

*Wojciech Stolarz**, *Andrzej Wiczkowski***, *Romuald Wojnicz****, *Andrzej Dziambor**
*Lucjan Kępa**, *Maria Biskupska-Karasińska**

OCENA EKSPRESJI ANTYGENÓW HLA-I i II W BIOPTATACH WĄTROBY CHORYCH Z PRZEWLEKŁYM ZAPALENIEM WĄTROBY O ETIOLOGII WIRUSOWEJ

* I Katedra i Klinika Chorób Zakaźnych Ś.A.M. w Bytomiu
p.o. Kierownik: dr n. med. *M. Biskupska-Karasińska*

** Katedra i Zakład Ogólnej Biologii Lekarskiej w Zabrze
Kierownik: dr hab. n. med. *A. Wiczkowski*

*** Pracownia Mikroskopii Elektronowej
i Immunologii Śląskiego Centrum Chorób Serca w Zabrze
Kierownik: dr n. med. *R. Wojnicz*

Celem pracy była próba oceny ekspresji wybranych antygenów układu HLA w biopciatach wątroby chorych na przewlekłe zapalenie wątroby wywołane wirusami hepatotropowymi B i C. W większości przypadków pzw na powierzchni hepatocytów wykryto nie występującą lub śladową u osób zdrowych ekspresję HLA-I i II. Nasilenie ekspresji korelowało niezależnie od czynnika etiologicznego z aktywnością histologiczną i biochemiczną procesu zapalnego.

WSTĘP

Przewlekłe zapalenia wątroby (pzw) są od kilkunastu lat wiodącym problemem w hepatologii i stanowią około 60% przewlekłych chorób wątroby (23). Są to schorzenia polietiologiczne, w znaczącej części inicjowane zakażeniami wirusami hepatotropowymi. W immunopatogenezie pzw o etiologii wirusowej dominującą rolę odgrywają zjawiska komórkowej odpowiedzi immunologicznej, zaś wieloantygenowa budowa wirusów determinuje ich złożony charakter (4, 18). Warunkiem immunogenności antygenów wirusowych jest ich prezentacja w powiązaniu z antygenami głównego układu zgodności tkankowej (u ludzi HLA). Antygeny układu HLA dzielą się na dwie klasy: klasę I reprezentowaną przez antygeny HLA grupy A, B i C oraz klasę II reprezentowaną przez antygeny grupy DR, DP i DQ. Komórkami efektorowymi eliminującymi zakażone hepatocyty są głównie cytotoksyczne limfocyty CD8. Rozpoznają one antygeny wirusowe składające się z 9-10 reszt aminokwasowych, produkowane endogennie w komórce i degradowane w cytozolu; a następnie prezentowane na powierzchni komórki w łączności z HLA-I. Rola receptora CD8 polega na interakcji z określonym obszarem antygeny HLA-I, natomiast determinanty

antygenowe wirusa rozpoznawane są przez TCR (receptor limfocytów T) odpowiedniego klonu limfocytów T CD8 (10, 14). U przewlekle zakażonych chorych stwierdza się także obecność cytotoksycznych limfocytów CD4 rozpoznających antygeny wirusowe w kontekście HLA-II, głównie DR (21). Antygeny HLA-II zaangażowane są przede wszystkim w prezentację egzogennych antygenów ulegających endocytozie i degradowanych do fragmentów składających się z 13-18 reszt aminokwasowych. Dochodzi do interakcji receptora CD4 limfocytów z odpowiednim obszarem antygeny HLA-II, natomiast immunogeny peptyd rozpoznawany jest przez receptor TCR. Powoduje to aktywację limfocytów i ich różnicowanie głównie w kierunku komórek o funkcji pomocniczej (10, 14). Zakażone hepatocyty ulegają lizie w wyniku działania specyficznych dla antygenów wirusa limfocytów T reagujących tylko z tymi komórkami, które jednocześnie eksponują na swej powierzchni antygeny wirusa i głównego układu zgodności tkankowej HLA.

W biopsjach wątroby osób zdrowych na powierzchni hepatocytów obserwuje się słabą ekspresję antygenów HLA-I, natomiast ekspresja antygenów HLA-II ograniczona jest do komórek śródbłonka naczyń zatokowych i komórek Browicza-Kupffera (2, 12, 16, 19, 24).

Celem pracy była próba oceny ekspresji wybranych antygenów układu HLA-I i HLA-II w biopsjach wątroby chorych na pzw B lub C oraz ocena korelacji nasilenia ich ekspresji z biochemicznymi i morfologicznymi wykładnikami aktywności procesu zapalnego.

MATERIAŁ I METODYKA

Badania przeprowadzono u 44 chorych na pzw o etiologii wirusowej. Chorzy ci byli diagnozowani i leczeni w I Klinice Chorób Zakaźnych Śląskiej Akademii Medycznej. Rozpoznanie pzw ustalono w oparciu o obraz kliniczny i histopatologiczną ocenę oligobiopsatu wątroby. Badana grupa liczyła 30 mężczyzn w wieku od 18 do 65 lat i 14 kobiet w wieku od 18 do 72 lat; wiek średni 42 ± 8 lat. Rozpoznanie zakażenia wirusami HBV lub HCV oparto o stwierdzenie serologicznych wskaźników infekcji za pomocą metody immunoenzymatycznej ELISA, przy użyciu testów firmy Abbot lub Organon. Zakażenie HBV rozpoznawano na podstawie obecności w surowicy antygeny HBs i przeciwciał anti-HBc, a zakażenie HCV na podstawie obecności przeciwciał anti-HCV. U wszystkich badanych osób oznaczono w surowicy krwi aktywność aminotransferazy alaninowej (AlAT) metodą kinetyczną. Biopsję wątroby wykonano metodą przezskórną z zastosowaniem techniki Menghiniego. Uzyskany materiał tkankowy bezpośrednio po pobraniu dzielono na dwie części. Jedną z nich utrwalano w formalinie i przekazywano do oceny morfologicznej do Zakładu Patomorfologii Ś.A.M. w Zabrze (dr A. Gabriel). Chorych podzielono na 2 grupy z uwzględnieniem histopatologicznej aktywności procesu zapalnego. Podziału dokonano w oparciu o punktowy system oceny aktywności zapalnej według Scheuera w modyfikacji Gabriela (8, 9). Grupę I stanowili chorzy, u których aktywność procesu zapalnego oceniono na 1-4 punktów i według kryteriów z 1977 roku rozpoznano przewlekle przetrwałe zapalenie wątroby (3). Zgodnie z klasyfikacją podaną przez Desmeta i wsp. grupa ta objęła chorych z rozpoznaniem: Hepatitis chronica

minimalis i Hepatitis chronica minoris gradus (6). Grupę II stanowili chorzy, u których aktywność procesu zapalnego oceniono na 5-10 punktów i rozpoznano przewlekłe aktywne zapalenie wątroby. Wg klasyfikacji Desmeta i wsp. rozpoznawano u nich: Hepatitis chronica minoris gradus, Hepatitis chronica mediocris gradus i Hepatitis chronica majoris gradus. Grupa pierwsza liczyła 17 osób: 11 mężczyzn w wieku od 18 do 63 lat i 6 kobiet w wieku od 18 do 42 lat; wiek średni 41 ± 7 lat. Grupa druga liczyła 27 osób: 19 mężczyzn w wieku od 19 do 65 lat i 8 kobiet w wieku od 28 do 72 lat, wiek średni 44 ± 6 lat.

Drugą z części biopsatu wątroby utrwalano przez 10 min. acetonem, a następnie zamrażano. Do chwili wykonania badań materiał przechowywany był w temp. ciekłego azotu ($\approx -110^\circ\text{C}$). Badania immunohistochemiczne przeprowadzono w Pracowni Mikroskopii Elektronowej i Immunologii Śląskiego Centrum Chorób serca w Zabrze. Użyto do nich skrawków mrożeniowych wycinków wątroby o grubości 6 (m uzyskanych w mikrotomie mrożeniowym firmy Reichert. W ocenie ekspresji antygeny HLA-I (A,B,C), HLA-II (DR) wykorzystano przeciwciała monoklonalne mysie – anty ludzkie firmy DAKO i metodę streptawidynowo-biotynową z fosfatazą zasadową „LSAB + AP DAKO” (labelled streptavidin-biotin kit + alkaline phosphatase). Przeciwciała monoklonalne rozcieńczono w buforze TRIS o $\text{pH} = 7,4$ w stosunku 1 : 30. Do wizualizacji barwnej reakcji enzymatycznej wykorzystano chromogen „New Fuschin Substrat System” firmy DAKO. W celu zablokowania niespecyficznego wiązania się przeciwciał monoklonalnych z podłożem zastosowano „DAKO Protein Block Serum Free” jako pierwszy etap reakcji. Do zablokowania aktywności endogennej fosfatazy alkalicznej stosowano Levamisol, dodawany każdorazowo do chromogenu w stężeniu końcowym 0,2 mmol/l.

Ocenę ekspresji HLA-I (A,B,C), HLA-II (DR) przeprowadzono w oparciu o skalę trójstopniową; stanowiącą modyfikację skali zastosowanej przez Chu i wsp. (5):

- 0 – brak ekspresji na hepatocytach, przy jej braku lub obecności na komórkach śródbłonna naczyniowego
- 1 – ogniskowa ekspresja na hepatocytach ($\leq 10\%$ komórek)
- 2 – uogólniona ekspresja na hepatocytach ($> 10\%$ komórek)

W analizie statystycznej przy porównaniu grup zastosowano test U Mann-Whitney'a. Dla oceny związków między badanymi parametrami przeprowadzono analizę korelacji Spearmana (1). Obliczenia statystyczne zostały wykonane przy użyciu oprogramowania komputerowego SPSS wersja 7.5 dla środowiska Windows.

WYNIKI

Analiza wyników badań serologicznych pozwoliła ustalić, że w grupie I 11 osób zakażonych jest wirusem HBV, a 6 osób HCV. Spośród 11 zakażonych HBV u 5 osób stwierdzono serologiczne wykładniki aktywności replikacyjnej (HBeAg/+, HBeAb/-), a u 6 osób ich brak (HBeAg/-, HBeAb/+). W grupie II 17 osób zakażonych jest wirusem HBV, a 10 osób HCV. W podgrupie zakażonych wirusem HBV serologiczne wykładniki replikacji stwierdzono u 6 osób, nie obserwując ich w 11 przypadkach.

W tabeli I przedstawiono wyniki badania stopnia nasilenia ekspresji antygenów HLA-I (A, B, C) i HLA-II (DR). Stopień ekspresji HLA-I równy „zero” stwierdzono

Tabela I. Częstość występowania poszczególnych stopni nasilenia ekspresji HLA-I (A, B, C), HLA-II (DR) w I i II grupie chorych oraz wartości testu U Mann-Whitney'a obliczone dla porównania grup.

Frequency of various degrees of expression intensity of HLA-I (A, B, C), HLA-II (DR) in groups I and II of patients and the values of the Mann-Whitney test calculated for comparison of groups

Stopień ekspresji	HLA-I (A, B, C)			HLA-II (DR)		
	0	1	2	0	1	2
Grupa I (n=17)	6	4	7	7	8	2
%	35,3	23,5	41,2	41,2	47,1	11,8
Grupa II (n=27)	7	4	16	4	10	13
%	25,9	14,8	59,3	14,8	37,0	48,1
Gr. I vs Gr. II P	0,295 ns			0,008*		

* – istotność statystyczna na poziomie $p < 0,05$.

ns – brak znamienności statystycznej.

u 6 (35,3%) chorych z grupy I i u 7 (25,9%) chorych z grupy II. Stopień ekspresji równy „jeden” odpowiednio : u 4 (23,5%) i 4 (14,8%), a równy „dwa” u 7 (41,2%) i 16 (59,3%) osób. Brak ekspresji HLA-II (DR) na powierzchni hepatocytów stwierdzono u 7 (41,2%) chorych z grupy I i u 4 (14,8%) z grupy II. Stopień ekspresji równy „jeden” prezentowało 8 (47,1%) chorych z grupy I i 10 (37,0%) z grupy II; równy „dwa” odpowiednio: 2 (11,8%) i 13 (48,1%). Rozkład wyników ekspresji HLA-I nie różnił się statystycznie znamienne pomiędzy badanymi grupami, natomiast dla HLA-II (DR) wykazano statystyczną znamienność różnic. Tabela II zawiera wartości współczynnika korelacji liniowej „R”. W grupie II wykazano istotną korelację ekspresji HLA-I z HLA-II. W tabeli III przedstawiono wartości testu U Mann-Whitney'a obliczone w celu porównania podgrup chorych z uwzględnieniem rodzaju czynnika etiologicznego.

Analizę przeprowadzono zarówno bez uwzględnienia, jak i z uwzględnieniem wyników oznaczania antygeny HBeAg w podgrupie chorych zakażonych HBV. W obu grupach stwierdzono brak zależności pomiędzy wskaźnikami zakażenia wirusem B i C a stopniem nasilenia ekspresji HLA-I i HLA-II.

Tabela IV zawiera wartości testu U Mann-Whitney'a obliczone dla porównania chorych zakażonych HBV z obecnymi serologicznymi markerami replikacji, z chorymi bez cech replikacji wirusa B. Wyniki analizy świadczą o braku istotności różnic między badanymi grupami w zakresie porównywanych parametrów. Tabela V ilustruje wartości mediany aktywności AlAT obliczone dla każdego stopnia ekspresji HLA-I i HLA-II u wszystkich badanych. Wykazano statystycznie istotne różnice pomiędzy 0 a 2 stopniem ekspresji zarówno dla HLA-I jak i HLA-II.

OMÓWIENIE

Dla współdziałania limfocytów CD4, CD8 z komórkami prezentującymi antygen i docelowymi konieczna jest interakcja receptora TCR z antygenami prezentowanymi w asocjacji odpowiednio z HLA-II lub HLA-I (4, 18). Na powierzchni hepatocytów

osób zdrowych nie wykrywa się lub stwierdza jedynie śladową ekspresję HLA-I (2, 108). Podobnie w badaniach *in vitro*, w hodowli ludzkich hepatocytów nie obserwowano ekspresji HLA-I, można ją było wyindukować przez zastosowanie interferonów gamma lub alfa (7).

W biopłatach wątroby osób zdrowych na powierzchni hepatocytów nie stwierdza się także antygenów układu HLA-II (7, 16, 19, 22, 24). W badaniach *in vitro* nie stwierdzono antygenów układu HLA-II na powierzchni hepatocytów, mogą się one pojawić pod wpływem działania interferonu gamma. Interferon alfa i IL-2 nie wywierają bezpośrednio podobnego efektu. Ekspresja HLA-II pozostaje jednak pod wieloczynnikową kontrolą i jest modulowana przez prostaglandyny, produkty metabolizmu kwasu arachidonowego, interferon alfa i wirusy (7). Pewien wpływ może wywierać także białko X wirusa HBV, powoduje ono transaktywację rejonów regulatorowych genów HLA-I i HLA-II zwiększając ekspresję antygenów zgodności tkankowej klasy I i II (11, 20, 26).

Otrzymane wyniki badań ekspresji (tab. I) antygenów głównego układu zgodności tkankowej u chorych na pzw wykazały, że antygeny HLA-I (A, B, C) były obecne u 70%, a HLA-II (DR) u 75% chorych. Podobne wyniki uzyskali inni autorzy (2, 7, 15, 17). W naszych badaniach stwierdzono, że ekspresja HLA-I i HLA-II jest bardziej nasiloną wtedy, gdy aktywność procesu zapalnego jest większa. Istnieją statystycznie znamienne różnice w nasileniu ekspresji HLA-II pomiędzy grupą z niską a wysoką aktywnością zapalną. Dla HLA-I co prawda nie stwierdzono istotnej statystycznie różnicy, ale nasiloną ekspresję (2 stopnia) HLA-I prezentowało 59% chorych z pazw (grupa II) i 41% z ppzw (grupa I), natomiast brak ekspresji (0 stopień) odpowiednio 26% i 35%. Nasiloną ekspresję HLA-II obserwowano u 48% chorych z pazw (grupa II) i 12% z ppzw (grupa I), natomiast brak ekspresji odpowiednio u 15% i 41%. Różnica pomiędzy grupami była statystycznie znamienna.

Wyniki badań opublikowanych przez Mosnier i wsp. wykazały istnienie znamiennych korelacji między nasileniem ekspresji HLA-I i HLA-II a aktywnością histologiczną procesu zapalnego (15). Inni autorzy stwierdzili istnienie takich korelacji jedynie dla HLA-I (5) lub dla HLA-II (22). Odosobniony pogląd prezentują Franco i wsp. nie stwierdzając różnic w nasileniu ekspresji HLA-I i HLA-II w zależności od histologicznej aktywności procesu zapalnego (7). W naszych badaniach w grupie chorych z większą aktywnością histologiczną procesu zapalnego obserwowano dodatnią korelację pomiędzy nasileniem ekspresji HLA-I a HLA-II (tab. II). Wynika to zapewne z faktu, że ekspresja może być indukowana przez wspólne czynniki, np. niektóre spośród cytokin. Brak znamiennych statystycznie korelacji w grupie chorych z przewlekłym przetrwałym zapaleniem wątroby (grupa I) powodowany jest być

Tabela II. Wartości współczynnika korelacji „R” dla badanych parametrów w obrębie grup chorych.
Values of the correlation coefficient „R” for the studied parameters in patient groups

Analizowane czynniki	Grupa I	Grupa II
HLA-I i HLA-II	-0,30	0,42*

* - istotność statystyczna na poziomie $p < 0,05$.

Tabela III. Wartości testu U Mann Whitney'a obliczone dla porównań podgrup chorych zakażonych wirusem B lub C w grupach I i II.

Values of the test U Mann-Whitney calculated for comparison of subgroups of patients infected with B or C virus in groups I, II

Oznaczany parametr	Grupa I			Grupa II		
	HCV/HBV	HCV/HBV HBcAg (+)	HCV/HBV HBcAg (-)	HCV/HBV	HCV/HBV HBcAg (+)	HCV/HBV HBcAg (-)
HLA-I (A, B, C)	0,15 ns	0,66 ns	0,09 ns	0,26 ns	0,36 ns	0,24 ns
HLA-II (DR)	0,10 ns	0,06 ns	0,29 ns	0,34 ns	0,38 ns	0,33 ns

ns – brak znamienności statystycznej.

Tabela IV. Wartości testu U Mann Whitney'a obliczone dla porównań podgrup chorych z lub bez serologicznych wykładników replikacji wirusa B w grupach I i II.

Values of the test U Mann-whitney calculated for comparison of subgroups of patients with or without serological indicators of virus B replication in group I and II

Oznaczany parametr	Grupa I	Grupa II
HLA-I (A, B, C)	0,19 ns	0,95 ns
HLA-II (DR)	0,66 ns	0,87 ns

ns – brak znamienności statystycznej.

może jedynie miernym podwyższeniem poziomu cytokin. Przykładowo u chorych z ppzw obserwowano mniejszy wzrost stężenia TNF alfa w porównaniu do znacznie podwyższonych wartości w grupie z pazw (25).

Kolejnym problemem analizowanym w pracy była próba ustalenia, czy rodzaj wirusa wpływa na ekspresję antygenów HLA u pacjentów z pzw. Analizę wpływu czynnika etiologicznego na ekspresję badanych parametrów przeprowadzono zarówno z uwzględnieniem jak i bez uwzględnienia serologicznych wykładników replikacji wirusa HBV. Uzyskane przez nas wyniki nie potwierdzają związku między intensywnością ekspresji HLA-I i HLA-II a etiologią choroby (tab. III). Podobne rezultaty uzyskali inni autorzy (5, 17). Wskazywać to może na wspólny patomechanizm uszkodzania hepatocytów w zakażeniach wywołanych różnymi wirusami hepatotropowymi.

Problem, czy replikacja wirusa HBV może mieć wpływ na ekspresję HLA-I i HLA-II stanowił przedmiot dalszych analiz. Uzyskane przez nas wyniki wskazują, że ekspresja badanych parametrów nie zależy od serologicznych wykładników aktywności replikacyjnej wirusa HBV (tab. IV). Do podobnych wniosków dochodzą także inni autorzy (5, 13), aczkolwiek zdaniem Ikeda i wsp. replikacja wirusa HBV może obniżyć zdolność hepatocytów do ekspresji HLA-I w odpowiedzi na działanie interferonu (12). Może to mieć wpływ na rozwój przewlekłego zakażenia.

Tabela V. Aktywność aminotransferazy alaninowej w zależności od stopnia ekspresji oznaczanych parametrów oraz wartości testu U Mann Whitney'a obliczone dla porównania rozkładu wyników.

Alanine aminotransferase activity in relation to the degree of expression of the determined parameters and values of test U Mann-Whitney calculated for comparison of the distribution of results

Stopień ekspresji	0		1		2		Znamienność statystyczna różnic		
	ME	R	ME	R	ME	R	0-1	0-2	1-2
HLA-I (A, B, C)	42	15-260	34	10-300	130	18-370	0,59	0,01*	0,09
HLA-II (DR)	42	14-370	51	10-330	130	35-330	0,64	0,04*	0,08

* - istotność statystyczna na poziomie $p < 0,05$

ME - mediana

R - rozstęp

Przedstawione w pracy wyniki pozwalają stwierdzić, że istnieje związek pomiędzy nasileniem ekspresji HLA-I i HLA-II a aktywnością aminotransferazy alaninowej w surowicy krwi (tab. V). Wyniki świadczące o istnieniu dodatniej korelacji między nasileniem ekspresji HLA-I na powierzchni hepatocytów a wartościami AlAT uzyskali Chu i wsp (5). Autorzy nie stwierdzili jednak podobnego związku dla HLA-II. W naszym materiale obserwowane są statystycznie znaczne różnice aktywności AlAT pomiędzy skrajnymi stopniami ekspresji zarówno dla HLA-I, jak i HLA-II.[1]

PODSUMOWANIE WYNIKÓW I WNIOSKI

1. Ekspresja de novo antygenów HLA-II (DR) występuje częściej u chorych z większą aktywnością histologiczną pzw.

2. Ekspresja antygenów HLA-I (A, B, C), HLA-II (DR) niezależnie od rodzaju czynnika etiologicznego koreluje z biochemicznymi wykładnikami aktywności procesu zapalnego.

3. Aktywność replikacyjna wirusa HBV mierzona obecnością lub brakiem przeciwciał anti-HBe nie koreluje z ekspresją antygenów HLA-I i HLA-II.

W. Stolarz, A. Wiczowski, R. Wojnicz, A. Dziambor, L. Kepa, M. Biskupska-Karasińska

THE HLA-I AND HLA-II EXPRESSION EVALUATION IN LIVER BIOPSY SPECIMENS OF PATIENTS WITH CHRONIC VIRAL HEPATITIS

SUMMARY

The main an etiological agents of chronic hepatitis are viral infections. The viral infection course and outcome depend mostly on the immunological response. Infected hepatocytes are damaged by appropriately viral antigen-specific cytolytic T lymphocytes. Those sensitised T cells react only with those hepatocytes which express viral antigen and antigen HLA on membrane surface. The aim of

this study was to evaluate the expression of selected histocompatibility antigens HLA in liver biopsy specimens of patients with chronic viral hepatitis. Seventeen patients with chronic persistent hepatitis (inflammatory activity 1-4 points according to Scheuer scale modified by Gabriel) and 27 patients with chronic active hepatitis (5-10 points) were studied. In these groups of patients the intensity of HLA-I (A, B, C), HLA-II (DR) expression in liver biopsy specimens, alanine aminotransferase activity, markers of HBV and HCV in serum were examined. The monoclonal mouse anti-human antibodies and streptavidin-biotin with alkaline phosphatase method for estimation of HLA-I, HLA-II was used. Results were statistically analysed using Mann-Whitney's U test and Spearman's rank correlation test. Generally, the expression of HLA-I and HLA-II on hepatocyte membrane was shown. Significant differences in expression of HLA-II among studied groups were observed, moreover the highest degree of HLA-II intensity in the group of patients with greater inflammation activity was significantly more frequently observed. The expression of HLA-I, HLA-II was regardless of the viral a etiology and serological markers of HBV replication.

The degree of studied parameters expression was positively correlated with biochemical activity of inflammation.

PIŚMIENICTWO

1. Armitage P, Berry G. Statistical methods in medical research. Blackwell Science, Oxford, 1994.
2. Barbatis C, Woods J, Morton JA, i in. Immunohistochemical analysis of HLA (A, B, C) antigens in liver disease using a monoclonal antibody. Gut 1981; 22:985-991.
3. Bianchi L, De Groote J, Desmet VJ i in. Acute and chronic hepatitis revisited. Lancet 1977; 2:914-919.
4. Chisari FV, Ferrari C. Hepatitis B virus immunopathology. Springer Semin Immunopathol 1995; 17: 261-281.
5. Chu CM, Liaw YF. Coexpression of intercellular adhesion molecule-1 and class I major histocompatibility complex antigens on hepatocyte membrane in chronic viral hepatitis. J Clin Pathol 1993; 46: 1004-1008.
6. Desmet VJ, Gerber M, Hoofnagle JH i in. Classification of chronic hepatitis: diagnosis, grading and staging. Hepatology 1994; 19: 1513-1520.
7. Franco A, Barnaba V, Natali P. i in. Expression of class I and class II major histocompatibility complex antigens on human hepatocytes. Hepatology 1988; 8: 449-454.
8. Gabriel A, Szczurek Z. Zastosowanie punktowego systemu histologicznej oceny aktywności zapalnej u chorych na przewlekłe zapalenie wątroby typu B. Patol Pol 1992; 43: 137.
9. Gabriel A, Ziółkowski A. New terminology of chronic hepatitis, including a scoring scale. Med Sci Monit 1997; 3: 113-118.
10. Gościcka T. Bezpośrednia cytotoksyczność komórkowa w zwalczaniu infekcji. Pol J Immunol 1994; 19: 149-160.
11. Hu KQ, Vierling JM, Siddiqui A. Trans - activation of HLA-DR gene by hepatitis B virus X gene product. Proc Natl Acad Sci U S A 1990; 87: 7140-7144.
12. Ikeda T, Pignatelli M, Lever AML i in. Relationship of HLA protein display to activation of 2-5 A synthetase in HBe antigen or anti-HBe positive chronic HBV infection. Gut 1986; 27: 1498-1501.
13. Lau JY, Bird GL, Naoumov NV i in. Hepatic HLA antigen display in chronic hepatitis B virus infection. Relation to hepatic expression of HBV genome / gene products and liver histology. Dig Dis Sci 1993; 38: 888-895.
14. Madaliński K, Michałkiewicz J, Ślusarczyk J. Zaburzenia odporności komórkowej w zakażeniach wirusowych. Cent Eur J Immunol 1996; 21 : S27-S35.
15. Mosnier JF, Scoazec JY, Marcellin P. i in. Expression of cytokine - dependent immune adhesion molecules by hepatocytes and bile duct cells in chronic hepatitis C. Gastroenterology 1994; 107: 1457-1468.

16. Nagura H, Ohtani H Expression of major histocompatibility class II antigens by vascular endothelial cells leads to amplified immunoinflammatory processes. *Acta Histochem Cytochem* 1992; 25: 653-660.
17. Onji M, Kikuchi T, Kumon I i in. Intrahepatic lymphocyte subpopulations and HLA class I antigen expression by hepatocytes in chronic hepatitis C. *Hepato - Gastroenterol* 1992; 39: 340-343.
18. Peters M, Vierling J, Gershwin ME i in. Immunology and the liver. *Hepatology* 1991; 13: 977-994.
19. Scaozec J-Y, Feldmann G. In situ immunophenotyping study of endothelial cells of the human hepatic sinusoid: results and functional implications. *Hepatology* 1991; 14: 789-797.
20. Sidorkiewicz M. Rola białka X w przebiegu zapalenia wątroby typu B. *Hepatol Pol* 1997; 4: 181-189.
21. Spengler U, Lechmann M, Irrgang B i in. Immune responses in hepatitis C virus infection. *J Hepatol* 1996; 24: 20-25.
22. Volpes R, Van den Oord JJ, Desmet VJ. Hepatic expression of intercellular adhesion molecule - 1 (ICAM-1) in viral hepatitis B. *Hepatology* 1990; 12: 148-154.
23. Walewska-Zielecka B, Świdarska H, Płucienniczak G i in. Etiologia przewlekłych zapaleń wątroby na podstawie badań biopsji wątroby i surowic nadesłanych do zakładu immunopatologii Państwowego Zakładu Higieny w latach 1993-1995. *Przegl Epidemiol* 1996; 50: 353-363.
24. Wysocki J. Wybrane problemy patogenezy i kliniki zakażenia wirusem B zapalenia wątroby u dzieci. *Ped Prakt* 1996; 1: 11-22.
25. Yaun AL, Luo YH, Liu SD. Tumor necrosis factor alpha levels in patients with chronic liver disease and its relationship to pathogenesis. *Chung Hua Nei Ko Tsa Chih* 1994; 33: 672-674. (Abstract)
26. Zhou DX, Taraboulos A, Ou JH i in. Activation of class I major histocompatibility complex gene expression by hepatitis B virus. *J Virol* 1990; 64: 4025-4031.

Adres: I Klinika Chorób Zakaźnych Ś. A. M.

Aleja Legionów 49

41-902 Bytom

tel./fax (032) 81-92-41