανοσιακή απόκριση απελευθερώνοντας προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες και χημειοκίνες. Μέσα στις πρώτες ημέρες της λοίμωξης, οι τίτλοι του HCV αυξάνονται με μέσο χρόνο διπλασιασμού της ημίσειας ζωής 12 ώρες. Με την ενδοηπατική έκκριση των IFNs τύπου I ο χρόνος διπλασιασμού μειώνεται σε 7,5 ημέρες και οι τίτλοι του ιού φθάνουν τη μέγιστη τιμή τους, οπότε σταθεροποιούνται.<sup>16</sup>

Παρόλα αυτά, ο HCV φαίνεται εν μέρει να μην επηρεάζεται από τη δράση των IFNs και ουσιαστικά συνεχίζει να πολλαπλασιάζεται στο ήπαρ. Αυτό πιθανόν να το επιτυγχάνει, επειδή τόσο οι δομικές όσο και οι μη δομικές πρωτεΐνες του ιού αποκλείουν τα γονίδια που επάγουν την έκφραση των IFNs (IFN-stimulated genes, ISGs). Επί πλέον, φαίνεται ότι η πρωτεΐνη NS5A επάγει την έκφραση της IL-8, που σχετίζεται με την αναστολή της IFN- $\alpha$ .<sup>8,17</sup>

Η έκβαση της ιογενούς λοίμωξης εξαρτάται από την αλληλεπίδραση μεταξύ της ικανότητας του ξενιστή να πυροδοτήσει αντι-ιική απόκριση και των ιικών μηχανισμών. Τα NK κύτταρα ανευρίσκονται στο ήπαρ σε πολύ μεγαλύτερη συχνότητα σε σχέση με το περιφερικό αίμα και ασκούν άμεσα αντι-ιική δράση μέσω κυτταροτοξικών μηχανισμών και με την παραγωγή κυτταροκινών, όπως ο TNF- $\alpha$ , η IFN- $\gamma$ , η IL-10, η IL-13, ο TGF- $\beta$  και ο GMSCF.<sup>18</sup>



**Εικόνα 1.** Η ανοσιακή απόκριση και το πολύπλοκο δίκτυο των κυτταροκινών στη χρόνια ηπατίτιδα C. Τα πλασματοκυτταροειδή δενδρική κύτταρα (pDC) αναγνωρίζουν τον HCV και παράγουν IFN- $\alpha$ , που ενεργοποιεί τα φυσικά κυτταροκτόνα κύτταρα (NK), τα T βοηθητικά κύτταρα (Th), τα μακροφάγα και τα κυτταροτοξικά λεμφοκύτταρα (CTLs). Τα ενεργοποιημένα NK κύτταρα καταστρέφουν τα μολυσμένα ηπατοκύτταρα με μη ειδικό τρόπο. Σε αντίθεση, τα CTLs δρουν με αντιγόνο-ειδικό τρόπο. Τα μυελοειδή κύτταρα (mDC), που αναγνωρίζουν τα νεκρά ηπατοκύτταρα, εκκρίνουν IL-12, ενισχύουν την ενεργοποίηση των NK, των Th1 και των CTLs. Τα CD4 T κύτταρα διαφοροποιούνται σε Th1, Th2, Th17, Treg, που χρησιμοποιούν τους παράγοντες μεταγραφής T-bet, GATA-3, ROR $\gamma$ t, Foxp3, αντίστοιχα. Στη συνέχεια, τα ενεργοποιημένα Th1 παράγουν την ωρίμανση των DC μέσω της αλληλεπίδρασης του CD40/CD40 υποκαταστάτη και ενεργοποιούν τα CTL μέσω των IL-2, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ . Τα μακροφάγα που ρυθμίζονται από τα Th1 παράγουν TNF- $\alpha$ , με αποτέλεσμα την ενίσχυση της φλεγμονής. Στη χυμική ανοσία, τα Th2 κύτταρα ενεργοποιούν τα B κύτταρα και παράγονται ανοσοσφαιρίνες (Ig) για την εξουδετέρωση του ελεύθερου στην κυκλοφορία HCV. IL: Ιντερλευκίνη, IFN: Ιντερφερόνη, HCV: Ιός της ηπατίτιδας C, Treg: T ρυθμιστικά κύτταρα, BAFF: Παράγοντας ενεργοποίησης B κυττάρων (τροποποιημένη εικόνα από Hiroishi K/Hindawi publishing corporation/2010/ID 263810).

Οι κυτταροκίνες αυτές προάγουν με τη σειρά τους την ωρίμανση των DC που περιέχουν ιικά αντιγόνα και ευνοούν την ανάπτυξη Th1/T κυτταροτοξικής απόκρισης. Έχει βρεθεί ότι τα NK κύτταρα ενεργοποιούνται και από τα DC που εκκρίνουν την IL-12.<sup>19</sup> Παρ' όλα αυτά, φαίνεται ότι δεν διαδραματίζουν κάποιο ρόλο στην αντιμετώπιση της οξείας λοίμωξης από τον HCV.<sup>20</sup> Έχει επίσης προταθεί ότι ο HCV αποκλείει τα NK κύτταρα μέσω αλληλεπιδράσεων μεταξύ της E2 πρωτεΐνης και του μορίου CD81, εμποδίζοντας έτσι τις αντι-ιικές κυτταροκίνες.<sup>21</sup>

Τα NKT κύτταρα αποτελούν ιδιαίτερο τύπο των T-λεμφοκυττάρων, που εκφράζουν υποδοχείς T κυττάρων και ιδιότητες NK κυττάρων. Όταν διεγείρονται μπορούν να παράγουν τις κυτταροκίνες IL-4, IFN- $\gamma$  και TNF- $\alpha$  και να ενεργοποιούν άλλα κύτταρα όπως DC και NK. Τα NKT βρίσκονται άφθονα στο ήπαρ και υπολογίζονται περίπου στο 50% των λεμφοκυττάρων.<sup>22</sup> Στη χρόνια ηπατίτιδα C έχουν περιγραφεί μειωμένα τα ενδοηπατικά NKT, ενώ αύξηση του αριθμού τους παρατηρήθηκε μετά από θεραπεία με πεγκυλιωμένη ιντερφερόνη και ριμπαβιρίνη (regIFN/RBV).<sup>23</sup> Όμως, αν και τα NKT κύτταρα θεωρείται ότι έχουν προστατευτικό ρόλο έναντι του HCV, σε μια μελέτη ο

αριθμός των ενεργοποιημένων NKT κυττάρων στο ήπαρ σχετίστηκε με το βαθμό της ηπατοκυτταρικής βλάβης και την εκδήλωση ίνωσης, προτείνοντας ότι μπορεί να έχουν και βλαβερή επίδραση στο ήπαρ.<sup>24</sup>

Τα DCs διαδραματίζουν πρωτεύοντα ρόλο στην έναρξη των T ειδικών κυτταρικών αποκρίσεων μέσω της διαδικασίας της αντιγονοπαρουσίασης. Υπάρχουν δύο βασικοί τύποι, τα μυελοειδή DC (mDC) που εκκρίνουν κυρίως τις IL-10 και IL-12 και τα pDC που χαρακτηρίζονται από την παραγωγή IFN- $\alpha$ . Η λειτουργία των DCs φαίνεται ότι είναι ιδιαίτερα σημαντική στην αποφυγή της χρονιότητας της λοίμωξης από HCV. Μόνο οι ασθενείς που μπορούν να αυξήσουν τον απόλυτο αριθμό των κυκλοφορούντων mDC κατά την οξεία λοίμωξη είναι ικανοί να εξολοθρεύσουν τον ιό.<sup>25</sup> Στη χρόνια ηπατίτιδα C, η συχνότητα των mDC και των pDC στο περιφερικό αίμα μειώνεται ενώ εξασθενεί και η διαδικασία της ωρίμανσής τους.<sup>26</sup>

Επί πλέον, η συχνότητα των pDC στο αίμα και η ικανότητά τους να παράγουν IFN- $\alpha$  μειώνεται,<sup>27</sup> όπως επίσης μειώνεται η παραγωγή IL-12 από τα mDC.<sup>28</sup> Πραγματικά, οι δομικές πρωτεΐνες του HCV επιδρούν στα μονοκύτταρα και επάγουν την παραγωγή IL-10, που αναστέλλει την

παραγωγή IL-12 και IFN-α από τα DC.<sup>29</sup> Παρ' όλα αυτά, σε άλλες μελέτες περιγράφηκε αύξηση της παραγωγής της IFN-α ιδίως στους ασθενείς που απέτυχαν να ανταποκριθούν στη χορήγηση εξωγενούς IFN, στους οποίους τα ISGs είναι ιδιαίτερα ενεργοποιημένα.<sup>30</sup>

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

Παρακάτω περιγράφονται οι κυτταροκίνες (TNF-α, IL-1, IL-33, IL-10, IL-12, IFNs) και οι χημειοκίνες που διαδραματίζουν βασικό ρόλο στη φυσική ανοσία. Ο TNF-α (ή καχεκτίνη) παράγεται από τα Th1, Th2 και τα κυτταροτοξικά λεμφοκύτταρα (CTL) και ενεργοποιεί την παραγωγή νιτρικού οξειδίου (NO) από τα μακροφάγα. Αποτελεί σημαντικό ρυθμιστή της οξείας φλεγμονής. Συνδέεται με δύο υποδοχείς στην επιφάνεια των κυττάρων, τους TNFR-1 και TNFR-2. Ο πρωτεολυτικός διαχωρισμός του εξωκυττάρου τμήματος των εν λόγω υποδοχέων αποσπά τους διαλυτούς υποδοχείς sTNFR1(-p55) και sTNFR(-p75). Τα επίπεδα sTNFR θεωρούνται ευαίσθητοι και αξιόπιστοι δείκτες της ενεργοποίησης του TNF-α, είναι εύκολα μετρήσιμοι κάτω από ποικίλες καταστάσεις φλεγμονής και προτιμώνται από τον ίδιο τον TNF-α.<sup>31</sup> Ο TNF-α είναι απαραίτητος για τον πολλαπλασιασμό των ηπατοκυττάρων κατά την αναγέννηση του ήπατος και για την αναστολή αντι-αποπτωτικών δράσεων. Παράλληλα, όμως, έχει αναγνωριστεί ως ρυθμιστής του ηπατοκυτταρικού θανάτου. Τα επίπεδά του βρέθηκαν αυξημένα στον ορό ασθενών με HCV λοίμωξη, ενώ οι μεγαλύτερες τιμές παρατηρήθηκαν σε ασθενείς με κίρρωση. Επίσης, τα επίπεδα των sTNFR βρέθηκαν αυξημένα και παρουσίασαν σημαντική συσχέτιση με τα επίπεδα των αμινοτρανσφερασών και με το βαθμό της ηπατικής φλεγμονής.<sup>32,33</sup> Θεραπευτικά, οι αναστολείς του TNF-α (όπως η ετανερσέπτη) έχουν δοκιμαστεί σε ασθενείς με αυτοάνοσες εκδηλώσεις χρόνιας ηπατίτιδας C. Φαίνεται ότι η χορήγησή

τους απέτρεψε σημαντική αύξηση του ιού στους ασθενείς που είχαν ανιχνεύσιμο ιικό φορτίο ή ενεργοποίησή του στους ασθενείς με μη ανιχνεύσιμο φορτίο.<sup>34</sup>

Η IL-1 αποτελεί προφλεγμονώδη κυτταροκίνη με πολλές ομοιότητες με τον TNF-α. Παράγεται από τα ενεργοποιημένα μακροφάγα, συνήθως μαζί με τον TNF-α. Ο ακριβής ρόλος της στην ηπατίτιδα C δεν έχει διευκρινιστεί. Κάποιες μελέτες έδειξαν ότι η παραγωγή της παρουσιάζει μείωση σε ασθενείς με HCV λοίμωξη, υποθέτοντας ότι διαδραματίζει κάποιο ρόλο στην κάθαρση από τον ιό. Προτάθηκε έτσι ότι μπορεί να βοηθήσει στη ρύθμιση της ανοσιακής απόκρισης με τη διαδικασία της αντιγονοπαρουσίασης. Επί πλέον, μοριακές αναλύσεις έδειξαν ότι μπορεί να συμβάλλει στην έκφραση των ISGs, με αποτέλεσμα την ενίσχυση της αντι-ιικής δράσης.<sup>35</sup> Άλλες μελέτες έδειξαν ότι συγκεκριμένοι γονότυποι της IL-1, όπως οι 1β (IL-1β-31) T/T και IL-1β-511 T/T, σχετίστηκαν με αυξημένο κίνδυνο ΗΚΚ.<sup>36</sup>

Η IL-33 είναι ένα από τα νεότερα ανακαλυφθέντα μέλη της οικογένειας της IL-1. Δρα μέσω του υποδοχέα ST2 και *in vitro* επάγει τα Th2 κύτταρα προς παραγωγή κυτταροκινών, ενώ *in vivo* επάγει την έκφραση των IL-4, IL-5, IL-10, IL-13.<sup>37</sup> Σε μια πρόσφατη μελέτη περιγράφηκε ότι η IL-33 σχετίζεται με την ανάπτυξη και την εξέλιξη της ηπατικής ίνωσης από τον HCV.<sup>38</sup> Οι συγγραφείς αναφέρουν και τη στενή σχέση της με την ασπαρτική αμινοτρανσφεράση (AST) του ορού. Σε άλλη μελέτη ασθενών με χρόνια ηπατίτιδα C βρέθηκαν αυξημένα τα επίπεδα της IL-33, ενώ κατά τη θεραπεία με pegIFN/RBV τα επίπεδα μειώθηκαν σημαντικά.<sup>39</sup> Φαίνεται ότι η IL-33 είναι πιθανό να αποτελεί σημαντικό βιοδείκτη της ηπατικής βλάβης σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C, καθώς και ευαίσθητο δείκτη για την επίτευξη SVR.

Η IL-12 παράγεται από τα DC, τα μακροφάγα και τα Β-λεμφοβλαστοειδή ως απάντηση σε αντιγονικά ερεθίσματα. Προάγει την κυτταρική ανοσία με την επικράτηση Th1 ανοσιακής απόκρισης και έτσι συμβάλλει στην ανοσοπαθγένεια της HCV λοίμωξης ενισχύοντας τη φλεγμονή. Τα επίπεδά της βρίσκονται αυξημένα σε ασθενείς με χρόνια λοίμωξη από HCV, ενώ παρατηρείται και αύξησή τους μετά από θεραπεία με pegIFN/RBV.<sup>40</sup>

Οι IFNs ανακαλύφθηκαν πριν από 50 χρόνια από τους Isaacs και Lindenmann. Σήμερα έχουν αναγνωριστεί >10 IFNs και πολλοί περισσότεροι υπότυποι, όλοι με αντι-ιική δράση αλλά και με ξεχωριστές ιδιότητες. Οι IFNs αποτελούν κομβικές κυτταροκίνες στην αρχή της φυσικής ανοσιακής απόκρισης και στην κυτταρική ανοσία κατά τη χρόνια φάση της ηπατίτιδας C. Τα προϊόντα των ISGs μπορούν να εμποδίσουν τη μετάφραση του ιικού RNA και επομένως να περιορίσουν την αρχική ιική εξάπλωση του ιού στο ήπαρ, μέχρι να επιτευχθεί κάθαρση από τα T ειδικά κύτταρα. Οι IFNs ταξινομούνται σε τρεις τύπους (εικ. 2).

Η αρχική απόκριση στη λοίμωξη από HCV φαίνεται ότι είναι η παραγωγή IFN-β από τα μολυσμένα ηπατοκύτταρα. Η IFN-β έχει διαφορετικές βιολογικές ιδιότητες από την IFN-α και επιτυγχάνει σε μεγαλύτερο βαθμό την κάθαρση του ιού. Η IFN-α παράγεται κυρίως από τα μακροφάγα, ενώ η IFN-β από διάφορα κύτταρα και τους ινοβλάστες. Παρ' όλο που οι δύο τους διαφέρουν δομικά, συνδέονται στον ίδιο υποδοχέα και ασκούν παρόμοιες επιδράσεις, με βασικό στόχο την αντιμετώπιση ιογενών λοιμώξεων. Οι βιολογικές δραστηριότητες των ιντερφερονών τύπου I δεν περιορίζονται στην αντι-ικική δράση αλλά περιλαμβάνουν ευρύ πλαίσιο, όπως ανοσορρυθμιστικές και ανασταλτικές της ανάπτυξης ιδιότητες.

Η ανακάλυψη το 2003 της οικογένειας των IFN-λ άνοιξε ένα νέο κεφάλαιο στην ιστορία των IFNs. Υπάρχουν τρία διαφορετικά γονίδια IFN-λ, που κωδικοποιούν τις IFN-λ1, IFN-λ2 και IFN-λ3 (IL-29, IL28A και IL-28B, αντίστοιχα). Οι τρεις αυτές πρωτεΐνες αποτελούν τις IFNs τύπου III. Όπως και με τις IFNs τύπου I, η έκκρισή τους επάγεται από ιογενείς λοιμώξεις αλλά η μετάδοση του σήματός τους πραγματοποιείται μέσω ετεροδιμερούς συστήματος υποδοχέων διαφορετικών από αυτούς που χρησιμοποιούν οι IFNs τύπου I και II. Οι υποδοχείς των IFN τύπου III (IL10R2 και IFNLR1) περιορίζονται στα κύτταρα με επιθηλιακή προέλευση, ενώ, αντίστοιχα, οι υποδοχείς των IFNs τύπου I εκφράζονται σε πολλούς τύπους κυττάρων. Παρ' όλο όμως που έχουν διαφορετικούς υποδοχείς ενεργοποιούν την ίδια ενδοκυττάρια οδό μετάδοσης.<sup>41</sup>

Η κάθαρση από τον HCV, εξωγενής ή αυτόματη, επηρεάζεται από ποικίλους παράγοντες του ξενιστή. Το μεγαλύτερο ενδιαφέρον παρατηρείται στον πολυμορφισμό

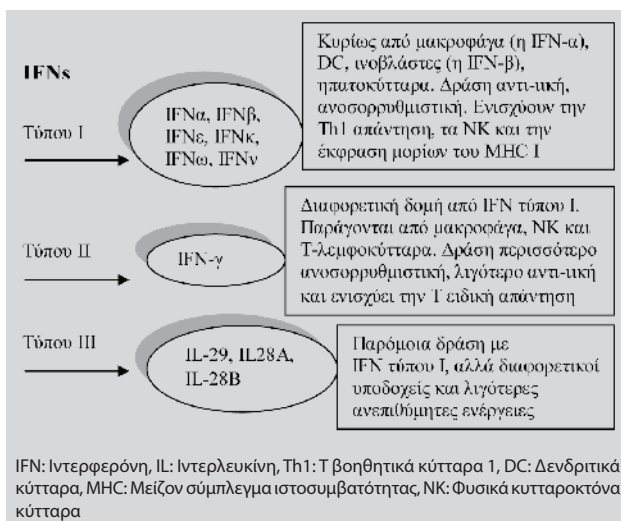
μιας περιοχής του γονιδίου IL-28B (IFN-λ3), εμπλέκοντας το παράγωγο του γονιδίου, την IFN-λ3, στην ανοσιακή απόκριση του HCV. Φαίνεται ότι ο πολυμορφισμός του γονιδίου της IFN-λ3 σχετίζεται με την ανταπόκριση στη θεραπεία και με την επίτευξη SVR σε ασθενείς που έλαβαν την τυπική θεραπεία με pegIFN/RBV. Επίσης, σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C έχει αναγνωριστεί αυξημένη μεταγραφή της IFN-λ3 στο ήπαρ και στα μονοπύρνα του περιφερικού αίματος (peripheral blood nuclear cells, PBNCs). Τέλος, η IFN-λ3 έχει περιγραφεί *in vitro* ως πιθανός ανασταλτής του πολλαπλασιασμού του HCV.<sup>42,43</sup>

Τελευταία, η IFN-λ3 δοκιμάζεται ως πιθανή νέα θεραπευτική επιλογή σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C. Κλινικές δοκιμές διεξάγονται εκτιμώντας την αποτελεσματικότητα και την ασφάλεια της χορήγησης IFN-λ. Φαίνεται ότι η IFN-λ3 αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό του ιού και σχετίζεται με ήπιες ανεπιθύμητες ενέργειες. Όμως, έχει παρατηρηθεί ηπατοτοξικότητα τόσο στους υγιείς εθελοντές όσο και στους ασθενείς με ηπατίτιδα C που έλαβαν IFN-λ1.<sup>44</sup>

Οι χημειοκίνες αποτελούν ομάδα δομικά ομολόγων κυτταροκινών. Λειτουργικά, υπάγονται σε δύο μεγάλες κατηγορίες, την ομοιοστατική και την προφλεγμονώδη. Οι ομοιοστατικές χημειοκίνες εμπλέκονται στη διακίνηση των λεμφοκυττάρων και στην επιτήρηση της ανοσιακής απόκρισης.<sup>45</sup> Οι προφλεγμονώδεις παράγονται κατά τη διάρκεια λοίμωξης ή μετά από προφλεγμονώδη ερεθίσματα και προτρέπουν τη μετανάστευση των λευκοκυττάρων στη βλάβη. Αυτές οι χημειοκίνες μπορούν να ενεργοποιήσουν κύτταρα ώστε να αυξηθεί η ανοσιακή απόκριση.

Οι χημειοκίνες σχετίζονται μεταξύ τους δομικά γιατί οι περισσότερες περιέχουν ως συστατικό τους την κυστεΐνη. Ανάλογα με τη διάταξη των δύο πρώτων κυστεϊνών χωρίζονται σε τέσσερις υποτύπους: CXC (alpha), CC (beta), C (gamma) και CX3C (delta).<sup>46</sup> Παράγονται ως προπεπτίδια και διασπώνται κατά τη διάρκεια της έκκρισης προκειμένου να παραχθεί μια δραστική ώριμη πρωτεΐνη,<sup>47</sup> που λειτουργεί με την ενεργοποίηση υποδοχέων G-συνδεδεμένων πρωτεϊνών. Οι υποδοχείς για αυτές τις χημειοκίνες έχουν ονομαστεί ανάλογα CXCR, CCR, CR και CX3CR.<sup>48</sup>

Στη χρόνια ηπατίτιδα C, η συνεχής παραγωγή χημειοκινών λόγω επίμονης ιογενούς αντιγραφής μπορεί να οδηγήσει στη συνεχή στρατολόγηση αντιφλεγμονωδών κυττάρων στο ήπαρ, προκαλώντας χρόνια φλεγμονή και βλάβη του ήπατος. Η CXCL10 (μοτίβο CXC και ligand 10), γνωστή και ως IP-10 (interferon-γ-inducible protein-10), παράγεται από τα ηπατοκύτταρα και τα ηπατικά ενδοθηλιακά κύτταρα των κολλοειδών (liver sinusoidal endothelial cells, LSECs) και βρέθηκε αυξημένη στο ήπαρ και στο περιφερικό αίμα,<sup>49,50</sup> ενώ τα επίπεδά της σχετίστηκαν με τη φλεγμονή.<sup>51,52</sup> Τα επίπεδα



**Εικόνα 2.** Τύποι ιντερφερονών.

της IP10 στο πλάσμα αντικατοπτρίζουν τα ενδοηπατικά CXCL10. Θεωρείται ότι μπορούν και τα δύο να προβλέψουν την πρώιμη μείωση του HCN RNA στη θεραπεία ασθενών με HCV.<sup>53</sup> Η CXCL9 (μοτίβο CXC και ligand 9), που επίσης παράγεται από τα LSECs, ανευρίσκεται αυξημένη στο ήπαρ και το περιφερικό αίμα, ενώ τα επίπεδά της σχετίστηκαν με το βαθμό φλεγμονής.<sup>51,52</sup> Η CXCL11 (μοτίβο CXC και ligand 11) παράγεται κυρίως από τα ηπατοκύτταρα. Τα ενδοηπατικά επίπεδα της CXCL11 σχετίστηκαν σημαντικά με πυλαία και λοβιδιακή φλεγμονή.<sup>54</sup> Σε άλλες μελέτες, οι χημειοκίνες θεωρήθηκαν χρήσιμοι προγνωστικοί δείκτες της θεραπείας της χρόνιας ηπατίτιδας C. Για παράδειγμα, τα αυξημένα επίπεδα της CXCL10 πριν από τη θεραπεία σχετίστηκαν με μη ανταπόκριση στη θεραπεία.<sup>51–54</sup>

Η ιντερλευκίνη 8 (CXCL8/IL-8), γνωστή και ως χημειοτακτικός παράγοντας των ουδετεροφίλων και των λεμφοκυττάρων, αποτελεί σημαντικό ρυθμιστή της φλεγμονής και της ανοσιακής απόκρισης. Η παραγωγή της ρυθμίζεται από την IL-1, τον TNF-α και την IL-6. Ενεργοποιεί τα ουδετερόφιλα και επάγει την αποκοκκίωση με απελευθέρωση λακτοφερίνης. Αυτός ο τύπος φλεγμονωδών κυττάρων έχει παρατηρηθεί στον ηπατικό ιστό σε ιογενείς χρόνιες ηπατίτιδες. Τέλος, τα επίπεδα της IL-8 έχουν βρεθεί αυξημένα σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C, ενώ οι μέγιστες τιμές παρατηρήθηκαν στους ασθενείς με κίρρωση.<sup>33</sup>

### 3.2. Επίκτητη ανοσία

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

*Κυτταρική ανοσία.* Τα T-λεμφοκύτταρα παράγονται στο μυελό των οστών και μεταναστεύουν στο θύμο αδένα μέχρι και την ωρίμανσή τους. Αποτελούν κύρια πηγή παραγωγής κυτταροκινών. Έχουν την ιδιότητα να μην αναγνωρίζουν διαλυτά αντιγόνα, αλλά μόνο ειδικά αντιγονικά πεπτιδία που παρουσιάζονται στην επιφάνεια αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων (antigen presenting cells, APC), συνδεδεμένα με πρωτεΐνες του συστήματος μείζονος ιστοσυμβατότητας (major histocompatibility complex, MHC). Τα T-λεμφοκύτταρα χωρίζονται σε δύο βασικές κατηγορίες ανάλογα με την παρουσία συγκεκριμένων μορίων στην

επιφάνεια των κυττάρων: τα CD4+ T-λεμφοκύτταρα παρουσιάζουν MHC-II και τα CD8+ παρουσιάζουν MHC-I. Τα CD4+ είναι γνωστά και ως T βοηθητικά κύτταρα (T helper, Th) και χωρίζονται περαιτέρω ανάλογα με τις κυτταροκίνες που παράγουν σε τουλάχιστον τέσσερις υποτύπους: Th1, Th2, Th17 και τα T ρυθμιστικά (T regulatory) κύτταρα (εικ. 1).<sup>55</sup> Τα T-λεμφοκύτταρα που εκφράζουν CD8+ είναι τα κυτταροτοξικά T κύτταρα (CTL).

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

Ένα από τα χαρακτηριστικά της HCV λοίμωξης είναι η καθυστερημένη ανοσιακή απόκριση παρά το γεγονός ότι από νωρίς αυξάνεται ο τίτλος του ιού και διεγείρονται τα ISGs. Τα ειδικά T-λεμφοκύτταρα μπορούν να ανιχνευτούν στο ορό του ασθενούς 4–8 εβδομάδες μετά από την αρχική έκθεση στον ιό και συνδυάζονται με παράλληλη αύξηση της αλανινικής αμινοτρανσφεράσης (ALT).<sup>56</sup> Τη στιγμή της κλινικής παρουσίας και της αύξησης των επιπέδων ALT, στο αίμα των ασθενών ανιχνεύεται έντονος πολλαπλασιασμός των CD4+ T κυττάρων,<sup>57,58</sup> με επακόλουθη παραγωγή IL-2 και IFN-γ.<sup>59</sup> Η αυτόματη κάθαρση του HCV υπολογίζεται ότι επισυμβαίνει σε ποσοστό 20–25%<sup>60</sup> και σχετίζεται με ισχυρή και παρατεταμένη ειδική CD4+ αλλά και CD8+ T κυτταρική απόκριση.<sup>61</sup> Η μείωση των επιπέδων του ιού συμπίπτει επακριβώς με την εμφάνιση των ειδικών T κυττάρων και με την παραγωγή της IFN-γ,<sup>13</sup> υποδεικνύοντας ότι η κάθαρση από τον ιό καθορίζεται από τα T κύτταρα. Δεν έχει όμως διευκρινιστεί εάν η IFN-γ σχετίζεται άμεσα ή είναι απλά ένας δείκτης για άλλες λειτουργίες των T κυττάρων.

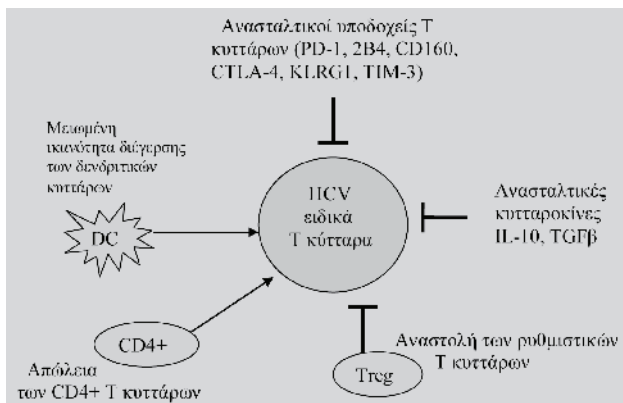
Ενεργοποίηση των T ειδικών κυττάρων παρατηρείται επίσης και στη χρόνια HCV λοίμωξη. Η συνεχής όμως έκθεση των T κυττάρων στα αντιγόνα του ιού οδηγεί σε χρόνια ενεργοποίηση, με αποτέλεσμα την εξασθένηση των T κυττάρων και τη δυσλειτουργία των ειδικών αποκρίσεων. Σημαντικές λογαριθμικές αλλαγές του τίτλου του ιού και της ALT, καθώς και αυτόματη ιική κάθαρση συμβαίνουν

εξαιρετικά σπάνια και συνηγορούν στη συνύπαρξη ιού και ανοσιακής απόκρισης του ξενιστή. Στη χρόνια ηπατίτιδα C, λειτουργίες όπως η παραγωγή IL-2 και η ικανότητα πολλαπλασιασμού χάνονται πρώτες. Ακολουθεί η σταδιακή εξασθένηση της παραγωγής TNF-α και στη συνέχεια της παραγωγής IFN-γ.<sup>56</sup> Όταν η λοίμωξη καταστεί χρόνια, παρατηρείται μια ασθενής CD4+ T ειδική αντίδραση με μικρή ειδικότητα και σπάνια παραγωγή κυτταροκινών.<sup>62</sup> Επί πλέον, η απώλεια της αρχικά ισχυρής απόκρισης των CD4+ T κυττάρων έχει συσχετιστεί με υποτροπιάζουσα αιμία ακόμη και μήνες μετά το φαινομενικό έλεγχο του ιού.<sup>63</sup>

Τα CD8+ κυτταροτοξικά λεμφοκύτταρα επιδρούν στους ιούς με τη χρήση κυτταρολυτικών μηχανισμών απόπτωσης και μηχανισμών που ρυθμίζονται από τις κυτταροκίνες, όπως οι IFN-α και TNF-α. Στη χρόνια ηπατίτιδα C, όπως συμβαίνει και με τα CD4+ κύτταρα, που παρουσιάζουν εξασθενημένη λειτουργία, έτσι και τα CD8+ T κύτταρα φαίνεται ότι έχουν ελαττωμένη ικανότητα πολλαπλασιασμού, κυτταροτοξικότητας και παραγωγής της IFN-γ, ενώ παρουσιάζουν αυξημένα τα επίπεδα προγραμματισμένου θανάτου-1.<sup>64</sup>

Ένα ερώτημα που τίθεται από πολλούς ερευνητές αφορά στην αναζήτηση των παραγόντων και του βαθμού της συμμετοχής τους στην εξασθένηση των T ειδικών κυττάρων. Οι κυτταροκίνες διαδραματίζουν κεντρικό ρόλο στην απενεργοποίηση των αντι-ιικών T κυττάρων. Ειδικά οι IL-10 και TGF-β έχουν συσχετιστεί με την εξασθένηση των T-λεμφοκυττάρων. Στη χρόνια ηπατίτιδα C, τα Treg μπορούν να ελευθερώσουν IL-10 και TGF-β και να αναστείλουν τον πολλαπλασιασμό και τη σύνθεση κυτταροκινών στα T-λεμφοκύτταρα, είτε άμεσα είτε μέσω άλλων κυτταροκινών.<sup>65</sup> Άλλοι παράγοντες που ενοχοποιούνται, αναφέρονται στην εικόνα 3.

Είναι ευρέως αποδεκτό ότι στην κυτταρική ανοσία οι υπότυποι Th1, Th2, Th17 και Treg χαρακτηρίζονται από το



**Εικόνα 3.** Παράγοντες που συμβάλλουν στην εξασθένηση της T κυτταρικής απόκρισης (τροποποιημένο από *Arch Immunol Ther Exp*, 2012).

προφίλ των κυτταροκινών που εκκρίνουν και τις λειτουργίες τους. Η διαφοροποίησή τους ρυθμίζεται από παράγοντες που περιλαμβάνουν το αντιγόνο, τις κυτταροκίνες, τα DC, τα Treg, φάρμακα όπως τα κορτικοστεροειδή και, τέλος, το περιβάλλον. Παρακάτω περιγράφονται οι βασικές κυτταροκίνες της κυτταρικής ανοσίας και η σχέση τους με την ηπατίτιδα C.

Η ιντερλευκίνη 2 (IL-2), αν και φέρει τον αριθμό 2, είναι το πρώτο μόριο ιντερλευκίνης που ανακαλύφθηκε και περιγράφηκε. Αποτελεί Th1 κυτταροκίνη και συμμετέχει στον πολλαπλασιασμό και την ενεργοποίηση των T-λεμφοκυττάρων, των NK κυττάρων και των B-λεμφοκυττάρων. Σε αρκετές μελέτες βρέθηκαν αυξημένα τα επίπεδα της IL-2 στον ορό ασθενών με χρόνια ηπατίτιδα C. Φαίνεται ότι η έκφρασή της σχετίζεται με προχωρημένα στάδια της νόσου.<sup>66</sup> Επί πλέον, οι Saadoun et al περιέγραψαν τις ευεργετικές επιδράσεις της θεραπείας χαμηλών δόσεων IL-2 σε ασθενείς με αυτοάνοση αγγειίτιδα και κρουσφαιριναιμία από χρόνια ηπατίτιδα C. Η θεραπευτική επίδραση πιθανόν να οφείλεται στην κατασταλτική ρύθμιση της IL-2 στα T-λεμφοκύτταρα και την αποκατάσταση των επιπέδων των Treg.<sup>67</sup>

Η IFN-γ αποτελεί το μοναδικό μέλος της κατηγορίας των ιντερφερονών τύπου II (εικ. 2) και εμφανίζεται μετά από έκθεση λεμφοκυττάρων σε ειδικά αντιγόνα. Περιγράφηκε για πρώτη φορά το 1970 και έγινε γνωστή ως η ιντερφερόνη της ανοσίας. Η IFN-γ κωδικοποιείται από το γονίδιο IFNG. Τα Th1 κύτταρα, τα CTL και τα NK κύτταρα είναι η κύρια ενδογενής πηγή της, σε αντίθεση με τις ιντερφερόνες α και β που παράγονται από όλα τα κύτταρα.

Σήμερα, είναι αποδεκτό ότι η IFN-γ αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό του HCV *in vitro* και αποτελεί το βασικό ρυθμιστή των T ειδικών ανοσιακών αποκρίσεων έναντι του HCV. Παρ' όλο που σε αρκετές μελέτες ασθενών με λοίμωξη από HCV παρατηρήθηκε Th1 ανοσιακή απόκριση με υπερπαραγωγή της IFN-γ, σε άλλες τα επίπεδα της IFN-γ βρέθηκαν χαμηλά. Επίσης, σε ασθενείς που έλαβαν θεραπεία με peg IFN/RBV παρατηρήθηκε μείωση των επιπέδων της μόλις από τη 12η εβδομάδα θεραπείας.<sup>68,69</sup>

Ο TNF-β (ή λεμφοτοξίνη) παράγεται από τα Th1 λεμφοκύτταρα και αναστέλλει τη δράση των B-λεμφοκυττάρων. Αποτελεί μεσολαβητή της φλεγμονώδους αντίδρασης και των σηπτικών φαινομένων, ενεργοποιώντας τα πολυμορφόπυρνα και την παραγωγή NO από τα μακροφάγα. Τα επίπεδά του βρέθηκαν σημαντικά αυξημένα σε χρόνια HCV λοίμωξη και σχετίστηκαν με το βαθμό της φλεγμονής και της ηπατικής ίνωσης.<sup>32</sup>

Η IL-4 αποτελεί μια ιδιαίτερα πλειοτροπική κυτταροκίνη που παράγεται από τα CD4+ T-λεμφοκύτταρα, τα ιστιοκύτταρα και τα βασεόφιλα. Έχει αξιοσημείωτες ανασταλτικές



επιδράσεις στην έκφραση και στην απελευθέρωση των προφλεγμονωδών κυτταροκινών. Αρκετοί είναι οι ερευνητές που έχουν διαπιστώσει στη χρόνια ηπατίτιδα C έντονη Th2 τύπου απάντηση, η οποία εκφράζεται από την αύξηση της IL-4.<sup>32</sup> Τα αυξημένα αυτά επίπεδα τα συσχετίζουν με συστηματική απόκριση παρά με τοπική παραγωγή στο ήπαρ και με σκοπό ενδεχομένως να περιορίσουν την Th1 απάντηση στο ήπαρ, ώστε να αποφευχθούν συστηματικές αντιδράσεις. Η Th2 τύπου στροφή της ανοσιακής απάντησης, που παρατηρείται, αδυνατεί να εξαλείψει τον ιό και πιθανόν συμβάλλει στη χρονιότητα της νόσου.

Η IL-6, γνωστή και ως ρυθμιστικός παράγοντας 2 των B κυττάρων (BSF-2) ή ιντερφερόνη β2, θεωρείται βασικός ρυθμιστής της φλεγμονής και των αποκρίσεων οξείας φάσης στο ήπαρ. Εμποδίζει την κυτταρική απόπτωση και προάγει τη διαφοροποίηση των T-λεμφοκυττάρων σε Th1. Παράγεται από τα μακροφάγα, τα ενδοθηλιακά κύτταρα, τους ινοβλάστες και από άλλα κύτταρα ως απάντηση στα αντιγόνα των μικροβίων ή στις κυτταροκίνες IL-1 και TNF. Θεωρείται ότι διαδραματίζει ρόλο στην ανοσιακή απόκριση που μπορεί να οδηγήσει στην κάθαρση από τον HCV.<sup>70</sup> Τα επίπεδά της στον ορό ασθενών με χρόνια ηπατίτιδα C βρέθηκαν αυξημένα, αλλά είναι αμφιλεγόμενη η σχέση της με την εξέλιξη της νόσου και τις ιστολογικές μεταβολές στο ήπαρ.<sup>71</sup>

Η IL-10, γνωστή και ως «ανασταλτικός παράγοντας της έκκρισης κυτταροκινών», είναι ίσως η πλέον σημαντική κυτταροκίνη, με ισχυρή αντιφλεγμονώδη και ανοσοκατασταλτική δράση. Αποτελεί πρωτεΐνη 160 αμινοξέων που παράγεται από τα Treg, τα Th2, τα DC, τα μακροφάγα και τα NK κύτταρα. Ο κύριος ρόλος της έγκειται στην αναστολή της δράσης των APC και την παραγωγή προφλεγμονωδών κυτταροκινών από τα μακροφάγα και τα DC, οδηγώντας έτσι σε αναστολή της Th1 απόκρισης.<sup>72</sup> Η IL-10 αποτελεί σημαντικό ρυθμιστή των CD4+ κυττάρων.<sup>73</sup> Φαίνεται ότι αποκλείοντας με αντίσωμα τον υποδοχέα της IL-10 είναι δυνατή η αναστολή της καταστολής των CD4+ κυττάρων.<sup>74</sup>

Η IL-10 είναι εύκολα μετρήσιμη στην κυκλοφορία ασθενών με συστηματικές νόσους και μια ποικιλία φλεγμονωδών καταστάσεων.<sup>75</sup> Τυπικά, τα επίπεδά της στον ορό ασθενών με χρόνια ηπατίτιδα C είναι αυξημένα.<sup>76</sup> Τα T-λεμφοκύτταρα που παράγουν την IL-10 ανευρίσκονται σε τμήματα του ήπατος με ασθενή ηπατοκυτταρική απόπτωση και χαμηλή έκφραση της λαμίνης, ενώ αυτά που παράγουν IFN-α βρίσκονται σε τμήματα του ήπατος με ισχυρή απόπτωση και υψηλή έκφραση της λαμίνης.<sup>77</sup> Σε ασθενείς που έλαβαν θεραπεία με pegIFN/RBV, η IL-10 αξιολογήθηκε ως αρνητικός προγνωστικός παράγοντας της ανταπόκρισης στη θεραπεία.<sup>78,79</sup>

Ο TGF-β παράγεται από Treg κύτταρα και έχει τόσο αντιφλεγμονώδεις όσο και προφλεγμονώδεις ιδιότητες. Λειτουργεί ως βιολογικός διακόπτης που ανταγωνίζεται ή τροποποιεί τη δράση άλλων κυτταροκινών και αυξητικών παραγόντων. Σε ασθενείς με HCV λοίμωξη έχουν βρεθεί αυξημένα επίπεδα του TGF-β, που σχετίστηκαν σημαντικά με τα επίπεδα φλεγμονής και ηπατικής ίνωσης.<sup>33,77</sup>

Ενώ για πολλά χρόνια θεωρήθηκε ότι στο πλαίσιο της κυτταρικής ανοσίας τα CD4+ T βοηθητικά κύτταρα διαχωρίζονταν σε δύο σειρές (Th1 και Th2), πρόσφατες αναλύσεις παρουσίασαν την ύπαρξη ενός νέου υποσυνόλου στον πληθυσμό των T-κυττάρων.<sup>80</sup> Αυτός ο νέος πληθυσμός, τα Th17 κύτταρα, χαρακτηρίζεται από την ικανότητα να εκκρίνει τις κυτταροκίνες IL-17A (γνωστή ως IL-17), IL-17F, IL-21, IL-22 και IL-26 (εικ. 1).<sup>81</sup> Η διαφοροποίησή τους ρυθμίζεται από έναν παράγοντα μεταγραφής, τον RORγt, ο οποίος κατευθύνει προς ένα συγκεκριμένο κληρονομικό προφίλ κυτταροκινών. Η έλλειψη του RORγt έχει ως αποτέλεσμα τη μειωμένη δραστηριότητα των Th17 κυττάρων και τη σοβαρή μείωση των επιπέδων της IL-17.<sup>82</sup> Έχει δειχθεί ότι τα HCV-ειδικά Th17 κύτταρα καταστέλλονται από τον TGF-β, ο οποίος μαζί με τις IL-23 και IL-6 ρυθμίζει τη διαφοροποίηση των Th17 κυττάρων, με επακόλουθη παραγωγή IL-17.<sup>83</sup> Επίσης, η IL-21 φαίνεται ότι ενισχύει τη δράση των Th17 κυττάρων.<sup>84</sup>

Η IL-17 έχει πέντε υποδοχείς, τον IL-17RA, τον IL-17RB, τον IL-17RC, τον IL-17RD και τον IL-17RE. Η πανταχού παρουσία των υποδοχέων της σημαίνει ότι έχει τη δυνατότητα να ενεργεί σε ένα ευρύ φάσμα κυτταρικών στόχων. Οι IL-17 και IL-17F εκκρίνονται από τα ενεργοποιημένα CD4+ και CD8+ T-λεμφοκύτταρα, τα CD3+CD4-CD8- T κύτταρα, τα γδ T κύτταρα και τα πολυμορφοπύρνα. Πρωταρχικά, λειτουργούν ως προφλεγμονώδεις ρυθμιστές, επάγοντας την τοπική παραγωγή της IL-6, της προσταγλανδίνης E2 και του NO, και κυρίως «επανδρώνοντας» με μονοκύτταρα και ουδετερόφιλα την περιοχή της φλεγμονής.<sup>85</sup>

Όλο και περισσότερες μελέτες περιγράφουν την IL-17 ως ισχυρό ρυθμιστή της αυτοάνοσης παθογένεσης και διαφόρων φλεγμονωδών νοσημάτων.<sup>86</sup> Άλλες μελέτες καταδεικνύουν το σημαντικό ρόλο που διαδραματίζουν τα Th17 κύτταρα σε πολλά νοσήματα του ήπατος, όπως η αλκοολική ηπατοπάθεια, η χρόνια ηπατίτιδα B, η αυτοάνοση ηπατίτιδα και ο ΗΚΚ, συμβάλλοντας έτσι στην καταστροφή του ήπατος και στην εξέλιξη της νόσου.<sup>87,88</sup>

Πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C είχαν αυξημένα ποσοστά Th17 κυττάρων, καθώς και των επιπέδων IL-17. Επίσης, έδειξαν ότι τα Th17 κύτταρα σχετίστηκαν με τη σοβαρότητα της φλεγμονής και τα επίπεδα της ALT. Παρ' όλα αυτά, δεν βρέθηκε σχέση της

IL-17 με τα επίπεδα ALT και το ιικό φορτίο,<sup>99</sup> ενώ σε άλλη έρευνα τα υψηλά επίπεδα της IL-17F σχετίστηκαν με τις αυξημένες τιμές AST.<sup>90</sup>

Οι κυτταροκίνες των Th17 κυττάρων έχουν αρχίσει να μελετώνται και κατά τη διάρκεια της θεραπείας ασθενών με χρόνια ηπατίτιδα C. Σε πρόσφατη μελέτη, τα επίπεδα της IL-17 βρέθηκαν αυξημένα στον ορό ασθενών με HCV, αλλά οι τιμές της δεν σχετίστηκαν με το ιικό φορτίο 12 εβδομάδες μετά τη χορήγηση pegIFN/RBV.<sup>69</sup> Αντίθετα, σε μια άλλη μελέτη τα επίπεδα των κυτταροκινών Th17 μειώθηκαν μετά από 12 εβδομάδες θεραπείας, ενισχύοντας την άποψη ότι η ανοσορρυθμιστική επίδραση των Th17 κυττάρων δεν συνοδεύεται απαραίτητα από έλεγχο του ιικού φορτίου.<sup>91</sup>

Γίνεται όλο και περισσότερο σαφές ότι τα Th17 κύτταρα διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην ανοσοπαθολογία του HCV. Όμως, πολλά ερωτήματα παραμένουν αναπάντητα και νέες προκλήσεις προκύπτουν. Απαιτούνται νέες μελέτες με σκοπό τη διερεύνηση της ισορροπίας μεταξύ Th1/Th17 και Treg σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C. Σημαντική επίσης είναι η αναζήτηση αν η Th17 ανοσιακή απάντηση είναι επιβλαβής ή ευεργετική στην άμυνα του ξενιστή έναντι του HCV.

**Χυμική ανοσία.** Η χυμική ανοσία αναφέρεται στην παραγωγή αντισωμάτων και στις διεργασίες που τη συνοδεύουν, όπως η Th2 ενεργοποίηση, η παραγωγή κυτταροκινών και οι λειτουργίες των αντισωμάτων (εικ. 1). Στη χρόνια ηπατίτιδα C ειδικά αντισώματα ανιχνεύονται 7–31 εβδομάδες μετά από την αρχική μόλυνση.<sup>92</sup> Η παρουσία τους όμως δεν έχει αποδειχθεί ότι επηρεάζει την πορεία της χρόνιας ηπατίτιδας C, σε αντίθεση με τη χρόνια ηπατίτιδα B, όπου έχει διαλευκανθεί ο ρόλος τους.<sup>93</sup> Άλλωστε, η κάθαρση από τον HCV φαίνεται ότι επιτυγχάνεται και σε ανοσοκατασταλμένους ασθενείς (π.χ. υπογαμμασφαιριναιμία) που δεν διαθέτουν χυμική ανοσιακή απόκριση.<sup>94</sup>

Εν τούτοις, είναι σαφές ότι μόλις εγκατασταθεί η λοίμωξη τα αντισώματα αυξάνουν και παρουσιάζουν διασταυρούμενη αντίδραση κατά διαφόρων γονοτύπων του HCV.<sup>92</sup> Αν και δεν επιτυγχάνουν κάθαρση σε αυτό το στάδιο, συνεχίζουν να ασκούν επιλεκτικά πίεση σε ιικές παραλλαγές και έτσι συμβάλλουν στην εξέλιξη των αλληλουχιών του HCV κατά τη διάρκεια της λοίμωξης.<sup>95</sup> Η συγκέντρωση αντισωμάτων IgG και η συχνότητα των B-λεμφοκυττάρων που εκκρίνουν IgG, επίσης αυξάνουν στη χρόνια ηπατίτιδα C. Παρά την αύξηση, όμως, τα περισσότερα IgG δεν είναι ειδικά. Έτσι, προτάθηκε ότι ο HCV ρυθμίζει τα B κύτταρα με έναν τρόπο ανεξάρτητο του υποδοχέα των B κυττάρων. Αυτό συνάδει με την *in vitro* επίδειξη του ότι τα CD27+ B-λεμφοκύτταρα ασθενών με HCV εμφανίζουν ενισχυμένη μετατροπή σε κύτταρα που εκκρίνουν IgG, παράλληλα με τη μείωση

του πολλαπλασιασμού και την ταχεία απόπτωσή τους.<sup>96</sup> Η μονο- και η πολυκλωνική επέκταση των B κυττάρων έχει επίσης παρατηρηθεί και, όπως αναλύεται παρακάτω, μπορεί να εξελιχθεί σε μικτή κρουσφαιριναιμία (MK) τύπου II ή ακόμη και σε B κυτταρικές κακοήθειες, όπως το non-Hodgkin λέμφωμα (nHL).<sup>97</sup>

Για την ομαλή ανάπτυξη των B κυττάρων απαιτείται η παρουσία του ενεργοποιητικού παράγοντα των B-λεμφοκυττάρων (B-cell activating factor, BAFF), γνωστού και ως διεγέρτη των B-λεμφοκυττάρων (B-lymphocyte stimulator, BLyS) ή TALL-1 (Apo-L related leucocyte expressed ligand-1), που ανήκει στην οικογένεια των κυτταροκινών TNF (TNFSF13B).<sup>98</sup> Ο ανθρώπινος BAFF είναι μια πρωτεΐνη 285 αμινοξέων που κωδικοποιείται στο χρωμόσωμα 13q32-34 και παράγεται κυρίως από μυελοειδή αλλά και από μη λεμφοειδή κύτταρα. Φαίνεται ότι ο BAFF αρχικά εκφράζεται στα μακροφάγα και τα DC και εξελικτικά διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο στην ωρίμανση και στην επιβίωση των B-λεμφοκυττάρων.<sup>99</sup> Η παραγωγή του ρυθμίζεται από την IFN-γ και την IL-10 κατά τη διάρκεια καταστάσεων φλεγμονής ή και χρόνιων λοιμώξεων.<sup>100</sup>

Μελέτες έδειξαν ότι η υπερέκφραση του BAFF σχετίζεται με αυτοάνοσες παθήσεις όπως το σύνδρομο Sjögren και ο συστηματικός ερυθρεματώδης λύκος. Το γεγονός αυτό οδήγησε στη δημιουργία ενός μονοκλωνικού αντισώματος που αναγνωρίζει και αναστέλλει τον BAFF και το οποίο βρίσκεται ήδη σε κλινικές δοκιμές που περιλαμβάνουν ασθενείς με αυτοάνοσες παθήσεις.

Στη χρόνια ηπατίτιδα C παρατηρείται σημαντική αύξηση των επιπέδων BAFF και ιδιαίτερα όταν συνοδεύεται από αυτοάνοσες εκδηλώσεις (αρθραλγίες, αγγειίτιδα, παρουσία κρουσφαιρινών και αντικαρδιολιπινικών αντισωμάτων).<sup>101,102</sup> Επί πλέον, σε ασθενείς με αυτοάνοση ηπατίτιδα βρέθηκαν υψηλότερα επίπεδα του BAFF σε σύγκριση με ασθενείς που έπασχαν από οξεία ηπατίτιδα ή χρόνια ηπατίτιδα C.<sup>101</sup> Τα αυξημένα επίπεδα σε HCV λοίμωξη θεωρείται ότι ρυθμίζουν την ευαισθησία των B κυττάρων για απόπτωση, παρατείνοντας την επιβίωση και αντιπροσωπεύοντας έτσι έναν επί πλέον πιθανό παράγοντα στην κλωνική επέκταση των B κυττάρων.

Σημαντική βρέθηκε η σχέση του BAFF με την ηπατική ίνωση, αν και τα επίπεδα του BAFF δεν σχετίστηκαν με το ιικό φορτίο, με το γονότυπο ή με το βαθμό της ιστολογικής φλεγμονής.<sup>102</sup> Επίσης, μετρήθηκαν τα επίπεδα κατά τη θεραπεία με pegIFN/RBV και παρατηρήθηκε αύξηση του BAFF. Η επίδραση αυτή ήταν ανεξάρτητη από την επιτυχή κατάληξη της θεραπείας με κάθαρση του ιού.<sup>101</sup> Φαίνεται επίσης ότι η pegIFN-α παρά η RBV μπορεί να οδηγήσει σε αύξηση του BAFF.<sup>103</sup> Αξιοσημείωτη είναι και η παρατήρηση ότι ασθενείς με HCV με MK ή και NHL είχαν διπλάσιες και

τριπλάσιες τιμές, αντίστοιχα, σε σχέση με ασθενείς χωρίς κρουσφαιριναιμία ή NHL.<sup>104</sup>

#### 4. ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΕΣ ΚΑΙ ΗΠΑΤΙΚΗ ΒΛΑΒΗ

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

Όταν το ανοσιακό σύστημα αποτύχει να ελέγξει την αντιγραφή του ιού, τα μολυσμένα ηπατοκύτταρα εκκρίνουν IFN- $\gamma$ , η οποία επάγει χημειοκίνες όπως οι CXCL9, CXCL10 και CXCL11. Τα μόρια αυτά συμβάλλουν στη μετανάστευση μη ειδικών μονοπύρηνων κυττάρων στο ήπαρ, τα οποία αδυνατούν να ελέγξουν τη λοίμωξη με αποτέλεσμα τη βλάβη του ήπατος.<sup>105</sup> Η αναστολή των χημειοκινών αυτών περιορίζει τη μετανάστευση, οπότε μειώνεται η φλεγμονή στο ήπαρ.<sup>106</sup>

Τελικά, εξ αιτίας της χρόνιας φλεγμονής δημιουργούνται μηχανισμοί αναγέννησης του ηπατικού παρεγχύματος. Πολλοί παράγοντες διευκολύνουν τη διαδικασία της αναγέννησης, μεταξύ των οποίων οι κυτταροκίνες IL-6, TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$  και EGF. Επί πλέον, ενεργοποιούνται και άλλοι παράγοντες μεταγραφής, όπως ο πυρηνικός παράγοντας κB, ο μετατροπέας σήματος και ο ενεργοποιητής της μεταγραφάσης 3, οι οποίοι και προκαλούν την έναρξη ενός καταρράκτη που οδηγεί στον πολλαπλασιασμό των ηπατοκυττάρων.<sup>107</sup>

Οι IFNs τύπου I προάγουν επίσης την παραγωγή χημειοκινών από τα κύτταρα Kupffer και κυτταροκινών από τα NK κύτταρα (IL-12, IL-18, IFN- $\gamma$ ), τα οποία επιτείνουν την ενεργοποίηση των CD4+ κυττάρων. Τα ενεργοποιημένα T κύτταρα παράγουν επίσης τις IL-10 και IL-4, που ενισχύουν την αντιφλεγμονώδη δράση. Η παρατεταμένη φλεγμονή ενεργοποιεί περαιτέρω τα ηπατικά αστεροειδή κύτταρα και τους ινοβλάστες, που ευνοούν την ηπατική ίνωση. Η ενεργοποίηση αυτών των κυττάρων ρυθμίζεται από προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες, όπως οι TGF- $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , PDGF, και τη χημειοκίνη CCL21 (μοτίβο CC και ligand 21).<sup>108</sup>

#### 5. ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΕΣ ΚΑΙ ΚΡΥΟΣΦΑΙΡΙΝΑΙΜΙΑ

Ο HCV, εκτός από την ηπατική προσβολή, ευθύνεται και για εξωηπατικές βλάβες περίπου στο 40% των ασθενών. Η MK αποτελεί μια από τις σημαντικότερες και δυνητικά παρουσιάζεται στο πλαίσιο αυτοανοσίας ή χρόνιων λοι-

μύξεων. Ο όρος πρωτοπαθής χαρακτηρίζε το σύνδρομο κρουσφαιριναιμίας στο οποίο δεν υπήρχε υποκείμενη πάθηση. Σήμερα, είναι γνωστό ότι οφείλεται στη χρόνια ηπατίτιδα C.

Κλινικά το σύνδρομο χαρακτηρίζεται από πορφύρα, αρθραλγία και αδυναμία (τριάδα Meltzer) και μπορεί να προκαλέσει μεμβρανοϋπερπλαστική σπειραματονεφρίτιδα, περιφερική νευροπάθεια, δερματικά έλκη και διάχυτη αγγειίτιδα. Το ήπαρ συμμετέχει στο 70% των περιπτώσεων, συχνά με ιστοπαθολογική εικόνα χρόνιας ενεργού ηπατίτιδας, με ή χωρίς κίρρωση. Η νόσος είναι το αποτέλεσμα εναπόθεσης κυκλοφορούντων ανοσοσυμπλεγμάτων (κρουσφαιρινών) στα τοιχώματα μικρού και μεσαίου μεγέθους αγγείων. Ανάλογα με την παρουσία πολυκλωνικών ή ολιγοκλωνικών IgM διακρίνεται σε τρεις τύπους, αλλά στο 55–86% των ασθενών με χρόνια λοίμωξη από HCV είναι συνήθως τύπου II και III, ενώ μόνο σε <15% των ασθενών αυτών προκαλεί συμπτώματα.

Ο HCV διαθέτει τροπισμό για τα περιφερικά λεμφοκύτταρα, τα οποία μπορεί να χρησιμεύουν ως αποθήκες και τόπος αναπαραγωγής του. Μπορεί ακόμη να διεγείρει τα κυκλοφορούντα B-λεμφοκύτταρα να παράγουν IgM RF, μονοκλωνικού (II) και πολυκλωνικού (III) τύπου. Η MK αφορά σε συμπλέγματα Ig/anti-Ig, ενώ συχνά περιλαμβάνει άλλες πρωτεΐνες όπως οι β-λιποπρωτεΐνες.

Επειδή η υποκείμενη διαταραχή της κρουσφαιριναιμίας είναι η ανάπτυξη των B κυττάρων που παράγουν ρευματοειδή παράγοντα, η κατάσταση αυτή θεωρείται ως καλοήθης B κυτταρική λεμφοϋπερπλαστική νόσος.<sup>109</sup> Πολλά στοιχεία πιθανολογούν ότι η χρόνια ρύθμιση των B κυττάρων από ιογενείς επιτόπους μπορεί να διαδραματίζει σημαντικό ρόλο.<sup>110</sup> Επί πλέον, πολλοί υποστηρίζουν ότι η παθογένεση βασίζεται στην αναστολή της απόπτωσης των B κυττάρων, που οδηγεί σε προοδευτική συσσώρευσή τους. Το γεγονός αυτό υποστηρίζεται από τα ιστοπαθολογικά χαρακτηριστικά της λεμφοκυτταρικής εναπόθεσης στο ήπαρ και στο μυελό των οστών, καθώς και από τον υψηλό επιπολασμό της αναδιάταξης bcl-2 σε ασθενείς με MK. Άλλωστε, η εξάλειψη των B κυττάρων αποτελεί μια ορθολογιστική θεραπευτική λύση. Για το λόγο αυτόν επιχειρείται η χορήγηση της ριτουξιμάμπης, ενός χημειοκινικού αντισώματος anti-CD20, μόνης της ή σε συνδυασμό με αντι-ιική αγωγή.<sup>111</sup>

Οι χημειοκίνες μπορούν να οδηγήσουν στη δημιουργία μικροπεριβάλλοντος επαρκούς για την ενεργοποίηση και την ανάπτυξη των B-λεμφοκυττάρων. Η χημειοκίνη CXCL13 (μοτίβο CXC και ligand 13), γνωστή και ως BCA-1 (B cell-attracting chemokine-1), αποτελεί κύριο ρυθμιστή των B κυττάρων. Τα υψηλά επίπεδά της στον ορό ασθενών με κρουσφαιριναιμία παραλληλίστηκαν με αυτά της ειδικής

mRNA έκφρασης στο ήπαρ και στο δέρμα, προτείνοντας ότι αποτελεί βασικό παράγοντα στην παθογένεση της βλάβης που προκαλείται από τις κρουσφαιρίνες.<sup>112</sup> Επί πλέον, τα επίπεδα του παράγοντα BAFF, όπως έχει περιγραφεί παραπάνω, σχετίζονται με τον πολλαπλασιασμό των Β κυττάρων.

Αρκετές μελέτες έδειξαν αύξηση της IFN-γ και των χημειοκινών που επάγει η IFN-γ, κυρίως της CXCL10, στα ηπατοκύτταρα και στα λεμφοκύτταρα ασθενών με HCV, αλλά και άμεσης σχέσης του βαθμού ηπατικής φλεγμονής με αυξημένα στην κυκλοφορία επίπεδα των IFN-γ και CXCL10.<sup>113</sup> Επίσης, πολλές είναι οι μελέτες που έχουν αναδείξει την ισχυρή σχέση μεταξύ της IFN-γ και του CXCL11, υποστηρίζοντας το ρόλο της Th1 ανοσιακής απόκρισης στην παθογένεση της κρουσφαιριναιμίας σε ασθενείς που πάσχουν από τον HCV.<sup>114</sup> Οι προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες IL-1b, IL-6 και TNF-α έχουν επίσης αξιολογηθεί σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C και MK και βρέθηκε υψηλότερη μέση τιμή των κυτταροκινών αυτών συγκριτικά με άτομα που δεν είχαν κρουσφαιριναιμία.

Τα παραπάνω δεδομένα υπογραμμίζουν τη σημασία της ενεργοποίησης της Th1 ανοσίας στην ανοσοπαθογένεση

της κρουσφαιριναιμίας σε ασθενείς με HCV λοίμωξη. Επί πλέον, δείχνουν μια σύνθετη δυσλειτουργία του δικτύου κυτταροκίνης/χημειοκίνης που περιλαμβάνει και τις προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες.

## 6. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Οι κυτταροκίνες αποτελούν βασικούς ρυθμιστές τόσο της ιικής κάθαρσης όσο και της ηπατικής βλάβης που προκαλείται από τον HCV. Το δίκτυο των κυτταροκινών αρχίζει τη δράση του άμεσα, επιτρέποντας την ανάπτυξη της ανοσιακής απόκρισης. Το προφίλ των κυτταροκινών στη χρόνια ηπατίτιδα C έχει μελετηθεί εκτεταμένα και έγινε εμφανής ο ρόλος των T βοηθητικών και των T κυτταροτοξικών κυττάρων στην παθογένεση της ηπατίτιδας C. Η ανακάλυψη όμως ενός νέου υποτύπου, των Th17 βοηθητικών κυττάρων, έθεσε υπό αμφισβήτηση την επικράτηση της θεωρίας του Th1/Th2 ως βασικού μοντέλου. Η πλέον σημαντική εξωηπατική εκδήλωση της χρόνιας ηπατίτιδας C, η MK, σχετίζεται με έναν πολύπλοκο μηχανισμό απορρύθμισης του δικτύου κυτταροκινών/χημειοκινών, που αφορούν μέχρι σήμερα στις Th1 και στις προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες.

## ABSTRACT

### The role of cytokines in chronic hepatitis C

P.I. KONSTANTINIDES, S.P. DOURAKIS

*Second Department of Medicine, "Hippokration" General Hospital, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece*

*Archives of Hellenic Medicine 2013, 30(6):659–674*

Infection by hepatitis C virus causes chronic disease in approximately 3% of the population of the earth, and results in chronic inflammation and cirrhosis of the liver. At present there is no effective treatment for all patients, and no vaccine has been developed. The immune response against hepatitis C virus is being investigated, in order both to understand the mechanisms of the disease and to formulate new therapeutic approaches. Cytokines are soluble molecules of a communication network among the cells that is responsible for regulating the immune response. This complex network of cytokines begins operating during the initial phase of infection, allowing the development of innate and adaptive immunity, and it not only participates in controlling the virus but also results in damage to the liver, leading ultimately to cirrhosis. Mixed cryoglobulinemia, one of the most serious extrahepatic manifestations of hepatitis C, is also characterized by deregulation of the cytokine network and impaired development of B lymphocytes. The cytokine profile in hepatitis C has been extensively studied and new evidence is continually being reported. Interferon type III, which contributes to antiviral immunity, interleukin-33, one of the youngest members of the interleukin-1 family, the new subtype of T helper lymphocytes producing interleukin 17 and B cell activating factor associated with the cryoglobulinemia of chronic hepatitis C, have all been documented as playing a role. This is a review of recent data derived from basic research and clinical studies on cytokines in the immune response of patients with chronic hepatitis C, and cryoglobulinemia induced by hepatitis C virus.

**Key words:** Chemokines, Cryoglobulinemia, Cytokines, Hepatitis C, Immune response

## Βιβλιογραφία

- LAVANCHY D. The global burden of hepatitis C. *Liver Int* 2009, 29(Suppl 1):74–81
- LIANG TJ, REGERMANN B, SEEFF LB, HOOFNAGLE JH. Pathogenesis, natural history, treatment, and prevention of hepatitis C. *Ann Intern Med* 2000, 132:296–305
- DAVIS GL, ALBRIGHT JE, COOK SF, ROSENBERG DM. Projecting future complications of chronic hepatitis C in the United States. *Liver Transpl* 2003, 9:331–338
- TANAKA Y, HANADA K, MIZOKAMI M, YEO AE, SHIH JW, GOJOBORI T ET AL. A comparison of the molecular clock of hepatitis C virus in the United States and Japan predicts that hepatocellular carcinoma incidence in the United States will increase over the next two decades. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002, 99:15584–15589
- CHOO QL, KUO G, WEINER AJ, OVERBY LR, BRADLEY DW, HOUGHTON M. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science* 1989, 244:359–362
- BODE JG, BRENNDÖRFER ED, KARTHE J, HÄUSSINGER D. Interplay between host cell and hepatitis C virus in regulating viral replication. *Biol Chem* 2009, 390:1013–1032
- PERELSON AS, HERRMANN E, MICOL F, ZEJEM S. New kinetic models for the hepatitis C virus. *Hepatology* 2005, 42:749–754
- STEINKE JW, BORISH L. Cytokines and chemokines. *J Allergy Clin Immunol* 2006, 117(Suppl 2):441–445
- FALLAHI P, FERRI C, FERRARI SM, CORRADO A, SANSONNO D, ANTONELLI A. Cytokines and HCV-related disorders. *Clin Dev Immunol* 2012, 2012:468107
- BOGDANOS DP, LENZI M, OKAMOTO M, RIGOPOULOU EL, MURATORI P, MA Y ET AL. Multiple viral/self immunological cross-reactivity in liver kidney microsomal antibody positive hepatitis C virus infected patients is associated with the possession of HLA B51. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2004, 17:83–92
- SOBUE S, NOMURA T, ISHIKAWA T, ITO S, SASO K, OHARA H ET AL. Th1/Th2 cytokine profiles and their relationship to clinical features in patients with chronic hepatitis C virus infection. *J Gastroenterol* 2001, 36:544–551
- SU AL, PEZACKI JP, WODICKA L, BRIDEAU AD, SUPEKOVA L, THIMME R ET AL. Genomic analysis of the host response to hepatitis C virus infection. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002, 99:15669–15674
- SHIN EC, SEIFERT U, KATO T, RICE CM, FEINSTONE SM, KLOETZEL PM ET AL. Virus-induced type I IFN stimulates generation of immunoproteasomes at the site of infection. *J Clin Invest* 2006, 116:3006–3014
- TAKAHASHI K, ASABE S, WIELAND S, GARAIGORTA U, GASTAMINZA P, ISOGAWA M ET AL. Plasmacytoid dendritic cells sense hepatitis C virus-infected cells, produce interferon, and inhibit infection. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010, 107:7431–7436
- BODE JG, BRENNDÖRFER ED, HÄUSSINGER D. Hepatitis C virus (HCV) employs multiple strategies to subvert the host innate antiviral response. *Biol Chem* 2008, 389:1283–1298
- DAHARI H, MAJOR M, ZHANG X, MIHALIK K, RICE CM, PERELSON AS ET AL. Mathematical modeling of primary hepatitis C infection: Noncytolytic clearance and early blockage of virion production. *Gastroenterology* 2005, 128:1056–1066
- POLYAK SJ, KHABAR KS, PASCHAL DM, EZELLE HZ, DUVERLIE G, BARBER GN ET AL. Hepatitis C virus nonstructural 5A protein induces interleukin-8, leading to partial inhibition of the interferon-induced antiviral response. *J Virol* 2001, 75:6095–6106
- ANDONIOU CE, ANDREWS DM, DEGLI-ESPOSTI MA. Natural killer cells in viral infection: More than just killers. *Immunol Rev* 2006, 214:239–250
- MORETTA A. Natural killer cells and dendritic cells: Rendez-vous in abused tissues. *Nat Rev Immunol* 2002, 2:957–964
- THIMME R, WIELAND S, STEIGER C, GHRAYEB J, REIMANN KA, PURCELL RH ET AL. CD8(+) T cells mediate viral clearance and disease pathogenesis during acute hepatitis B virus infection. *J Virol* 2003, 77:68–76
- TSENG CT, KLIMPEL GR. Binding of the hepatitis C virus envelope protein E2 to CD81 inhibits natural killer cell functions. *J Exp Med* 2002, 195:43–49
- GEISSMANN F, CAMERON TO, SIDOBRE S, MANLONGAT N, KRONENBERG M, BRISKIN MJ ET AL. Intravascular immune surveillance by CXCR6+ NKT cells patrolling liver sinusoids. *PLoS Biol* 2005, 3:e113
- YAMAGIWA S, MATSUDA Y, ICHIDA T, HONDA Y, TAKAMURA M, SUGAHARA S ET AL. Sustained response to interferon-alpha plus ribavirin therapy for chronic hepatitis C is closely associated with increased dynamism of intrahepatic natural killer and natural killer T cells. *Hepatol Res* 2008, 38:664–672
- DE LALLA C, GALLI G, ALDRIGHETTI L, ROMEO R, MARIANI M, MONNO A ET AL. Production of profibrotic cytokines by invariant NKT cells characterizes cirrhosis progression in chronic viral hepatitis. *J Immunol* 2004, 173:1417–1425
- PERRELLA A, ATRIPALDI L, BELLOPEDE P, PATARINOT, SBREGLIA C, TARANTINO G ET AL. Flow cytometry assay of myeloid dendritic cells (mDCs) in peripheral blood during acute hepatitis C: Possible pathogenetic mechanisms. *World J Gastroenterol* 2006, 12:1105–1109
- MENGSHOL JA, GOLDEN-MASON L, CASTELBLANCO N, IM KA, DILLON SM, WILSON CC ET AL. Impaired plasmacytoid dendritic cell maturation and differential chemotaxis in chronic hepatitis C virus: Associations with antiviral treatment outcomes. *Gut* 2009, 58:964–973
- DECALF J, FERNANDES S, LONGMAN R, AHLLOULAY M, AUDAT F, LEFRERRE F ET AL. Plasmacytoid dendritic cells initiate a complex chemokine and cytokine network and are a viable drug target in chronic HCV patients. *J Exp Med* 2007, 204:2423–2437
- ANTHONY DD, YONKERS NL, POST BA, ASAAD R, HEINZEL FO, LEDERMAN MM ET AL. Selective impairments in dendritic cell-associated function distinguish hepatitis C and HIV infection. *J Immunol* 2004, 172:4907–4916
- SZABO G, DOLGANIUC A. Subversion of plasmacytoid and myeloid dendritic cell functions in chronic HCV infection. *Immunobiology* 2005, 210:237–247
- BELLECAVE P, MORADPOUR D. A fresh look at interferon-alpha signaling and treatment outcomes in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2008, 48:1330–1333
- BEUTLER B, VAN HUFFEL C. Unraveling function in the TNF ligand and receptor families. *Science* 1994, 264:667–668
- NEUMAN MG, SCHMILOVITZ-WEISS H, HILZENRAT N, BOURLIERE M,

- MARCELLIN P, TREPO C ET AL. Markers of inflammation and fibrosis in alcoholic hepatitis and viral hepatitis C. *Int J Hepatol* 2012, 2012:231210
33. AVRĂMESCU CS, COMĂNESCU CS, POPESCU SN, TURCULEANU A, BĂLĂȘOIU M, POPESCU CF ET AL. Correlations among the serum levels of some interleukins and the histopathological aspects in chronic viral hepatitis C. *Rom J Morphol Embryol* 2008, 49:57–62
  34. MAROTTE H, FONTANGES E, BAILLY F, ZOULIM F, TREPO C, MIOSSÉC P. Etanercept treatment for three months is safe in patients with rheumatological manifestations associated with hepatitis C virus. *Rheumatology (Oxford)* 2007, 46:97–99
  35. ICHIKAWA T, NAKAO K, NAKATA K, YAMASHITA M, HAMASAKI K, SHIGENO M ET AL. Involvement of IL-1beta and IL-10 in IFN-alpha-mediated antiviral gene induction in human hepatoma cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2002, 294:414–422
  36. WANG Y, KATO N, HOSHIDA Y, YOSHIDA H, TANIGUCHI H, GOTO T ET AL. Interleukin-1beta gene polymorphisms associated with hepatocellular carcinoma in hepatitis C virus infection. *Hepatology* 2003, 37:65–71
  37. SCHMITZ J, OWYANG A, OLDHAM E, SONG Y, MURPHY E, McCLANAHAN TK ET AL. IL-33, an interleukin-1-like cytokine that signals via the IL-1 receptor-related protein ST2 and induces T helper type 2-associated cytokines. *Immunity* 2005, 23:479–490
  38. MARVIE P, LISBONNE M, L'HELGOUALCH A, RAUCH M, TURLIN B, PREISSER L ET AL. Interleukin-33 overexpression is associated with liver fibrosis in mice and humans. *J Cell Mol Med* 2010, 14:1726–1739
  39. WANG J, ZHAO P, GUO H, SUN X, JIANG Z, XU L ET AL. Serum IL-33 levels are associated with liver damage in patients with chronic hepatitis C. *Mediators Inflamm* 2012, 2012:819636
  40. MIKADZEI, VASHAKIDZE E. The serum level of interleukin-12 among patients with HCV infection. *Georgian Med News* 2011, 201:40–45
  41. UZÉ G, MONNERON D. IL-28 and IL-29: Newcomers to the interferon family. *Biochimie* 2007, 89:729–734
  42. DOLGANIUC A, KODYS K, MARSHALL C, SAHA B, ZHANG S, BALA S ET AL. Type III interferons, IL-28 and IL-29, are increased in chronic HCV infection and induce myeloid dendritic cell-mediated FoxP3+ regulatory T cells. *PLoS One* 2012, 7:e44915
  43. MARUKIAN S, ANDRUS L, SHEAHAN TO, JONES CT, CHARLES ED, PLOSS A ET AL. Hepatitis C virus induces interferon-λ and interferon-stimulated genes in primary liver cultures. *Hepatology* 2011, 54:1913–1923
  44. KELLY C, KLENERMAN P, BARNES E. Interferon lambdas: The next cytokine storm. *Gut* 2011, 60:1284–1293
  45. FERNANDEZ EJ, LOLIS E. Structure, function, and inhibition of chemokines. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2002, 42:469–499
  46. MURPHY PM, BAGGIOLINI M, CHARO IF, HÉBERT CA, HORUK R, MATSUSHIMA K ET AL. International union of pharmacology. XXII. Nomenclature for chemokine receptors. *Pharmacol Rev* 2000, 52:145–176
  47. ZLOTNIK A, YOSHIE O. Chemokines: A new classification system and their role in immunity. *Immunity* 2000, 12:121–127
  48. HORUK R. Chemokine receptors. *Cytokine Growth Factor Rev* 2001, 12:313–335
  49. APOLINARIO A, DIAGO M, LO LACONO O, LORENTE R, PÉREZ C, MAJANO PL ET AL. Increased circulating and intrahepatic T-cell-specific chemokines in chronic hepatitis C: Relationship with the type of virological response to peginterferon plus ribavirin combination therapy. *Aliment Pharmacol Ther* 2004, 19:551–562
  50. BUTERA D, MARUKIAN S, IWAMAYE AE, HEMBRADOR E, CHAMBERS TJ, DI BISCEGLIA AM ET AL. Plasma chemokine levels correlate with the outcome of antiviral therapy in patients with hepatitis C. *Blood* 2005, 106:1175–1182
  51. ROMERO AI, LAGGING M, WESTIN J, DHILLON AP, DUSTIN LB, PAWLOTSKY JM ET AL. Interferon (IFN)-gamma-inducible protein-10: Association with histological results, viral kinetics, and outcome during treatment with pegylated IFN-alpha 2a and ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *J Infect Dis* 2006, 194:895–903
  52. NISHIOJI K, OKANOUE T, ITOH Y, NARUMI S, SAKAMOTO M, NAKAMURA H ET AL. Increase of chemokine interferon-inducible protein-10 (IP-10) in the serum of patients with autoimmune liver diseases and increase of its mRNA expression in hepatocytes. *Clin Exp Immunol* 2001, 123:271–279
  53. ASKARIEH G, ALSIÖ A, PUGNALE P, NEGRO F, FERRARI C, NEUMANN AU ET AL. Systemic and intrahepatic interferon-gamma-inducible protein 10 kDa predicts the first-phase decline in hepatitis C virus RNA and overall viral response to therapy in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2010, 51:1523–1530
  54. HELBIG KJ, RUSZKIEWICZ A, SEMENDRICH L, HARLEY HA, McCOLL SR, BEARD MR. Expression of the CXCR3 ligand I-TAC by hepatocytes in chronic hepatitis C and its correlation with hepatic inflammation. *Hepatology* 2004, 39:1220–1229
  55. ZHU J, PAUL WE. CD4 T cells: Fates, functions, and faults. *Blood* 2008, 112:1557–1569
  56. THIMME R, OLDACH D, CHANG KM, STEIGER C, RAY SC, CHISARI FV. Determinants of viral clearance and persistence during acute hepatitis C virus infection. *J Exp Med* 2001, 194:1395–1406
  57. DIEPOLDER HM, ZACHOVAL R, HOFFMANN RM, WIERENGA EA, SANTANTONIO T, JUNG MC ET AL. Possible mechanism involving T-lymphocyte response to non-structural protein 3 in viral clearance in acute hepatitis C virus infection. *Lancet* 1995, 346:1006–1007
  58. DAY CL, LAUER GM, ROBBINS GK, McGOVERN B, McGOVERN B, WURCEL AG ET AL. Broad specificity of virus-specific CD4+ T-helper-cell responses in resolved hepatitis C virus infection. *J Virol* 2002, 76:12584–12595
  59. KAPLAN DE, SUGIMOTO K, NEWTON K, VALIGA ME, IKEDA F, AYTMAN A ET AL. Discordant role of CD4 T-cell response relative to neutralizing antibody and CD8 T-cell responses in acute hepatitis C. *Gastroenterology* 2007, 132:654–666
  60. GERLACH JT, DIEPOLDER HM, ZACHOVAL R, GRUENER NH, JUNG MC, ULSENHEIMER A ET AL. Acute hepatitis C: High rate of both spontaneous and treatment-induced viral clearance. *Gastroenterology* 2003, 125:80–88
  61. LECHNER F, WONG DK, DUNBAR PR, CHAPMAN R, CHUNG RT, DOHRENWEND P ET AL. Analysis of successful immune responses in persons infected with hepatitis C virus. *J Exp Med* 2000, 191:1499–1512
  62. ROSEN HR, MINER C, SASAKI AW, LEWINSOHN DM, CONRAD AJ, BAKKE A ET AL. Frequencies of HCV-specific effector CD4+ T cells by flow cytometry: Correlation with clinical disease stages. *Hepatology* 2002, 35:190–198

63. NASCIMBENI M, MIZUKOSHI E, BOSMANN M, MAJOR ME, MIHALIK K, RICE CM ET AL. Kinetics of CD4+ and CD8+ memory T-cell responses during hepatitis C virus rechallenge of previously recovered chimpanzees. *J Virol* 2003, 77:4781–4793
64. WEDEMEYER H, HE XS, NASCIMBENI M, DAVIS AR, GREENBERG HB, HOOFNAGLE JH ET AL. Impaired effector function of hepatitis C virus-specific CD8+ T cells in chronic hepatitis C virus infection. *J Immunol* 2002, 169:3447–3458
65. ALATRAKCHI N, GRAHAM CS, VAN DER VLIET HJ, SHERMAN KE, EXLEY MA, KOZIEL MJ. Hepatitis C virus (HCV)-specific CD8+ cells produce transforming growth factor beta that can suppress HCV-specific T-cell responses. *J Virol* 2007, 81:5882–5892
66. GRAMENZI A, ANDREONE P, LOGGI E, FOSCHI FG, CURSARO C, MARGOTTI M ET AL. Cytokine profile of peripheral blood mononuclear cells from patients with different outcomes of hepatitis C virus infection. *J Viral Hepat* 2005, 12:525–530
67. SAADOUN D, ROSENZWAJG M, JOLY F, SIX A, CARRAT F, THIBAUT V ET AL. Regulatory T-cell responses to low-dose interleukin-2 in HCV-induced vasculitis. *N Engl J Med* 2011, 365:2067–2077
68. FATHY A, AHMED AS, METWALLY L, HASSAN A. T helper type 1/T helper type 17-related cytokines in chronic hepatitis C patients before and after interferon and ribavirin therapy. *Med Princ Pract* 2011, 20:345–349
69. WANG X, CHEN M, WANDINGER KP, WILLIAMS G, DHIB-JALBUT S. IFN-beta-1b inhibits IL-12 production in peripheral blood mononuclear cells in an IL-10-dependent mechanism: relevance to IFN-beta-1b therapeutic effects in multiple sclerosis. *J Immunol* 2000, 165:548–557
70. LI DH, KUMANOGOH A, CAO TM, PARNES JR, CULLEN JM. Woodchuck interleukin-6 gene: structure, characterization and biologic activity. *Gene* 2004, 342:157–164
71. FALASCA K, UCCIFERRI C, DALESSANDRO M, ZINGARIELLO P, MANCINO P, PETRARCA C ET AL. Cytokine patterns correlate with liver damage in patients with chronic hepatitis B and C. *Ann Clin Lab Sci* 2006, 36:144–150
72. HOWARD M, O'GARRA A. Biological properties of interleukin-10. *Immunol Today* 1992, 13:198–200
73. KANTO T, INOUE M, MIYAZAKI M, ITOSE I, MIYATAKE H, SAKAKIBARA M ET AL. Impaired function of dendritic cells circulating in patients infected with hepatitis C virus who have persistently normal alanine aminotransferase levels. *Intervirology* 2006, 49:58–63
74. RIGOPOULOU EL, ABBOTT WG, HAIGH P, NAOUMOV NV. Blocking of interleukin-10 receptor – a novel approach to stimulate T-helper cell type 1 responses to hepatitis C virus. *Clin Immunol* 2005, 117:57–64
75. MARCHANT A, DEVIÈRE J, BYL B, DE GROOTE D, VINCENT JL, GOLDMAN M. Interleukin-10 production during septicaemia. *Lancet* 1994, 343:707–708
76. PIAZZOLLA G, TORTORELLA C, SCHIRALDIO, ANTONACI S. Relationship between interferon-gamma, interleukin-10, and interleukin-12 production in chronic hepatitis C and *in vitro* effects of interferon-alpha. *J Clin Immunol* 2000, 20:54–61
77. ABEL M, SÈNE D, POL S, BOURLIÈRE M, POYNARD T, CHARLOTTE F ET AL. Intrahepatic virus-specific IL-10-producing CD8 T cells prevent liver damage during chronic hepatitis C virus infection. *Hepatology* 2006, 44:1607–1616
78. MARÍN-SERRANO E, RODRÍQUEZ-RAMOS C, DÍAZ F, MARTÍN-HERREIRA L, GIRÓN-GONZÁLEZ JA. Modulation of the anti-inflammatory interleukin 10 and of proapoptotic IL-18 in patients with chronic hepatitis C treated with interferon alpha and ribavirin. *Viral Hepat* 2006, 13:230–234
79. UMEMURA T, JOSHITA S, YONEDA S, KATSUYAMA Y, ICHIJO T, MATSUMOTO A ET AL. Serum interleukin (IL)-10 and IL-12 levels and IL28B gene polymorphisms: pretreatment prediction of treatment failure in chronic hepatitis C. *Antivir Ther* 2011, 16:1073–1080
80. HARRINGTON LE, MANGAN PR, WEAVER CT. Expanding the effector CD4 T-cell repertoire: the Th17 lineage. *Curr Opin Immunol* 2006, 18:349–356
81. DONG C. Th17 cells in development: An updated view of their molecular identity and genetic programming. *Nat Rev Immunol* 2008, 8:337–348
82. IVANOV II, MCKENZIE BS, ZHOU L, TADOKORO CE, LEPELLEY A, LAFAILLE JJ ET AL. The orphan nuclear receptor ROR $\gamma$  directs the differentiation program of proinflammatory IL-17+ T helper cells. *Cell* 2006, 126:1121–1133
83. McGEACHY MJ, CUA DJ. Th17 cell differentiation: the long and winding road. *Immunity* 2008, 28:445–453
84. KORN T, BETTELLI E, GAO W, AWASTHI A, JAEGER A, STROM TB ET AL. IL-21 initiates an alternate pathway to induce proinflammatory T(H)17 cells. *Nature* 2007, 448:484–487
85. MIOSECC P, KORNT, KUCHROOVK. Interleukin-17 and type 17 helper T cells. *N Engl J Med* 2009, 361:888–898
86. KOM T, BETTELLI E, OUKKA M, KUCHROOVK. IL-17 and Th17 cells. *Annu Rev Immunol* 2009, 27:485–517
87. ZHANG JP, YAN J, XU J, PANG XH, CHEN MS, LI L ET AL. Increased intratumoral IL-17-producing cells correlate with poor survival in hepatocellular carcinoma patients. *J Hepatol* 2009, 50:980–989
88. YANG B, WANG Y, ZHAO C, YAN W, CHE H, SHEN C ET AL. Increased Th17 cells and interleukin-17 contribute to immune activation and disease aggravation in patients with chronic hepatitis B virus infection. *Immunol Lett* 2013, 149:41–49
89. CHANG Q, WANG YK, ZHAO Q, WANG CZ, HU YZ, WU BY. Th17 cells are increased with severity of liver inflammation in patients with chronic hepatitis C. *J Gastroenterol Hepatol* 2012, 27:273–278
90. SOUSA GM, OLIVEIRA IS, ANDRADE LJ, SOUSA-ATTA ML, PARANÁ R, ATTA AM. Serum levels of Th17 associated cytokines in chronic hepatitis C virus infection. *Cytokine* 2012, 60:138–142
91. JIMENEZ-SOUSA MA, ALMANSA R, DE LA FUENTE C, CARO-PATON A, RUIZ L, SANCHEZ-ANTOLÍN G ET AL. Increased Th1, Th17 and profibrotic responses in hepatitis C-infected patients are down-regulated after 12 weeks of treatment with pegylated interferon plus ribavirin. *Eur Cytokine Netw* 2010, 21:84–91
92. LOGVINOFF C, MAJOR ME, OLDACH D, HEYWARD S, TALAL A, BALFE P ET AL. Neutralizing antibody response during acute and chronic hepatitis C virus infection. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004, 101:10149–10154
93. CHIEN DY, CHOO QL, TABRIZI A, KUO C, McFARLAND J, BERGER K ET AL. Diagnosis of hepatitis C virus (HCV) infection using an immunodominant chimeric polyprotein to capture circulating antibodies: Reevaluation of the role of HCV in liver disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992, 89:10011–10015
94. SEMMON, LUCAS M, KRASHIAS G, LAUER G, CHAPEL H, KLENERMAN

- P. Maintenance of HCV-specific T-cell responses in antibody-deficient patients a decade after early therapy. *Blood* 2006, 107:4570–4571
95. VON HAHN T, YOON JC, ALTER H, RICE CM, REHERMANN B, BALFE P ET AL. Hepatitis C virus continuously escapes from neutralizing and T-cell responses during chronic infection *in vivo*. *Gastroenterology* 2007, 132:667–678
  96. RACANELLI V, FRASSANITO MA, LEONE P, GALIANO M, DE RE V, SILVESTRI F ET AL. Antibody production and *in vitro* behavior of CD27-defined B-cell subsets: Persistent hepatitis C virus infection changes the rules. *J Virol* 2006, 80:3923–3934
  97. DAMMACCO F, SANSONNO D, PICCOLI C, RACANELLI V, D'AMORE FP, LAULETTA G. The lymphoid system in hepatitis C virus infection: Autoimmunity, mixed cryoglobulinemia, and overt B-cell malignancy. *Semin Liver Dis* 2000, 20:143–157
  98. MOORE PA, BELVEDERE O, ORR A, PIERI K, LaFLEUR DW, FENG P ET AL. BlyS: Member of the tumor necrosis factor family and B lymphocyte stimulator. *Science* 1999, 285:260–263
  99. SCHNEIDER O, MCKAY F, STEINER V, HOFMANN K, BODMER JL, HOLLER N ET AL. BAFF, a novel ligand of the tumor necrosis factor family, stimulates B cell growth. *J Exp Med* 1999, 189:1747–1756
  100. FABRIS M, QUARTUCCIO L, SACCO S, DE MARCHI G, POZZATO G, MAZZARO C ET AL. B-lymphocyte stimulator (BLyS) up-regulation in mixed cryoglobulinemia syndrome and hepatitis-C virus infection. *Rheumatology (Oxford)* 2007, 46:37–43
  101. MIGITA K, ABIRU S, MAEDA Y, NAKAMURA M, KOMORI A, ITO MA ET AL. Elevated serum BAFF levels in patients with autoimmune hepatitis. *Hum Immunol* 2007, 68:586–591
  102. TOUBI E, GORDON S, KESSEL A, ROSNER I, ROZENBAUM M, SHOENFELD Y ET AL. Elevated serum B-lymphocyte activating factor (BAFF) in chronic hepatitis C virus infection: Association with autoimmunity. *J Autoimmun* 2006, 27:134–139
  103. NARDELLI B, BELVEDERE O, ROSCHKE V, MOORE PA, OLSEN HS, MIGNONE TS ET AL. Synthesis and release of B-lymphocyte stimulator from myeloid cells. *Blood* 2001, 97:198–204
  104. LANDAU DA, ROSENZWAJG M, SAADOUN D, KLATZMANN D, CACOUB P. The B lymphocyte stimulator receptor-ligand system in hepatitis C virus-induced B cell clonal disorders. *Ann Rheum Dis* 2009, 68:337–344
  105. LARRUBIA JR, BENITO-MARTÍNEZ S, CALVINO M, SANZ-DE-VILLALOBOS E, PARRA-CID T. Role of chemokines and their receptors in viral persistence and liver damage during chronic hepatitis C virus infection. *World J Gastroenterol* 2008, 14:7149–7159
  106. KAKIMI K, LANE TE, WIELAND S, ASENSIO VC, CAMPBELL IL, CHISARI FV ET AL. Blocking chemokine responsive to gamma-2/interferon (IFN)-gamma inducible protein and monokine induced by IFN-gamma activity *in vivo* reduces the pathogenetic but not the antiviral potential of hepatitis B virus-specific cytotoxic T lymphocytes. *J Exp Med* 2001, 194:1755–1766
  107. TAUB R, GREENBAUM LE, PENG Y. Transcriptional regulatory signals define cytokine-dependent and -independent pathways in liver regeneration. *Semin Liver Dis* 1999, 19:117–127
  108. RAMADORI G, SAILE B. Inflammation, damage repair, immune cells, and liver fibrosis: Specific or nonspecific, this is the question. *Gastroenterology* 2004, 127:997–1000
  109. ZIGNEGO AL, FERRI C, GIANNELLI F, GIANNINI C, CAINI P, MONTI M ET AL. Prevalence of bcl-2 rearrangement in patients with hepatitis C virus-related mixed cryoglobulinemia with or without B-cell lymphomas. *Ann Intern Med* 2002, 137:571–580
  110. SANSONNO D, LAULETTA G, NISI L, GATTI P, PESOLA F, PANSINI N ET AL. Non-enveloped HCV core protein as constitutive antigen of cold-precipitable immune complexes in type II mixed cryoglobulinemia. *Clin Exp Immunol* 2003, 133:275–282
  111. CHARLES ED, BRUNETTI C, MARUKIAN S, RITOLA KD, TALAL AH, MARKS K ET AL. Clonal B cells in patients with hepatitis C virus-associated mixed cryoglobulinemia contain an expanded anergic CD21low B-cell subset. *Blood* 2011, 117:5425–5437
  112. SANSONNO D, TUCCI FA, TROIANI L, LAULETTA G, MONTRONE M, CONTEDEUCA V ET AL. Increased serum levels of the chemokine CXCL13 and up-regulation of its gene expression are distinctive features of HCV-related cryoglobulinemia and correlate with active cutaneous vasculitis. *Blood* 2008, 112:1620–1627
  113. MIHM S, SCHWEYER S, RAMADORI G. Expression of the chemokine IP-10 correlates with the accumulation of hepatic IFN-gamma and IL-18 mRNA in chronic hepatitis C but not in hepatitis B. *J Med Virol* 2003, 70:562–570
  114. ANTONELLI A, FERRI C, FERRARI SM, RUFFILLI I, COLACI M, FRASCERRA S. High serum levels of CXCL11 in mixed cryoglobulinemia are associated with increased circulating levels of interferon- $\gamma$ . *J Rheumatol* 2011, 38:1947–1952

*Corresponding author:*

S.P. Dourakis, Second Department of Medicine, National and Kapodistrian University of Athens, Medical School, "Hippokratia" General Hospital, 28 Achaia street, GR-115 23 Athens, Greece  
e-mail: spdour@med.uoa.gr