

Lek. Dominika Kaps-Kopiec

*Ocena czynników wpływających na wyniki leczenia dzieci
z autoimmunizacyjnym zapaleniem wątroby*

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych

Promotor: prof. dr hab. n. med. Joanna Pawłowska

Klinika Gastroenterologii, Hepatologii, Zaburzeń Odżywiania i Pediatrii
Instytut „Pomnik-Centrum Zdrowia Dziecka”

Serdecznie dziękuję:

Pani Profesor Joannie Pawłowskiej za poświęcony czas, pomoc udzieloną w trakcie przygotowywania rozprawy doktorskiej, cierpliwość oraz nieustającą motywację do pogłębiania mojej wiedzy.

Pani Profesor Irenie Jankowskiej i Pani Doktor Małgorzacie Woźniak za każde dobre słowo, wsparcie oraz wprowadzenie w świat hepatologii dziecięcej.

Panu Profesorowi Jarosławowi Kierkusiowi i Panu Profesorowi Piotrowi Sosze za motywację do pracy naukowej.

Panu Profesorowi Piotrowi Czubkowskiemu za merytoryczne wsparcie oraz cenne uwagi podczas pisania prac naukowych.

Mężowi Pawłowi za wsparcie, cierpliwość oraz nieustającą wiarę w moje możliwości.

Dzieciom Stasiowi i Zosi za każdy uśmiech i motywację do efektywnego wykorzystania czasu wolnego.

Rodzicom za wsparcie i pomoc w realizacji życiowych planów.

Spis treści

STRESZCZENIE	5
STRESZCZENIE W JĘZYKU ANGIELSKIM.....	6
WSTĘP	7
CELE ROZPRAWY DOKTORSKIEJ	9
WYKAZ PUBLIKACJI	10
Prace o charakterze artykułów oryginalnych.....	10
Praca o charakterze artykułu poglądowego.....	11
OMÓWIENIE PUBLIKACJI.....	12
Praca <i>"The relationship between 6-thioguanine levels and remission outcomes in children with autoimmune hepatitis. Single center experience"</i>	12
Wprowadzenie	12
Materiał i Metody	13
Metody Statystyczne	14
Wyniki	14
Dyskusja.....	20
Praca <i>"Classical autoimmune hepatitis and the IgG4-associated autoimmune hepatitis in paediatric patients"</i>	23
Wprowadzenie	23
Materiał i metody	23
Histopatologia i immunohistochemia	24
- stopnia włóknienia (<i>staging</i>)	24
- stopnia zapalenia w przestrzeniach wrotnych	24
- zaawansowania nacieków z limfocytów i martwicy kęsowej (<i>interface hepatitis</i>).....	24
- obecności zrazikowego zapalenia wątroby (<i>lobular hepatitis</i>)	24
- uszkodzenia dróg żółciowych.....	24
- cholestazy	24
Metody statystyczne.....	24
Wyniki	25
Dyskusja.....	28
Wnioski	29
Praca <i>"Autoimmunizacyjne zapalenie wątroby – alternatywne metody leczenia"</i>	30

Wprowadzenie	30
Leki drugiego wyboru w populacji pediatrycznej	30
Podsumowanie.....	32
DYSKUSJA	33
WYKAZ TABEL, RYCIN I FOTOGRAFII	34
PIŚMIENNICTWO	35
PUBLIKACJE.....	42

STRESZCZENIE

Autoimmunizacyjne zapalenie wątroby (ang. Autoimmune hepatitis, AIH) to przewlekła, postępująca choroba zapalna, która bez właściwego leczenia może doprowadzić do rozwoju marskości, a następnie niewydolności wątroby. Jak podaje literatura, 80% odpowiednio leczonych pacjentów osiąga remisję i długotrwałe przeżycie [1]. Zgodnie z aktualnymi wytycznymi European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (ESPGHAN), podstawowymi lekami stosowanymi w terapii są prednizon/prednizolon i azatiopryna [2]. Azatiopryna jest prolekiem, ulega przekształceniu do 6-tioguaniny (6-TG) i 6-metylmerkaptopuryny (6-MMP). Zaleca się oznaczanie tych metabolitów w celu uniknięcia działań niepożądanych i oceny aktywności leku. Na chwilę obecną nie określono stężenia 6-TG pożądanego podczas leczenia autoimmunizacyjnego zapalenia wątroby u dzieci. Z tego powodu hepatolodzy dziecięcy w swoich decyzjach terapeutycznych opierają się na zaleceniach przyjętych dla dzieci chorujących na nieswoiste zapalenia jelit (ang. inflammatory bowel disease, IBD) [2]. W literaturze pojawiają się jednak doniesienia, że remisja choroby jest możliwa do osiągnięcia przy niższych stężeniach 6-TG, niż te zalecane w przypadku IBD [2]. W pracy doktorskiej oceniano, czy istnieje zależność pomiędzy stężeniem 6-TG a biochemiczną i histologiczną remisją.

Dodatkowo przeanalizowano, czy uzasadnione jest oznaczanie IgG4 dodatnich komórek plazmatycznych w biopsji wątroby u każdego pacjenta diagnozowanego w kierunku AIH. Starano się również odpowiedzieć na pytanie, czy ich obecność ma wpływ na prezentację kliniczną choroby.

Ze względu na fakt, że u 10-20% dzieci standardowa terapia jest nieskuteczna [3], dokonano także przeglądu literatury w celu omówienia alternatywnych metod leczenia AIH.

STRESZCZENIE W JĘZYKU ANGIELSKIM

Autoimmune hepatitis (AIH) is a chronic, progressive inflammatory disease that, if left untreated, can lead to the development of cirrhosis and eventually liver failure. According to the literature, 80% of appropriately treated patients achieve remission and long-term survival [1]. Current European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (ESPGHAN) guidelines recommend prednisone/prednisolone and azathioprine as the primary drugs used in therapy [2]. Azathioprine is a prodrug, which is converted into 6-thioguanine (6-TG) and 6-methylmercaptopurine (6-MMP). It is recommended to monitor these metabolites to avoid adverse effects and assess drug activity. Currently, there is no defined target level of 6-TG during the treatment of autoimmune hepatitis in children. For this reason, pediatric hepatologists base their therapeutic decisions on guidelines established for children with inflammatory bowel disease (IBD) [2]. However, reports in the literature suggest that remission of the disease may be achievable at lower 6-TG concentrations than those recommended for IBD [2]. This study evaluated whether there is a correlation between 6-TG concentration and biochemical and histological remission.

Additionally, the doctoral thesis analyzed whether it is justified to assess IgG4-positive plasma cells in liver biopsies of all patients diagnosed with AIH. An attempt was made to answer whether their presence affects the clinical presentation of the disease.

Given that standard therapy is ineffective in 10-20% of children [3], a literature review was conducted to discuss alternative treatments for AIH.

WSTĘP

Autoimmunizacyjne zapalenie wątroby (ang. autoimmune hepatitis, AIH) to przewlekła, postępująca choroba zapalna, występującą również wśród dzieci. W populacji pediatrycznej 75% pacjentów stanowią dziewczynki [4,5]. Charakteryzuje się hypergammaglobulinemią, obecnością autoprzeciwciał oraz typowymi zmianami w biopsji wątroby (*interface hepatitis* – gęsty naciek zapalny składający się z limfocytów i komórek plazmatycznych przekraczających blaszkę graniczną, emperipoleza, tworzenie rozetek hepatocytów). Ze względu na rodzaj występujących autoprzeciwciał wyróżniamy dwa typy opisywanego schorzenia: typ 1 – u pacjenta występują przeciwciała przeciwko mięśniom gładkim (SMA) lub przeciwciała przeciwjądrowe (ANA) oraz typ 2 – kiedy u pacjenta pojawiają się przeciwciała przeciwko antygenom wątroby i nerek (LKM-1) lub przeciwciała przeciwcycytozolowe (LC-1) [2]. Etiologia AIH nadal nie jest w pełni poznana. Pod uwagę bierze się predyspozycję genetyczną. U około 40% chorych stwierdza się dodatni wywiad rodzinny w kierunku chorób o podłożu autoimmunizacyjnym, a u około 20% pacjentów z AIH współistnieją inne choroby wynikające z autoagresji [2,3,6]. Autoimmunizacyjne zapalenie wątroby u dzieci charakteryzuje się bardziej agresywnym przebiegiem niż u dorosłych [1,2,4], ale co istotne, aż 80% właściwie leczonych pacjentów osiąga remisję i długotrwałe przeżycie [1]. Niezwykle istotne jest jak najszybsze rozpoczęcie leczenia, ponieważ choroba nieleczona może prowadzić do rozwoju marskości, a następnie do niewydolności wątroby.

Wśród aktualnych rekomendacji ESPGHAN podstawowym lekiem w leczeniu AIH jest prednizon/prednizolon w dawce 2 mg/kg m.c./dobę (max. 60 mg/dobę), ze stopniową redukcją dawki po 4-8 tygodniach aż do dawki podtrzymującej remisję, która wynosi 2,5 – 5 mg/dobę. Drugim lekiem stosowanym w leczeniu jest azatiopryna, która używana jest również w celu podtrzymania remisji choroby [2]. Lek ten jest zazwyczaj dobrze tolerowany. Wśród działań niepożądanych, które mogą prowadzić do konieczności modyfikacji dawki lub całkowitego zaprzestania terapii zalicza się: nudności, wymioty, wysypkę, gorączkę, zapalenie trzustki, hepatotoksyczność, cytopenię, bóle stawów [7].

Zgodnie z ESPGHAN Hepatology Committee Position Statement z 2018 roku, ocena metabolitów azatiopryny (6-tioguaniny i 6-metylmerkaptopuryny) pomaga w monitorowaniu toksyczności leku oraz w osiągnięciu poziomu 6-tioguaniny (6-TG) uważanego za terapeutyczny w nieswoistych zapaleniach jelit. Autorzy wytycznych podkreślają jednak fakt, że optymalny poziom 6-TG dla autoimmunizacyjnego zapalenia wątroby nie został do tej pory ustalony. W literaturze dostępne są doniesienia, że remisja u pacjentów z AIH jest możliwa do osiągnięcia przy niższych wartościach 6-TG w porównaniu do tych zalecanych u pacjentów z nieswoistymi zapaleniami jelit [8]. Z tego powodu warto odpowiedzieć na pytanie, czy w przypadku pacjentów cierpiących na autoimmunizacyjne zapalenie wątroby, należy dążyć do osiągnięcia stężenia 6-TG pożądanego w przypadku nieswoistych zapaleń jelit.

Wymienione wcześniej standardowe leczenie nie jest skuteczne u około 10-20% pacjentów [9]. W tych przypadkach istnieje konieczność zastosowania alternatywnych metod terapii. W warunkach polskich cyklosporyna jest najczęściej używanym lekiem drugiego wyboru, aczkolwiek należy zauważyć, że w piśmiennictwie to mykofenolan mofetilu posiada największą liczbę danych naukowych dotyczących jego stosowania [9].

Jak wspomniano na początku, wśród pacjentów z autoimmunizacyjnym zapaleniem wątroby, w wyniku badania histopatologicznego występują charakterystyczne zmiany. Istnieje również grupa pacjentów, u których oprócz typowych zmian charakterystycznych dla AIH, można stwierdzić nacieki z IgG4 dodatnich komórek plazmatycznych. Aktualnie brak jest wystarczających danych, aby jednoznacznie stwierdzić czy jest to podtyp AIH czy raczej wątrobowa manifestacja chorób IgG4 zależnych. Wydaje się, że nacieki z tych komórek jest klinicznie nieistotny, a w związku z tym u tych pacjentów powinno zastosować się standardowy protokół leczenia.

CELE ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Celem głównym rozprawy doktorskiej była ocena czynników wpływających na skuteczność leczenia autoimmunizacyjnego zapalenia wątroby u dzieci. Do tej pory przeprowadzono kilka badań, w których próbowano znaleźć odpowiedź na pytanie jaki poziom 6-TG jest odpowiedni dla pediatrycznej grupy pacjentów cierpiących na AIH. Warto podkreślić, że z powodu różnic w przebiegu AIH u dorosłych i u dzieci oraz różnego metabolizmu AZA, wytyczne dotyczące leczenia dzieci nie mogą naśladować wytycznych dotyczących dorosłych pacjentów. W pracy oceniano, czy istnieje zależność pomiędzy stężeniem 6-TG a biochemiczną i histologiczną remisją. Oprócz tego oceniano, czy jest uzasadnione oznaczanie IgG4 dodatnich komórek plazmatycznych u każdego pacjenta diagnozowanego w kierunku AIH. Dokonano również przeglądu literatury w celu omówienia alternatywnych metod leczenia AIH.

Cele szczegółowe:

- Retrospektywna analiza przebiegu choroby i leczenia pediatrycznych pacjentów z autoimmunizacyjnym zapaleniem wątroby
- Ocena zależności pomiędzy stężeniem 6-TG a biochemiczną i histopatologiczną remisją
- Próba wyznaczenia zakresu 6-TG odpowiedniego dla pacjentów z AIH
- Analiza przebiegu choroby u pacjentów z IgG4 - AIH
- Porównanie efektów leczenia pacjentów z klasycznym AIH i IgG4 - AIH
- Omówienie najczęściej stosowanych leków drugiego wyboru w terapii AIH

WYKAZ PUBLIKACJI

Rozprawa doktorska została oparta na cyklu trzech publikacji powiązanych ze sobą tematycznie artykułów, w tym na dwóch pracach oryginalnych i jednej pracy poglądowej.

Wartość wskaźnika Impact Factor (IF) dla cyklu prac wynosi 2,3, a łączna liczba punktów Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego (MNiSW) to 240. W skład cyklu wchodzi następujące publikacje:

Prace o charakterze artykułów oryginalnych

1. *The relationship between 6-thioguanine levels and remission outcomes in children with autoimmune hepatitis. Single center experience*

Autorzy: Dominika Kaps-Kopiec, Agnieszka Czajkowska, Marta Górską, Małgorzata Woźniak, Dorota Jarzębicka, Joanna Cielecka-Kuszyk, Piotr Czubkowski, Joanna Pawłowska

Czasopismo: Clin Exp HEPATOL 2023; 9, 2: 115-121

Impact Factor: 1,5

MNiSW: 200

2. *Classical autoimmune hepatitis and the IgG4-associated autoimmune hepatitis in pediatric patients*

Autorzy: Dominika Kaps-Kopiec, Małgorzata Woźniak, Dorota Jarzębicka, Renata Grzywa-Czuba, Joanna Pawłowska, Piotr Czubkowski, Joanna Cielecka-Kuszyk

Czasopismo: Pol J Pathol 2024; 75 (2): 153-156

Impact Factor: 0,8

MNiSW: 40

Praca o charakterze artykułu poglądowego

1. *Autoimmunizacyjne zapalenie wątroby – alternatywne metody leczenia*

Autorzy: Dominika Kaps-Kopiec, Joanna Pawłowska

Czasopismo: Standardy Medyczne/Pediatrics 2024, T. 21, 461-465

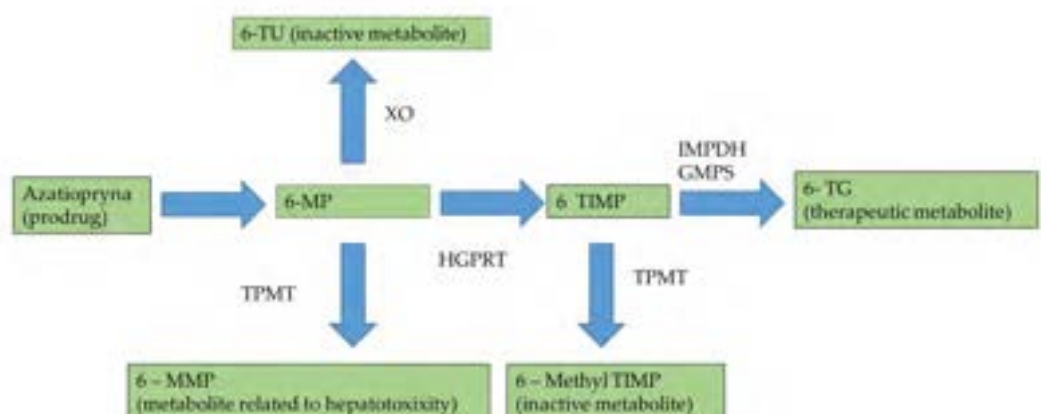
OMÓWIENIE PUBLIKACJI

Praca *"The relationship between 6-thioguanine levels and remission outcomes in children with autoimmune hepatitis. Single center experience"*

Wprowadzenie

Aktualnie prednizon/prednizolon i azatiopryna uznawane są za podstawowe leki w terapii autoimmunizacyjnego zapalenia wątroby.

Azatiopryna jest prolekiem, ulega przekształceniu do 6-tioguaniny (6-TG) i 6-metylmerkaptopuryny (6-MMP). Zaleca się oznaczanie metabolitów azatiopryny w celu uniknięcia działań niepożądanych i oceny aktywności leku. Stężenie 6-TG odnosi się do aktywności leku i mielosupresji, a 6-MMP do hepatotoksyczności [10].



Rycina 1. Metabolizm azatiopryny. 6-MP (6-Mercaptopurine); 6-MMP (6-MethylMercaptopurine); 6TIMP (6Thioinosinemonophosphate); 6-TG (6-Thioguanine); 6-TU (6-Thiouric); 6-MethylTIMP (6-Methylthioinosine monophosphate); TPMT (Thiopurine S-methyltransferase); HGPRT (Hypoxantine – guanine-phosphoribosyltransferase); XO (Xanthine oxidase); IMPDH (Inosine mono phosphate dehydrogenase); GMPS (Guanosine mono-phosphatase synthetase)

Mimo szerokiego zastosowania azatiopryny w hepatologii, na ten moment brak zaleceń dotyczących rekomendowanego stężenia tego leku w leczeniu autoimmunizacyjnego zapalenia wątroby u dzieci. Aby rozwiązać ten problem, eksperci zalecają osiągnięcie stężenia leku rekomendowanego w leczeniu nieswoistych zapaleń jelit u dzieci ($250-450 \text{ pmol}/8 \times 10^8 \text{ red blood cell (RBC)}$)[10].

Celem pracy była ocena zależności pomiędzy stężeniem 6 – TG a zarówno biochemiczną i histopatologiczną remisją.

Materiał i Metody

Przeprowadzono retrospektywną analizę przebiegu choroby u 44 dzieci, u których rozpoznano autoimmunizacyjne zapalenie wątroby między 2011 i 2018 rokiem. Diagnoza została postawiona na podstawie kryteriów: klinicznych, biochemicznych, immunologicznych i histologicznych, po wykluczeniu innych przyczyn stanu zapalnego wątroby: choroby Wilsona, wirusowego zapalenia wątroby typu B i C, niedoboru alfa-1 antytrypsyny, niealkoholowego stłuszczenia wątroby, toksycznego uszkodzenia wątroby. Z próbki wykluczono pacjentów z pierwotnym stwardniającym zapaleniem dróg żółciowych (PSC), zespołem nakładania AIH/PSC, nieswoistymi zapaleniami jelit, celiakią.

W trakcie stawiania diagnozy zebrano następujące dane: płeć, wiek, choroby współistniejące, masa ciała, wysokość, objawy kliniczne, odchylenia w badaniu fizykalnym, odchylenia stwierdzone w biopsji wątroby. Wśród wykonanych badań laboratoryjnych znajdowały się: stężenie białka całkowitego, albuminy, bilirubiny całkowitej, bilirubiny bezpośredniej, aktywność aminotransferaz, aktywność GGTP, INR, liczba leukocytów, stężenie hemoglobiny, liczba płytek krwi, stężenie autoprzeciwciał, stężenie IgG.

Za kryterium biochemicznej remisji przyjęto aktywność ALT poniżej 40 U/l, a remisji histopatologicznej stopień zapalenia w kontrolnej biopsji wątroby oceniany na G1 lub mniej według skali Battsa i Ludwiga.

Metody Statystyczne

Wnioskowanie statystyczne zostało przeprowadzone za pomocą: testu Mann-Whitney-Wilcoxona, testu Kolmogorova-Smirnova i t-Studenta. Miarą korelacji był współczynnik Pearsona. Istotność statystyczną przyjęto na poziomie 0,05. Wyestymowano model regresji logistycznej objaśniający prawdopodobieństwo remisji przy pomocy poziomu 6-TG. Związana z tym modelem krzywa ROC posłużyła do oceny związku pomiędzy stężeniem 6-TG a szansami na osiągnięcie remisji.

Analiza statystyczna została przeprowadzona przy użyciu programu STATA i Octave.

Wyniki

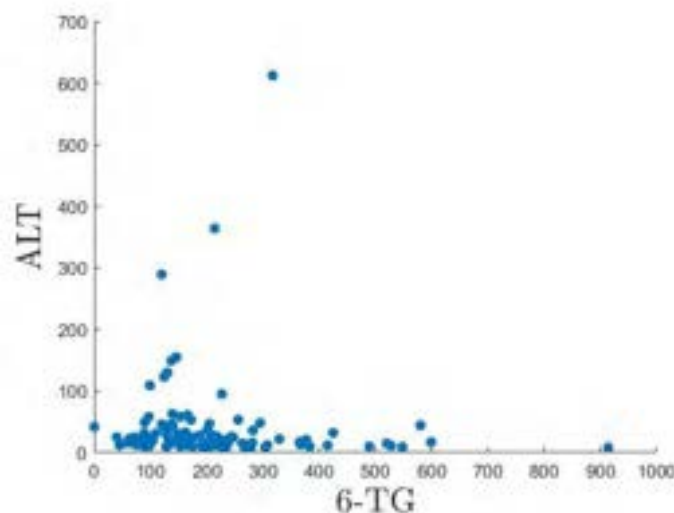
Liczba dzieci zakwalifikowanych do badania wynosiła 44 (68,2% dziewcząt). Średni wiek w momencie rozpoznania wynosił 8,2 lat. W badanej próbie u 63,6% pacjentów występował typ 1 AIH, a u 15,9% typ 2. Najczęściej występującym objawem klinicznym była żółtaczka, hepatomegalia i splenomegalia. Podczas biopsji wątroby mediana zapalenia była w stopniu 3, a włóknienia w stopniu 2 według skali Battsa i Ludwiga.

83,8% pacjentów rozpoczęło leczenie od azatiopryny i prednizonu, podczas gdy 16,2 % tylko od prednizonu.

Cechy populacyjne (N=44; wiek 8,2 ± 3,3 lat)	Procent	
Płeć żeńska	68,2	
Typ 1 AIH	63,6	
Typ 2 AIH	15,9	
AIH seronegatywne	20,5	
Choroby współistniejące	27,2	
Odchylenia w badaniu fizykalnym:		
Zażółcenie twardówek	22,7	
Zażółcenie skóry	27,2	
Jasne stolce	2,3	
Hepatomegalia	25,0	
Splenomegalia	27,2	
Wybroczyny	2,3	
Uogólniona limfadenopatia	2,3	
Odchylenia w wynikach badań laboratoryjnych:	Średnia±SD	N
Białko całkowite	79,92 +/- 10,13	32
Albuminy (g/l)	39,50 +/- 5,11	30
Bilirubina całkowita (mg/dl)	2,72 +/- 3,68	38
Bilirubina bezpośrednia (mg/dl)	2,36 +/- 3,60	34
AST (U/l)	719,18 +/- 728,28	41
ALT (U/l)	689,49 +/- 572,39	41
GGTP (U/l)	88,88 +/- 66,73	39
INR	1,37 +/- 0,31	40
WBC (x10 ³ /ul)	7,66 +/- 4,52	41
Hgb (g/dl)	11,74 +/- 1,37	41
PLT(x10 ³ /ul)	251,17 +/- 129,34	41
IgG (g/l)	26,02 +/- 11,68	29

Tabela 1. Charakterystyka pacjentów

Całkowita liczba stężeń 6-TG zebranych podczas wizyt kontrolnych wynosiła 114. Dla 45 obserwacji była możliwa ocena korelacji pomiędzy dawką azatiopryny i stężeniem 6-TG. Nie stwierdzono korelacji pomiędzy stężeniem 6-TG a dawką AZA (współczynnik korelacji wynosił 0,01, a wartość p 0,93).



Rycina 2. Stężenie 6-TG i aktywność ALT

Remisja biochemiczna

Jak już wspomniano, za remisję biochemiczną przyjęto sytuację, gdy aktywność ALT wynosiła poniżej 40 U/l. Aby ocenić, czy stężenie 6-TG ma wpływ na szanse osiągnięcia remisji zastosowano kilka metod statystycznych.

Pod uwagę wzięto dwa warianty:

Wariant A

W tym wariancie oceniano stężenie 6-TG mierzone równocześnie z aktywnością ALT podczas wizyty kontrolnej (podobnie jak w literaturze).

Próbka w tym wariancie zawierała 114 obserwacji (90 obserwacji w remisji i 24 bez remisji). Korelacja pomiędzy stężeniem 6-TG i aktywnością ALT wynosiła - 0,04, ale nie była istotna statystycznie (wartość p : 0,68). Średnie stężenie 6-TG wynosiło 174,9 pmol/ 8×10^8 red blood cell (RBC) w populacji z aktywną chorobą i 218,6 pmol/ 8×10^8 red blood cell (RBC) w populacji z remisją. Różnica średnich stężeń 6-TG pomiędzy grupami oszacowana przy pomocy testu t -Studenta była nieistotna statystycznie (wartość p : 0,16). Nieistotne statystycznie były również różnice pomiędzy medianami i dystrybuantami stężenia 6-TG w obu grupach, ocenione przy pomocy odpowiednio testu Manna-Whitneya-Wilcoxon'a i Kolmogorowa-Smirnowa (tabela 2).

Wariant B

W tym wariantcie oznaczano średnie stężenia 6-TG oznaczane do momentu danej wizyty kontrolnej.

Całkowita liczba obserwacji dla tego wariantu wynosiła 115 (91 obserwacji w remisji i 24 bez remisji). Nie znaleziono statystycznie istotnej korelacji pomiędzy średnimi stężeniami 6-TG oznaczonymi do momentu danej wizyty kontrolnej, a aktywnością ALT (współczynnik korelacji wynosił -0,04, a wartość p 0,64). Wartość p dla testu t-Studenta wynosiła 0,46, dla testu Manna-Whitneya-Wilcoxon i testu Kolmogorova-Smirnova 0,26.

	Wariant A: stężenie 6-TG mierzone równocześnie z aktywnością ALT	Wariant B: średnie stężenie 6-TG mierzone do czasu wykonania wizyty kontrolnej, podczas której była oznaczona aktywność ALT
Wielkość próbki	114	115
Liczba obserwacji w remisji	90	91
Liczba obserwacji bez remisji	24	24
Korelacja pomiędzy stężeniem 6-TG, a aktywnością ALT	- 0,04 (współczynnik p 0,68)	- 0,04 (współczynnik p 0,64)
Średnie stężenie 6 – TG dla pacjentów z aktywną chorobą (wariant A)/Średnie stężenie 6-TG mierzone z grupy średnich stężeń 6-TG (Wariant B)	174,9 pmol/8x10 ⁸ RBC	202,5 pmol/8x10 ⁸ RBC
Średnie stężenie 6 – TG dla pacjentów będących w remisji (wariant A)/Średnie stężenie 6-TG mierzone z grupy średnich stężeń 6-TG (Wariant B)	218,6 pmol/8x10 ⁸ RBC	223,9 pmol/8x10 ⁸ RBC
Istotna statystycznie różnica pomiędzy rozkładem stężeń 6-TG pomiędzy grupami (pacjentami z remisją i bez remisji)	Nie/Tak (jeżeli pod uwagę weźmiemy test Kolmogorowa-Smirnowa) • Test t-Studenta, wartość p: 0,16 • Mann-Whitney-Wilcoxon: 0,08 • Kolmogorov-Smirnov: 0,04	Nie • Test t-Studenta: 0,46 • Mann-Whitney-Wilcoxon: 0,26 • Kolmogorov-Smirnov: 0,26

Tabela 2. Wyniki dotyczące remisji biochemicznej

Remisja histologiczna

W praktyce klinicznej kontrolna biopsja wątroby w Klinice Gastroenterologii, Hepatologii, Zaburzeń Odżywiania i Pediatrii wykonywana jest średnio po dwóch latach leczenia.

W tej części omówiono zależność pomiędzy stężeniem 6-TG a wynikiem biopsji wątroby. Podobnie jak w poprzedniej części zastosowano dwa warianty.

Wariant A

Liczba pacjentów 22. Liczba obserwacji dla tego wariantu wynosiła 28. Wartość p dla testu t-Studenta wynosiła 0,34 (średnie stężenie 6-TG dla pacjentów z remisją wynosiło 192,6 pmol/8 × 10⁸ red blood cell (RBC), a dla pacjentów z aktywną chorobą 160,2 pmol/8 × 10⁸ red blood cell (RBC). Wartość p dla testu Manna-Whitneya-Wilcoxon'a wynosiła 0,35, a dla testu Kolmogorova-Smirnova 0,58.

Wariant B

Liczba pacjentów dla tego wariantu wynosiła 28. Wielkość próbki 34. Wartość p dla testu t-Studenta wynosiła 0,90, dla testu Manna-Whitneya-Wilcoxon'a wynosiła 0,80, a dla testu Kolmogorova-Smirnova 0,99.

	Wariant A: stężenie 6-TG oznaczone w tym samym czasie kiedy była wykonywana biopsja wątroby (N=22)	Wariant B: Średnie stężenie 6-TG mierzone do czasu wykonania kontrolnej biopsji wątroby (N=28)
Wielkość próbki	28	34
Liczba obserwacji w remisji	18	21
Liczba obserwacji bez remisji	10	13
Średnie stężenie 6-TG w populacji z aktywną chorobą (Wariant A)/ Średnie stężenie 6-TG mierzone z grupy średnich stężeń 6-TG (Wariant B)	160,2 pmol/8x10 ⁸ RBC	213,6 pmol/8x10 ⁸ RBC
Średnie stężenie 6-TG w populacji z remisją (Wariant A)/ Średnie stężenie 6-TG mierzone z grupy średnich stężeń 6-TG (Wariant B)	192,6 pmol/8x10 ⁸ RBC	209,24 pmol/8x10 ⁸ RBC
Istotna statystycznie różnica pomiędzy rozkładem stężeń 6-TG pomiędzy grupami (pacjentami z remisją i bez remisji)	Nie • Test t-Studenta: 0,34 • Mann-Whitney-Wilcoxon: 0,35 • Kolmogorov-Smirnov: 0,58	Nie • Test t-Studenta: 0,90 • Mann-Whitney-Wilcoxon: 0,80 • Kolmogorov-Smirnov: 0,99

Tabela 3. Wyniki dotyczące remisji histologicznej

Dyskusja

Autoimmunizacyjne zapalenie wątroby to choroba, która może doprowadzić do niewydolności narządu, jeśli nie jest odpowiednio leczona. Obecnie standardowa terapia składa się z prednizolonu (lub prednizonu) oraz azatiopryny. Do tej pory przeprowadzono jedynie kilka badań, podczas których próbowano ustalić zalecany poziom 6-TG dla dzieci z AIH. Z uwagi na różnice w fenotypie choroby i metabolizmie AZA między pacjentami pediatrycznymi a dorosłymi, leczenie dzieci nie powinno automatycznie bazować na

wytycznych skierowanych dla dorosłych. W artykule porównano uzyskane wyniki z wynikami z literatury.

Analiza wyników remisji biochemicznej potwierdziła konsensus obecny w większości badań, który sugeruje, że różnica w stężeniu 6-TG pomiędzy pacjentami w remisji a pacjentami z aktywną chorobą nie jest statystycznie istotna. Warto podkreślić, że istnieje tylko jedna metaanaliza wykazująca, że średnie stężenia 6-TG były znacząco wyższe u pacjentów w remisji niż u pacjentów bez remisji, z różnicą $15,67 \text{ pmol/8} \times 10^8 \text{ RBC}$. Autorzy podkreślili jednak fakt, że spośród siedmiu badań włączonych do metaanalizy, tylko jedno wykazało taką zależność [11]. Co więcej, definicja remisji nie była ujednolicona i opierała się na różnych progach aktywności ALT, poniżej której pacjenci byli klasyfikowani jako będący w remisji.

W omawianym artykule wyniki wszystkich testów statystycznych – z wyjątkiem testu Kołmogorova-Smirnova dla wariantu A dotyczącego remisji biochemicznej – nie były statystycznie istotne. Aby to stwierdzić, analizowano wartości stężenia 6-TG mierzonego równocześnie z aktywnością ALT (tj. podczas tej samej wizyty kontrolnej) zgodnie z literaturą, a także stwierdzono, że pacjenci w remisji i bez remisji nie różnili się pod względem średnich stężeń 6-TG mierzonych do momentu oceny aktywności ALT.

W pracy nie stwierdzono istotnej statystycznie różnicy w stężeniach 6-TG pomiędzy pacjentami w remisji a pacjentami bez remisji, co jest zgodne z wynikami Bolii i wsp. [8] oraz Sheiko i wsp. [10]. W omawianym badaniu mediana stężenia 6-TG u pacjentów w remisji wyniosła $192,5 \text{ pmol/8} \times 10^8 \text{ RBC}$, podczas gdy poziom odpowiadający pacjentom bez remisji wyniósł $139,5 \text{ pmol/8} \times 10^8 \text{ RBC}$. Analogiczne wartości raportowane przez Bolia i wsp. to $271 \text{ pmol/8} \times 10^8 \text{ RBC}$ dla pacjentów w remisji i $224 \text{ pmol/8} \times 10^8 \text{ RBC}$ dla dzieci bez remisji [8].

W artykule opisano statystycznie nieistotną korelację pomiędzy stężeniami 6-TG i aktywnością ALT (współczynnik korelacji w artykule wyniósł $-0,04$ w porównaniu do $-0,18$ raportowanego przez Bolia i wsp. [8]). Podobnie jak Bolia i wsp. [8], nie znaleziono konkretnego stężenia 6-TG, który mógłby być rutynowo zalecany podczas leczenia AIH: wartość AUC związana z krzywą ROC była relatywnie niska zarówno w dyskutowanym badaniu ($0,62$), jak i badaniu Bolia i wsp. ($0,61$), podobnie jak czułość i swoistość

wynikających wartości progowych. W pracy stwierdzono, że korelacja między dawką AZA a odpowiadającym stężeniem 6-TG była słaba i statystycznie nieistotna, współczynnik korelacji wynosił 0,01 z p-wartością równą 0,93.

W artykule odnotowano, że średni współczynnik remisji biochemicznej mierzony za pomocą aktywności ALT był wyższy dla pacjentów ze stężeniem 6-TG wyższym niż $250 \text{ pmol}/8 \times 10^8 \text{ RBC}$ w porównaniu do tych ze stężeniami poniżej tego progu, co jest podobne do wyników Sheiko i wsp. [10]. Średnia remisji dla tej grupy wynosiła 85%, a dla drugiej grupy 77%. Być może współczynniki remisji raportowane w publikacji są niższe niż te raportowane przez Sheiko i wsp., ponieważ definicja remisji w pracy doktorskiej jest bardziej restrykcyjna (ustalono próg remisji na 40 U/l ALT, podczas gdy Sheiko i wsp. używali wartości 50 U/l). Podobnie jak w analizie Sheiko i wsp., różnica między współczynnikami remisji w publikacji nie była statystycznie istotna (p-wartości związane z testem t oraz testem Fishera wynosiły odpowiednio 0,37 i 0,43).

Co ciekawe, wyniki Nguyen i wsp. [12] znacznie różniły się od tych raportowanych w pracy doktorskiej. Nguyen i wsp. zaobserwowali stosunkowo wysokie stężenia 6-TG u pacjentów w ich próbie, średni poziom 6-TG wynosił $478 \text{ pmol}/8 \times 10^8 \text{ RBC}$ (ze średnią $427 \text{ pmol}/8 \times 10^8 \text{ RBC}$ i zakresem od 51 do $1966 \text{ pmol}/8 \times 10^8 \text{ RBC}$) [12], podczas gdy analogiczna wartość w omawianej publikacji to $209,3 \text{ pmol}/8 \times 10^8 \text{ RBC}$. Niemniej jednak, podobnie jak w pracy doktorskiej, test Manna-Whitneya-Wilcoxona nie wykazał istotnej różnicy między poziomami 6-TG u dzieci w remisji i u tych z aktywną chorobą [12].

Praca *“Classical autoimmune hepatitis and the IgG4-associated autoimmune hepatitis in paediatric patients”*

Wprowadzenie

Choroby związane z IgG4 to przewlekłe, układowe choroby zapalne, charakteryzujące się naciekiem tkanek z IgG4 dodatnich komórek plazmatycznych, rozwoju włóknienia i zwiększonego stężenia IgG4 w surowicy. Choroby te głównie dotyczą mężczyzn w 50-60 roku życia. Wśród dzieci do najczęściej zajętych narządów należą: oczodół, gruczoł ślinowy, trzustka, węzły chłonne. Zajęcie wątroby jest mniej znane. Nadal nie ma pewności czy IgG4-autoimmunizacyjne zapalenie wątroby jest typem AIH czy raczej wątrobową manifestacją chorób związanych z IgG4.

Materiał i metody

Celem pracy była ocena częstości występowania i charakterystyka IgG4 -AIH wśród dzieci w Instytucie „Pomnik- Centrum Zdrowia Dziecka”. Przeprowadzono retrospektywną analizę 23 dzieci z AIH zdiagnozowanym pomiędzy 2011 i 2018 rokiem. Diagnoza była postawiona na podstawie klinicznych, biochemicznych, immunologicznych cech oraz zmian w badaniu histopatologicznym, po wykluczeniu innych znanych przyczyn chorób wątroby. 21 pacjentów otrzymało standardowe leczenie składające się z prednizonu i azatiopryny, 2 pacjentów otrzymało tylko prednizon (pierwszy pacjent nie był leczony azatiopryną z powodu braku autoprzeciwciał w wynikach badań laboratoryjnych i niewielkiego nacieku zapalnego w biopsji wątroby, a drugi z powodu niewielkiego nacieku w biopsji wątroby i niskiego stężenia IgG). Pacjenci zostali podzieleni na dwie podgrupy w zależności od obecności IgG4 dodatnich komórek plazmatycznych w biopsji wątroby.

IgG4-AIH było zdiagnozowane, gdy w biopsji wątroby stwierdzono min. 10 IgG4 dodatnich komórek plazmatycznych w przestrzeni wrotno-żółciowej.

Kontrolna biopsja wątroby była przeprowadzona średnio po 25 miesiącach. U jednego pacjenta nie wykonano kontrolnej biopsji z powodu zaburzeń krzepnięcia.

Remisja była definiowana gdy aktywność aminotransferaz była w granicach normy, stężenie IgG było w normie, stwierdzono brak lub znaczne obniżenie miana autoprzeciwciał oraz

w biopsji wątroby widoczne było wycofanie się zmian zapalnych lub zmniejszenie stopnia zapalenia.

Histopatologia i immunohistochemia

Wszystkie próbki pobrane podczas biopsji wątroby zostały utrwalone w 4% buforowanej formalinie przez 24 godziny, następnie umieszczone w bloczkach parafinowych oraz wybarwione hematoksyliną i eozyną. Przeprowadzono reakcję PAS (ang. periodic acid-Shiff) z i bez diastazy oraz barwienie Gomoriego i Azan w celu oceny zmian mikroskopowych. Ocena histopatologiczna została wykonana za pomocą międzynarodowych kryteriów składających się ze stopnia aktywności zmian zapalnych i zaawansowania włóknienia (użyto skali Battsa i Ludwiga). Dodatkowo oceniono nacieki składający się z komórek plazmatycznych i nacieki z limfocytów w ścianie przewodów żółciowych.

Fenotyp reakcji zapalnej był oceniany w bioptatach wątrobowych zatopionych w parafinie przy użyciu przeciwciał monoklonalnych skierowanych przeciwko IgG4 dodatnim komórkom plazmatycznym, wykorzystano Dako EnVision system.

IgG4-AIH było rozpoznane, gdy w materiale z biopsji wątroby stwierdzono min. 10 IgG4 dodatnich komórek plazmatycznych w przestrzeni wrotno-żółciowej.

Grupy porównano pod względem:

- stopnia zapalenia (*grading*)
- stopnia włóknienia (*staging*)
- stopnia zapalenia w przestrzeniach wrotnych
- zaawansowania nacieków z limfocytów i martwicy kęsowej (*interface hepatitis*)
- obecności zrazikowego zapalenia wątroby (*lobular hepatitis*)
- uszkodzenia dróg żółciowych
- cholestazy

Metody statystyczne

Użyto testu Manna-Whitney U i testu Fishera.

Wyniki

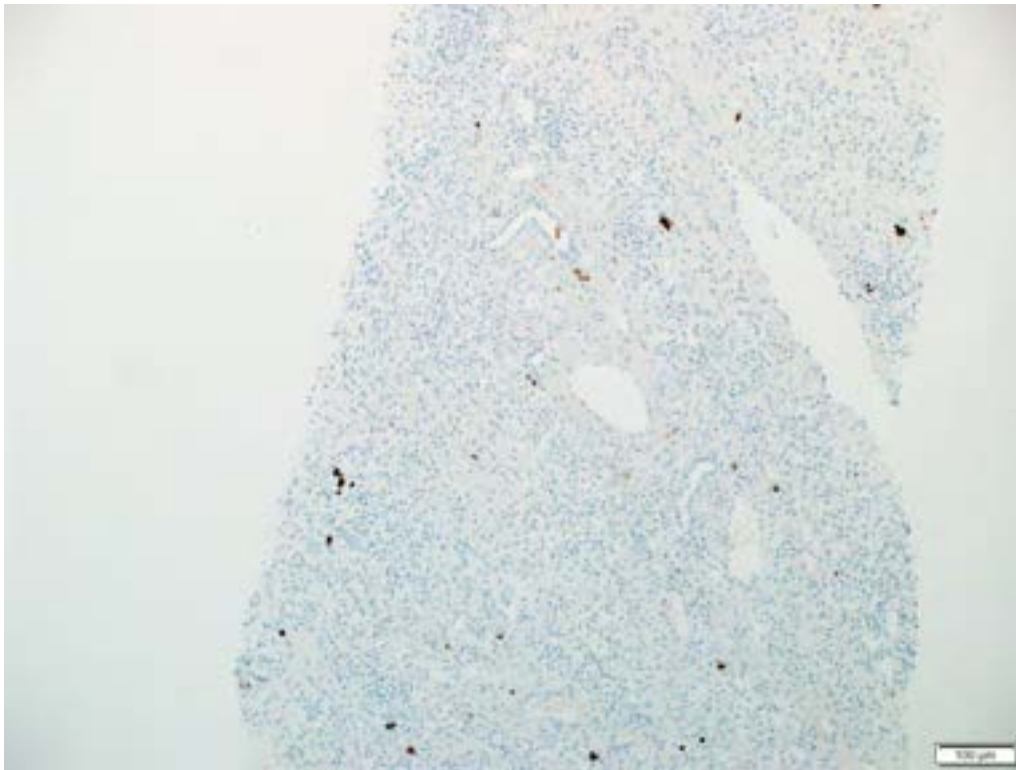
W badaniu wzięło udział 23 dzieci z autoimmunizacyjnym zapaleniem wątroby (15 dziewcząt i 8 chłopców), średni wiek pacjentów wynosił 105 miesięcy. 8 dzieci (35%) spełniało kryteria IgG4-AIH. Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic dotyczących cech klinicznych, laboratoryjnych i histopatologicznych pomiędzy grupami.

	Klasyczne AIH (n=15)	IgG4-AIH (n=8)	Współczynnik p
Wiek (miesiące)	108 (48-168)	90 (30-144)	0,27
Płeć (ż/m)	9/6	6/2	0,66
Typ 1 AIH	13	6	0,59
Typ 2 AIH	0	2	0,11
Seronegatywne AIH	2	0	0,53
ALT (U/l)	423 (92 – 1587)	851 (162-2116)	0,32
AST (U/l)	422 (60-1696)	895 (93-3614)	0,48
GGTP (U/l)	110 (34-509)	67 (35-169)	0,16
IgG (g/l)	32,2 (10-47,8)	17,4 (13,6-32,6)	0,21
INR	1,25 (0,97-2,1)	1,37 (1,09-1,88)	0,67
Bilirubina całkowita mg/dl	1,52 (0,22-19,07)	2,16 (0,40-7,57)	0,63
Grading	3 (2-4)	3 (2-4)	0,57
Staging	3 (0-4)	3 (2-4)	0,18
Stopień aktywności zmian zapalnych w przestrzeniach wrotnych	3 (2-4)	3 (2-4)	0,21
Interface hepatitis grade	3 (1-3)	3 (2-4)	0,30
Lobular hepatitis	2 (0-3)	2 (1-3)	0,65
Uszkodzenie dróg żółciowych	1 (0-2)	1 (0-2)	0,47
Cholestaza tak/nie	3/12	1/7	0,99

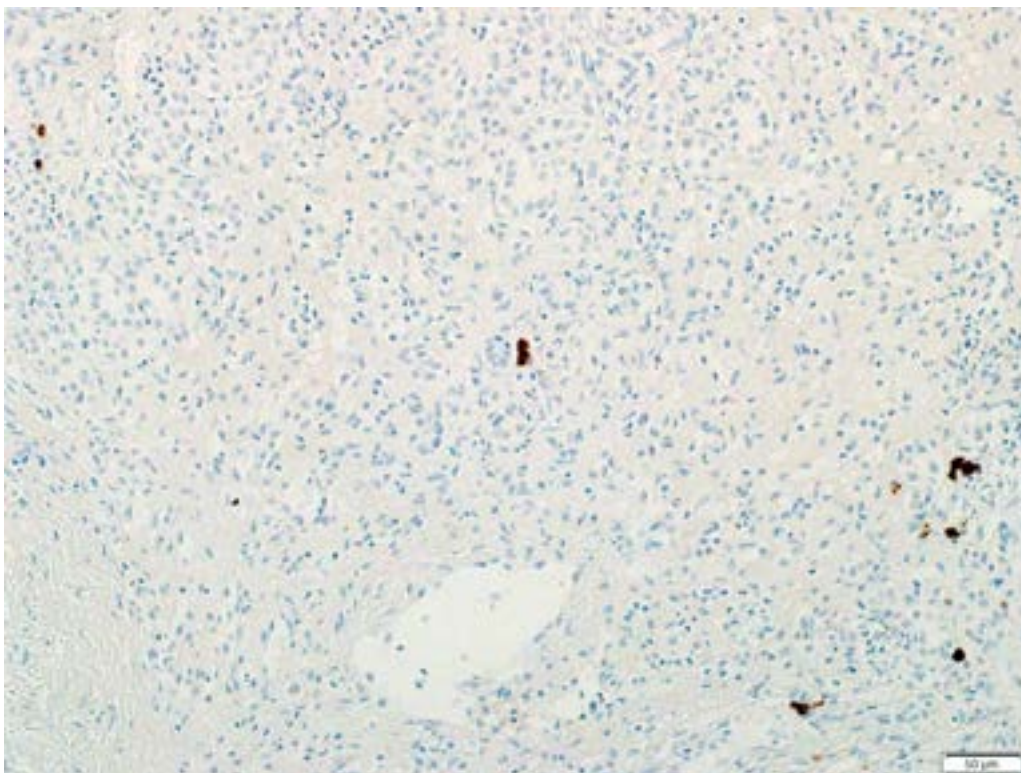
Tabela 4. Prezentacja kliniczna, wyniki badań laboratoryjnych i histopatologicznych w momencie stawiania diagnozy

	Klasyczne AIH (n=15)	IgG4-AIH (n=7)	Współczynnik p
ALT (U/l)	22 (7-248)	13 (8-472)	0,81
AST (U/l)	24 (15-150)	22 (17-320)	0,70
GGTP (U/l)	16 (9-238)	14 (10-57)	0,57
IgG (g/l)	13,4 (9,3-23)	9,9 (7,9-28)	0,23
INR	1,09 (0,94-1,26)	1,01 (0,98-1,17)	0,94
Bilirubina całkowita mg/dl	0,56 (0,19-2,5)	0,31 (0,22-0,71)	0,06
Grading	2 (0-3)	1 (1-3)	0,52
Staging	2 (0-3)	2 (0-3)	0,80
Stopień aktywności zmian zapalnych w przestrzeniach wrotnych	2 (0-3)	1 (1-2)	0,43
Interface hepatitis grade	1 (0-3)	1 (0-3)	0,66
Lobular hepatitis	0 (0-2)	0 (0-2)	0,71
Uszkodzenie dróg żółciowych	0 (0-2)	0 (0-2)	0,25
Cholestaza tak/nie	1/14	0/7	0,99

Tabela 5. Wyniki badań laboratoryjnych i histopatologicznych w czasie wykonania kontrolnej biopsji wątroby



Fotografia 1. Obraz IgG4 dodatnich komórek plazmatycznych w materiale z biopsji wątroby



Fotografia 2. Obraz IgG4 dodatnich komórek plazmatycznych w materiale z biopsji wątroby (powiększenie)

Dyskusja

W celu rozpoznania chorób zależnych od IgG4 należy spełnić następujące kryteria: podwyższone stężenie przeciwciał IgG4 w surowicy oraz obfity naciek z IgG4 dodatnich komórek plazmatycznych [13]. IgG4-AIH jest diagnozowane na podstawie znacznego nacieku z komórek IgG4 dodatnich w biopsji wątroby [13]. Nadal trwa dyskusja czy IgG4-AIH jest podtypem klasycznego AIH czy raczej wątrobową manifestacją chorób IgG4 zależnych. Warto podkreślić, że w literaturze można znaleźć różne kryteria IgG4-AIH (różnią się ilością IgG4 dodatnich komórek plazmatycznych koniecznych do rozpoznania). Na przykład Chung i wsp. i Amarapurkar i wsp. rozpoznają chorobę, gdy w biopsji wątroby stwierdza się min. 5 wymienionych komórek. W pracy doktorskiej przyjęto kryteria zaproponowane przez Umemura i wsp. Te same kryteria przyjął również Aydemir i wsp., którzy jako pierwsi opisali IgG4-AIH u dzieci.

Większość przypadków z dostępnej literatury podaje, że cechy biochemiczne nie różnią się pomiędzy grupami, to samo stwierdzono w pracy doktorskiej [14-18].

Chunget i wsp., Umemura i wsp. i Canivet i wsp. podają brak różnic w stężeniu ANA, ale stężenie IgG było znacząco wyższe u pacjentów z IgG4-AIH w dwóch badaniach Chung i wsp i Canivet i wsp [14,15,17]. W pracy doktorskiej nie stwierdzono różnic zarówno w stężeniu ANA jak i w stężeniu IgG.

W przeciwieństwie do wyników badań przeprowadzonych w grupie dorosłych, stopień aktywności zmian martwiczo-zapalnych tzw. *grading* (wyrażony jako obecność limfoidalnych nacieków zapalnych w przestrzeniach wrotno-żółciowych, obecność martwicy kęsowej w zrazikach i martwicy śródzrazikowej) u dzieci nie różnił się znacząco pomiędzy grupami.

Dorośli pacjenci z chorobami IgG4 zależnymi charakteryzują się bardziej zaawansowanym stopniem aktywności zmian martwiczo-zapalnych oraz stopniem włóknienia niż w klasycznym AIH [19]. W pracy doktorskiej w obu grupach obserwowano podobny stopień aktywności zmian zapalnych i włóknienia. Nie stwierdzono również różnicy w stopniu aktywności nacieku zapalnego w przestrzeniach wrotno-żółciowych, co jest opisywane u dorosłych.

Włóknienie z przebudową marską (tzw. storiform fibrosis) jest charakterystyczne dla chorób IgG4 zależnych. Brak nacieku innych narządów wspiera tezę, że IgG4-AIH jest raczej podtypem klasycznego AIH niż wątrobową manifestacją chorób IgG4 zależnych.

Wnioski

Obecność IgG4 dodatnich komórek plazmatycznych potwierdza, że wśród dzieci z autoimmunizacyjnym zapaleniem wątroby występuje również IgG4-AIH, ale ta komponenta wydaje się być nieistotna klinicznie. W związku z tym w tej grupie pacjentów powinno utrzymać się standardowy schemat leczenia.

Praca „Autoimmunizacyjne zapalenie wątroby – alternatywne metody leczenia”

Wprowadzenie

Autoimmunizacyjne zapalenie wątroby to przewlekła, postępująca choroba zapalna, wymagająca wdrożenia skutecznego leczenia, aby uniknąć progresji choroby. Standardowe leczenie oparte na prednizonie/prednizolonie i azatioprynie jest skuteczne w przypadku 80-90% pacjentów. W razie braku skuteczności takiego leczenia istnieje konieczność zastosowania alternatywnych metod terapii. W omawianym artykule opisano najczęściej stosowane leki drugiego wyboru w populacji pediatrycznej.

Leki drugiego wyboru w populacji pediatrycznej

Budezonid – stosowany zarówno do indukcji jak i podtrzymania remisji choroby. Nie może być stosowany w przypadku stwierdzonej marskości wątroby, która dotyczy co najmniej 1/3 pacjentów z AIH [9]. Jest skuteczny w utrzymaniu remisji choroby u pacjentów, którzy osiągnęli ją za pomocą prednizonu [20]. Wyniki dotyczące remisji w przypadku stosowania budezonidu są gorsze niż w przypadku stosowania standardowego leczenia, dlatego zaleca się ostrożne podchodzenie do terapii budezonidem AIH u pacjentów pediatrycznych [21].

Cyklosporyna A - lek szeroko stosowany w transplantologii. Działania niepożądane ograniczające jej stosowanie to: nefrotoksyczność, nadciśnienie tętnicze, negatywne efekty kosmetyczne (przerost dziąseł, hirsutyzm). W czasie leczenia konieczne jest monitorowanie czynności nerek [22]. U pacjentów po transplantacji wątroby leczonych inhibitorami kalcyneuryny (cyklosporyna A, tacrolimus) może rozwijać się *AIH de novo* w przeszczepionej wątrobie.

Mykofenolan mofetilu- w wielu krajach jest najczęściej używanym lekiem drugiego wyboru, najczęściej w połączeniu z prednizonem. Stosowany jest zarówno u pacjentów nietolerujących azatiopryny oraz u tych, którzy nie w pełni odpowiedzieli na standardowe leczenie. Badania pokazują, że jest bardziej skuteczny w pierwszej grupie pacjentów. Stosowany jest zarówno do indukcji jak i podtrzymania remisji choroby [23]. Wykazuje

działanie teratogenne, co może być istotnym ograniczeniem w jego stosowaniu, ponieważ dużą grupą pacjentów z AIH są kobiety w wieku rozrodczym.

Tacrolimus – silniejszy lek immunosupresyjny niż cyklosporyna. Mimo, że w monoterapii nie jest wystarczający do osiągnięcia całkowitej remisji u wszystkich pacjentów, to pozwala zredukować dawkę prednizolonu i azatiopryny, unikając dzięki temu ich działań niepożądanych [21]. Należy jednak mieć na uwadze, że podawanie tacrolimusu związane jest z następującymi działaniami niepożądanymi: nefrotoksyczność, cukrzyca, działaniami ubocznymi ze strony układu nerwowego i przewodu pokarmowego [24,25].

Rituximab – chimeryczne przeciwciało monoklonalne anti-CD 20, powodujące spadek liczby limfocytów B. Lek był zastosowany z sukcesem u dwójki dzieci z opornym na leczenie AIH w 2013 roku przez D'Agostino i wsp. jako terapia ratunkowa. Uzyskano kliniczną i biochemiczną remisję, nie odnotowano skutków ubocznych [26].

W retrospektywnym badaniu łączącym doświadczenie związane z leczeniem rituximabem 22 pacjentów z AIH, określanych jako „difficult to treat”, z Północnej Europy i Kanady, wykazano poprawę w wynikach badań laboratoryjnych oraz zredukowano dawkę steroidów, po podaniu dwóch dawek rituksimabu w odstępie dwóch tygodni [26].

Warto podkreślić konieczność prowadzenia dalszych badań oceniających skuteczność i profil bezpieczeństwa tego leku, ponieważ rituksimab wykazuje długookresowe działanie niepożądane w postaci obniżenia stężenia limfocytów B [27].

Infliximab – inhibitor czynnika martwicy nowotworów (TNF-alfa), zastosowany w leczeniu AIH jako terapia ratunkowa. Rajanayagam i wsp. opisali przypadek 10 - letniej dziewczynki z AIH opornym na leczenie wysokimi dawkami steroidów, azatiopryną, mykofenolanem mofetilu i tacrolimusem. Dzięki zastosowanemu leczeniu odstawiono steroidy, poprawiono jakość życia pacjentki oraz odroczone termin wykonania przeszczepienia wątroby [28]. Jednak schemat dotyczący dawkowania infliximabu i jego profil bezpieczeństwa w leczeniu AIH nadal pozostaje nieznan.

Sirolimus – lek zapobiegający odrzuceniu przeszczepionego narządu stosowany w transplantologii. Dostępne dane dotyczące leczenia sirolimusem AIH są skąpe i raczej niesatysfakcjonujące. Wśród częstych działań niepożądanych występujących podczas

leczenia wymienia się: hiperlipidemię, owrzodzenia w obrębie jamy ustnej, owrzodzenia kończyn dolnych [29-31].

Everolimus – zapobiega procesowi odrzucania przeszczepionego narządu oraz stosowany jest jako lek przeciwnowotworowy. Istnieje niewiele danych dotyczących leczenia pacjentów z AIH. Był zastosowany u 7 pacjentów nieodpowiadających na standardowe lub alternatywne leczenie lub z istotnymi działaniami niepożądanymi. Osiągnięto normalizację aktywności aminotransferaz u 3 pacjentów oraz obniżenie aktywności enzymów u pozostałych, nie obserwując przy tym istotnych działań niepożądanych [32].

6-Merkaptopuryna – jest używana w leczeniu nieswoistych zapaleń jelit, uważa się, że jest lepiej tolerowana niż azatiopryna [33,34]. W przypadku AIH była skutecznie zastosowana w niewielkiej grupie pacjentów nietolerujących azatiopryny [35,36].

Allopurinol – hepatotoksyczność azatiopryny związana jest z jej zaburzonym metabolizmem, kiedy zamiast 6-tioguaniny (6-TG) następuje jej przekształcenie do 6-metylmerkaptopuryny(6-MMP). Allopurinol skutecznie „przekierowuje” metabolizm azatiopryny w kierunku 6-TG [7]. De Boer YS i wsp. oraz Al-Shamma S i wsp. w swoich pracach pokazali, że allopurinol jest skuteczny u pacjentów opornych lub nietolerujących azatiopryny z powodu jej zaburzonego metabolizmu [37,38].

Podsumowanie

Autoimmunizacyjne zapalenie wątroby wymaga skutecznego leczenia, aby uniknąć progresji choroby. Należy pamiętać, że u dzieci i młodzieży choroba ma bardziej agresywny przebieg w porównaniu do pacjentów dorosłych. Standardowe leczenie oparte na steroidach i azatioprynie jest skuteczne w przypadku 80-90% pacjentów [6]. W przypadku braku skuteczności takiego leczenia istnieje konieczność zastosowania alternatywnych metod terapii. Należy mieć na uwadze, że prowadzenie leczenia pacjentów z AIH lekami drugiego wyboru wymaga ostrożności oraz indywidualnego podejścia, ważne aby leczenie prowadzić w ośrodkach, które mają doświadczenie w ich stosowaniu i monitorowaniu działań niepożądanych.

DYSKUSJA

Odnosząc się do celów pracy doktorskiej, na podstawie przeprowadzonej retrospektywnej analizy przebiegu choroby i leczenia pediatrycznych pacjentów z autoimmunizacyjnym zapaleniem wątroby:

- stwierdzono brak statystycznie istotnej korelacji pomiędzy stężeniem 6 - TG a remisją biochemiczną i histopatologiczną u pacjentów pediatrycznych z autoimmunizacyjnym zapaleniem wątroby
- podobnie jak w dostępnej literaturze przedmiotu, zastosowanie metod statystycznych nie wskazało stężenia 6-TG odpowiedniego dla pacjentów z AIH
- wykazano brak statycznie znamiennych różnic w przebiegu choroby u pacjentów z IgG4 - AIH i klasycznym AIH (porównywano przebieg kliniczny choroby, wyniki badań laboratoryjnych i wynik badania histopatologicznego). Z tego powodu, w chwili obecnej nie ma wskazań do modyfikacji leczenia u pacjentów, u których w biopsji wątroby wykazano obecność IgG4 dodatnich komórek plazmatycznych.
- u pacjentów, u których standardowe leczenie jest nieskuteczne, warto pamiętać o możliwości włączenia leków drugiego wyboru. Aktualnie mykofenolan mofetilu w wielu krajach jest najczęściej używanym lekiem drugiego wyboru, najczęściej w połączeniu z prednizonem. Warto podkreślić, że takie leczenie powinno być prowadzone z dużą ostrożnością, pamiętając o działaniach niepożądanych stosowanych leków.

WYKAZ TABEL, RYCIN I FOTOGRAFII

Tabela 1. Charakterystyka pacjentów	15
Tabela 2. Wyniki dotyczące remisji biochemicznej.....	18
Tabela 3. Wyniki dotyczące remisji histologicznej	20
Tabela 4. Prezentacja kliniczna, wyniki badań laboratoryjnych i histopatologicznych w momencie stawiania diagnozy	25
Tabela 5. Wyniki badań laboratoryjnych i histopatologicznych w czasie wykonania kontrolnej biopsji wątroby	26
Rycina 1. Metabolizm azatiopryny	12
Rycina 2. Stężenie 6-TG i aktywność ALT	16
Fotografia 1. Obraz IgG4 dodatnich komórek plazmatycznych w materiale z biopsji wątroby	27
Fotografia 2. Obraz IgG4 dodatnich komórek plazmatycznych w materiale z biopsji wątroby (powiększenie)	27

PIŚMIENNICTWO

1. Mieli-Vergani G, Vergani D. Autoimmune Liver Disease: news and perspectives. *Transl Med UniSa* 2011;1:195-212
2. Mieli-Vergani G, Vergani D, Baumann U i wsp. Diagnosis and Management of Pediatric Autoimmune Liver Disease: ESPGHAN Hepatology Committee Position Statement. *JPGN* 2018;66:345–360
3. Gregorio GV, Portamann B, Reid F i wsp. Autoimmune hepatitis in childhood; a 20 – year experience. *Hepatology* 1997;25:541-547
4. Floreani A, Liberal R, Vergani D, Mieli-Vergani G. Autoimmune hepatitis: Contrasts and comparisons in children and adults – A comprehensive review. *J Autoimmun* 2013;46:7-16
5. Mieli-Vergani G, Vergani D. Autoimmune Liver Disease: news and perspectives. *Transl Med UniSa* 2011;1:195-212
6. Wong GW, Heneghan MA. Association of extrahepatic manifestations with autoimmune hepatitis. *Dig Dis* 2015;33(suppl 2): 25-35
7. Nastasio S, Sciveres M, Matarazzo L, Maggiore G. Old and New Treatments for Pediatric Autoimmune Hepatitis. *Current Pediatric Reviews* 2018,14,187-195
8. Rishi Bolia, Jeremy Rajanayagan, Winita Hardikar. Lower 6-MMP/6 – TG ratio may be a therapeutic target in Pediatric Autoimmune Hepatitis. *JPGN* 2018;67: 695-700
9. Beretta-Piccoli BT, Mieli-Veragani G, Vergani D. Autoimmune hepatitis: Standard treatment and systemic review of alternative treatments. *World J Gastroenterol* 2017 Sep 7;23(33):6030-6048
10. Sheiko MA, Sundaram SS, Capocelli KE i wsp. Outcomes in pediatric autoimmune hepatitis and significance of azathioprine metabolites. *JPGN* 2017; 65: 80-85.
11. Bolia R, Goel A, Srivastava A. Systematic review and meta-analysis of thiopurine metabolite levels and biochemical remission in autoimmune hepatitis. *The Drug Monit* 2021; 43: 609-616
12. Nguyen TM, Daubard M, Le Gall C i wsp. Monitoring of azathioprine metabolites in pediatric patients with autoimmune hepatitis. *The Drug Monit* 2010; 32: 433-437

13. Minaga K, Watanabe T, Chung H i wsp. Autoimmune hepatitis and IgG4-related disease. *World J Gastroenterol* 2019; 25:2308-2314.
14. Chung H, Watanabe T, Kudo M i wsp. Identification and characterization of IgG4-associated autoimmune hepatitis. *Liver Int* 2010; 30: 222-231.
15. Umemura T, Zen Y, Hamano H i wsp. Clinical significance of immunoglobulin G4-associated autoimmune hepatitis. *J Gastroenterol* 2011; 46: 48-55.
16. Amarapurkar AD, Amarapurkar DN. Immunoglobulin IgG4 and autoimmune hepatitis. *Trop Gastroenterol* 2015; 36: 112-117.
17. Canivet CM, Anty R, Patouraux S i wsp. Immunoglobulin G4-associated autoimmune hepatitis may be found in Western countries. *Dig Liver Dis* 2016; 48: 302-308.
18. Aydemir Y, Akcoren Z, Demir H i wsp. Clinical and histopathological feature of immunoglobulin G4-associated autoimmune hepatitis in children. *J Gastroenterol Hepatol* 2019; 34: 742-746.
19. Yoshitaka A, Koshi Mat, Kazuya A i wsp. Clinicopathological features of autoimmune hepatitis with IgG4-positive plasma cell infiltration. *Dig Dis* 2020; 39: 236-244.
20. Werner M, Wallerstedt S, Lindgren S i wsp. Characteristics and longterm outcome of patients with autoimmune hepatitis related to the initial treatment response. *Scand J Gastroenterol* 2010;45:457-467.
21. Maggiore G, Nastasio S, Sciveres M. Juvenile autoimmune hepatitis. Spectrum of the disease. *World J Hepatol* 2014;6:464-476.
22. Alvarez F, Ciocca M, Canero-Velasco C i wsp. Short-term cyclosporine induces a remission of autoimmune hepatitis in children. *J Hepatol* 1999;30:222-227.
23. Gao EK, Lo D, Cheney R i wsp. Abnormal differentiation of thymocytes in mice treated with cyclosporin. *Nature* 1988;336:179-176.
24. Marlaka JR, Papadogiannakis N, Fischler B i wsp. Tacrolimus without or with the addition of conventional immunosuppressive treatment in juvenile autoimmune hepatitis. *Acta Paediatr* 2012;101:993-999.
25. Webster A, Woodroffe RC, Taylor RS i wsp. Tacrolimus versus cyclosporin as primary immunosuppression for kidney transplant recipients. *Cochrane Database Syst Rev* 2005;4:CD003961

26. D'Agostino D, Costaguta A, Alvarez F. Successful treatment of refractory autoimmune hepatitis with rituximab. *Pediatrics* 2013;132:526-530.
27. Pavanello F, Zucca E, Ghielmini M. Rituximab: 13 open questions after 20 years of clinical use. *Cancer Treat Rev* 2017;53:38-46.
28. Rajanayagam J, Lewindon PJ. Infliximab as rescue therapy in paediatric autoimmune hepatitis. *J Hepatol* 2013;59:908-909.
29. Nedelkopoulou N, Vadamalayan B, Vergani D i wsp. Anti-TNFalfa Treatment in Children and Adolescents With Combined Inflammatory Bowel Disease and Autoimmune Liver Disease. *JPGN* 2018;66:100-105
30. Chatrath H, Allen L, Boyer TD. Use of sirolimus in the treatment of refractory autoimmune hepatitis. *Am J Med* 2014;127:1128-1131.
31. Kurowski J, Melin-Aldana H, Bass L i wsp. Sirolimus as rescue therapy in pediatric autoimmune hepatitis. *JPGN* 2014;58:4-6.
32. Ytting H, Larsen FS. Everolimus treatment for patients with autoimmune hepatitis and poor response to standard therapy and drug alternatives in use. *Scan J Gastroenterol* 2015;50:1025-1031.
33. Hindorf U, Johansson M, Eriksson A i wsp. Mercaptopurine treatment should be considered in azathioprine intolerant patients with inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2009;29:654-661.
34. Kennedy NA, Rhatigan E, Arnott ID i wsp. A trial of mercaptopurine is a safe strategy in patients with inflammatory bowel disease intolerant to azathioprine: an observational study, systematic review and meta-analysis. *Aliment Pharmacol Ther* 2013;38:1255-1266.
35. Hubener S, Oo YH, Than NN i wsp. Efficacy of 6-mercaptopurine as second-line treatment for patients with autoimmune hepatitis and azathioprine intolerance. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2016;14:445-453.
36. Pratt DS, Flavin DP, Kaplan MM. The successful treatment of autoimmune hepatitis with 6-mercaptopurine after failure with azathioprine. *Gastroenterology* 1996;110:271-274.

37. De Boer YS, van Gerven NM, de Boer NK i wsp. Allopurinol safely and effectively optimizes thiopurine metabolites in patients with autoimmune hepatitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2013;37:919.
38. Al-Shamma S, Mc Crudden R, McLaughlin C. Letter: allopurinol co-therapy is safe and effective in autoimmune hepatitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2013;37:919.

OŚWIADCZENIA WSPÓLAUTORÓW OKREŚLAJĄCE INDYWIDUALNY WKŁAD W POWSTANIE PRACY

1. *The relationship between 6-thioguanine levels and remission outcomes in children with autoimmune hepatitis. Single center experience*

Autorzy: Dominika Kaps-Kopiec, Agnieszka Czajkowska, Marta Górską, Małgorzata Woźniak, Dorota Jarzębicka, Joanna Cielecka-Kuszyk, Piotr Czubkowski, Joanna Pawłowska

Czasopismo: Clin Exp HEPATOL 2023; 9, 2: 115-121

Impact Factor: 1,5

MNiSW: 200

<i>Autor</i>	<i>Wkład merytoryczny</i>	<i>Podpis</i>
Dominika Kaps-Kopiec	Gromadzenie danych, przegląd piśmiennictwa, redagowanie tekstu artykułu, odpowiedź na uwagi recenzentów, korespondencja z wydawnictwem	<i>Dominika Kaps - Kopiec</i>
Agnieszka Czajkowska	Wykonanie oznaczeń laboratoryjnych, merytoryczna recenzja artykułu	<i>A. Czajkowska</i>
Marta Górską	Wykonanie oznaczeń laboratoryjnych, merytoryczna recenzja artykułu	<i>Gorska</i>
Małgorzata Woźniak	Merytoryczna recenzja artykułu	<i>Woźniak</i>
Dorota Jarzębicka	Merytoryczna recenzja artykułu	<i>Jarzębicka Dorota</i>
Joanna Cielecka-Kuszyk	Przeprowadzenie badań histopatologicznych, merytoryczna recenzja artykułu	<i>J. Cielecka-Kuszyk</i>
Piotr Czubkowski	Merytoryczna recenzja artykułu	<i>Piotr Czubkowski</i>
Joanna Pawłowska	Pomysłodawca problemu badawczego, merytoryczna recenzja artykułu, korekta artykułu	<i>Joanna Pawłowska</i>

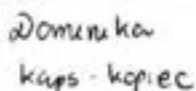
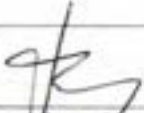
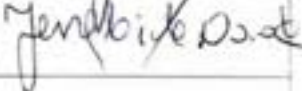
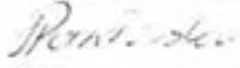
2. *Classical autoimmune hepatitis and the IgG4-associated autoimmune hepatitis in pediatric patients*

Autorzy: Dominika Kaps-Kopiec, Małgorzata Woźniak, Dorota Jarzębicka, Renata Grzywa-Czuba, Joanna Pawłowska, Piotr Czubkowski, Joanna Cielecka-Kuszyk

Czasopismo: Pol J Pathol 2024; 75 (2): 153-156

Impact Factor: 0,8

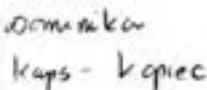
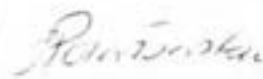
MNiSW: 40

Autor	Wkład merytoryczny	Podpis
Dominika Kaps-Kopiec	Gromadzenie danych, przegląd piśmiennictwa, redagowanie tekstu artykułu, korespondencja z wydawnictwem	
Małgorzata Woźniak	Merytoryczna recenzja artykułu	
Dorota Jarzębicka	Merytoryczna recenzja artykułu	
Renata Grzywa-Czuba	Wykonanie oznaczeń laboratoryjnych, merytoryczna recenzja artykułu	
Joanna Pawłowska	Merytoryczna recenzja artykułu, korekta artykułu	
Piotr Czubkowski	Merytoryczna recenzja artykułu	
Joanna Cielecka-Kuszyk	Przeprowadzenie badań histopatologicznych, merytoryczna recenzja artykułu, opracowanie rozdziału: „Histopatologia i immunohistochemia”	

3. Autoimmunizacyjne zapalenie wątroby – alternatywne metody leczenia

Autorzy: Dominika Kaps-Kopiec, prof. dr hab. n. med, Joanna Pawłowska

Czasopismo: Standardy Medyczne/Pediatrica 2024, T. 21, 461-465

Autor	Wkład merytoryczny	Podpis
Dominika Kaps-Kopiec	Przegląd piśmiennictwa, redagowanie tekstu, odpowiedź na uwagi recenzentów, korespondencja z wydawnictwem	
Joanna Pawłowska	Pomysłodawca tematu artykułu, merytoryczna recenzja artykułu, korekta artykułu	

PUBLIKACJE

Original paper

The relationship between 6-thioguanine levels and remission outcomes in children with autoimmune hepatitis. Single center experience

Dominika Kaps-Kopiec¹, Agnieszka Czajkowska², Marta Górski², Małgorzata Woźniak¹, Dorota Jarzębicka¹, Joanna Cielecka-Kuszyk¹, Piotr Czubkowski¹, Joanna Pawłowska¹

¹Department of Gastroenterology, Hepatology, Nutritional Disorders and Pediatrics, Children's Memorial Health Institute, Warsaw, Poland

²Department of Biochemistry, Radioimmunology and Experimental Medicine, Children's Memorial Health Institute, Warsaw, Poland

³Department of Pathology, Children's Memorial Health Institute, Warsaw, Poland

Abstract

Aim of the study: The treatment of autoimmune hepatitis (AIH) is based on steroids and azathioprine (AZA). AZA is a pro-drug which is converted among others into 6-thioguanine (6-TG) and 6-methylmercaptopurine (6-MMP). The aim of the study was to determine the relationship between the AZA active metabolite 6-TG and both the biochemical and histological remission outcomes.

Material and methods: The authors conducted a retrospective analysis of a single chart review. The sample size consisted of 44 pediatric patients with AIH. Biochemical remission was defined as an alanine aminotransferase (ALT) level below 40 U/l and histological remission was defined as a situation when the control biopsy revealed inflammation grade G1 (or lower) in the Batts-Ludwig score. Statistical analysis was applied to assess the difference in remission outcomes in patients with different levels of 6-TG.

Results: In the benchmark variant of our statistical analysis, we found that the correlation between 6-TG and ALT in the sample was not statistically significant. Moreover, the difference between the mean levels of ALT in the populations in and without remission was not statistically significant (the *p*-value of the *t*-test was 0.16).

Conclusions: Our results tend to support the claim that there is no statistically significant relationship between 6-TG concentration and remission (both biochemical and histological) in pediatric patients with AIH.

Key words: children, treatment, autoimmune hepatitis, remission, 6-thioguanine levels.

Address for correspondence:

Dominika Kaps-Kopiec, MD, Department of Gastroenterology, Hepatology, Nutritional Disorders and Pediatrics, Children's Memorial Health Institute, Warsaw, Poland, e-mail: d.kaps-kopiec@ipczd.pl

Introduction

Autoimmune hepatitis (AIH) is a chronic, progressive liver disease. It may lead to liver failure requiring transplantation if not treated properly. Its incidence ranges from 0.1 to 0.23 per 100,000 children [1, 2] and the treatment recommended by ESPGHAN Hepatology Committee consists of prednisolone (or prednisone) and azathioprine (AZA) [3]. The latter medication is also used to maintain remission.

Azathioprine is a pro-drug which is converted among others into 6-thioguanine (6-TG) and 6-methylmercaptopurine (6-MMP). It is recommended to measure these metabolites in order to avoid side effects of the treatment and to estimate drug activity. 6-TG levels refer to drug activity and myelosuppression, while 6-MMP levels correlate with hepatotoxicity [4].

Despite the widespread use of AZA in AIH therapy, the appropriate 6-TG levels that can be targeted in pediatric patients with AIH have not been estab-

lished yet. To solve this problem, hepatologists apply recommendations for patients with inflammatory bowel disease, where 6-TG concentration in the range 250-450 pmol/ 8×10^6 red blood cell (RBC) is considered appropriate to maintain remission [4].

Motivated by those facts, our aim was to determine the relationship between the AZA active metabolite 6-TG and both the biochemical and histological remission outcomes.

Material and methods

Data collection

We carried out a retrospective review of 44 pediatric patients with AIH aged ≤ 18 who were diagnosed in our department between 2011 and 2018. The diagnosis was based on the clinical, biochemical, immunological and histological criteria. Other potential causes of liver disease such as Wilson disease, hepatitis B and hepatitis C were excluded during the investigation. Moreover, patients with primary sclerosing cholangitis, overlap syndrome, inflammatory bowel disease and celiac disease were excluded from the sample, too.

The following data were collected at the time of diagnosis: sex, age, comorbid diseases, weight, length, clinical symptoms, findings in physical examination and the result of liver biopsy (evaluated using the Batts-Ludwig score). On top of that, laboratory test performed upon the diagnosis included the measurement of total protein, albumin, total bilirubin, direct bilirubin, aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), γ -glutamyl transferase (GGT), international normalized ratio (INR), white blood cell count (WBC), hemoglobin, hematocrit, platelet count, anti-nuclear antibody, anti-smooth muscle antibody, liver kidney microsomal type 1 antibody, antimitochondrial antibodies, anti-parietal cell antibodies, γ -globulin, and immunoglobulin G. In the course of treatment, patients regularly underwent clinical and biochemical follow-up evaluations during which data on weight, laboratory findings, medications, and biopsy result were collected.

We defined the biochemical remission as an ALT level below 40 U/l and histological remission was defined as a situation when the control biopsy revealed inflammation grade G1 (or lower) in the Batts-Ludwig score.

Statistical methods

Statistical inference was performed using the Mann-Whitney-Wilcoxon test, Kolmogorov-Smirnov test and Student's *t*-test. Correlation was measured with the

Pearson correlation coefficient. We assumed that *p*-values below 0.05 were statistically significant. We estimated the logistic regression that captured the relationship between the level of 6-TG and the probability of remission and we used it to generate the ROC curve to assess how informative the 6-TG levels were in assessing the chances of remission. Statistical analysis was performed using STATA and Octave.

Results

Sample characteristics

The number of pediatric patients included in the study was 44 (68.2% girls). The mean age at the time of diagnosis was 8.2 years (with the standard deviation of 3.3 years). In the sample, 63.6% of subjects had type 1 AIH and 15.9% had type 2 AIH. The most common symptoms of AIH during the examination were jaundice, hepatomegaly and splenomegaly. Liver biopsies performed at the time of presentation revealed median inflammation of grade 3 and fibrosis at grade 2 according to the Batts-Ludwig score.

The dosage of either prednisone or azathioprine was recorded for 37 patients. The treatment of 83.8% of them started with both prednisone and azathioprine, while 16.2% started only with prednisone. Mean doses of prednisone and AZA were 1.52 mg/kg/day and 1.69 mg/kg/day, respectively. Subsequently, the dose of prednisone was gradually decreased to a maintenance dose.

The total number of 6-TG observations collected during follow-up visits was 114. For a subsample of 45 observations it was possible to calculate the correlation between the dose of AZA and 6-TG concentration.

The concentration of 6-TG was uncorrelated with the dose of AZA (the correlation coefficient was equal to 0.01 and the *p*-value was 0.93). As we discussed, the poor correlation of these two variables was documented also in the related works by Bolia *et al.* [5] and Sheiko *et al.* [4].

Sample characteristics (means and standard deviations of key variables characterizing patients in the analyzed group) are summarized in Table 1. To give an idea of what the main focus of this study looks like in our sample, Figure 1 plots the 6-TG concentration against the level of ALT.

Biochemical remission

To guarantee the comparability between our results and those documented in the related works, we used several statistical methods to assess whether the level of 6-TG affects the chances for obtaining remission.

Table 1. Patients' characteristics (N = 44)

Factor	Mean $\pm$ SD or percentage (%)
Demographics	
Age (years)	8.2 $\pm$ 3.3
Female	68.2
Type 1 AIH (ANA and/or ASMA)	63.6
Type 2 AIH (LKM)	15.9
Seronegative AIH	20.5
Comorbid conditions	27.2
Clinical signs at the time of diagnosis	
Yellowing of the sclera	22.7
Yellowing of the skin	27.2
Light stools	2.3
Hepatomegaly	25.0
Splenomegaly	27.2
Petechiae	2.3
Generalized lymphadenopathy	2.3
Laboratory values at presentation	
Total protein (g/l)	79.92 $\pm$ 10.13
Albumin (g/l)	39.50 $\pm$ 5.11
Total bilirubin (mg/dl)	2.72 $\pm$ 3.68
Direct bilirubin (mg/dl)	2.36 $\pm$ 3.60
AST (U/l)	719.18 $\pm$ 728.28
ALT (U/l)	689.49 $\pm$ 572.39
GGT (U/l)	88.88 $\pm$ 66.73
INR	1.37 $\pm$ 0.31
WBC ($\times 10^3/\mu$ l)	7.66 $\pm$ 4.52
Hgb (g/dl)	11.74 $\pm$ 1.37
PLT ($\times 10^3/\mu$ l)	251.17 $\pm$ 129.34
IgG total (g/l)	26.02 $\pm$ 11.68

ALT - alanine aminotransferase, AST - aspartate aminotransferase, GGT - γ -glutamyl transferase, INR - international normalized ratio, WBC - white blood cell count, Hgb - hemoglobin, PLT - platelet, IgG - immunoglobulin G

Moreover, to check the robustness of our findings, we performed statistical inference for various definitions of 6-TG concentration. First, to stay in line with the literature we took the 6-TG level measured together with ALT during each follow-up visit (labeled as variant A). Second, to take into account the potential impact of past 6-TG levels on therapeutic outcomes we used the mean average of 6-TG levels recorded up to the time when the level of ALT was measured (variant B).

Variant A. The sample size in variant A was 114 (90 observations in remission and 24 without remission). The correlation of 6-TG and ALT was -0.04 but was not statistically significant (p -value of 0.68). The mean 6-TG was 174.9 pmol/ 8×10^8 RBC in the popu-

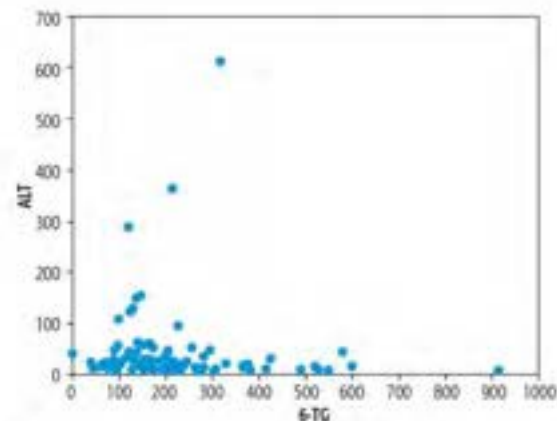


Fig. 1. Sample characteristics: 6-thioguanine (6-TG) concentration and the level of alanine aminotransferase (ALT)

lation with active disease and 218.6 pmol/ 8×10^8 RBC in the population with remission. Similarly to Sheiko *et al.* [4], we used the two-sample t -test to analyze the difference between those means and we found that the associated p -value was 0.16. As in Bolia *et al.* [5], we used the Mann-Whitney-Wilcoxon test to compare the distribution of 6-TG in populations in and with no remission. The associated p -value was 0.08 (with medians 192.5 and 139.5 for observations featuring remission and no remission, respectively). To check the robustness of those findings, we applied the Kolmogorov-Smirnov test to compare empirical cumulative distribution functions of 6-TG for observations with and without remission and the p -value was 0.04. To illustrate the similarities between both distributions, we plot the estimated kernel densities of 6-TG in both subpopulations in the left panel of Figure 2. Furthermore, the right panel of Figure 2 plots the ROC curve associated with the logistic regression that estimates the dependency of the chances of remission on 6-TG concentration. We found that the AUC associated with the ROC curve was 0.62.

Variant B. The total number of observations in this case was 115 (with 91 classified as remission and 24 with no remission). We found no statistically significant correlation between the mean past 6-TG level and ALT (the correlation coefficient equal to -0.04 with the associated p -value at the level of 0.64). The p -value of the two sample t -test was 0.46 (with the mean past averages of 6-TG being 223.9 pmol/ 8×10^8 RBC in the population with remission and 202.5 pmol/ 8×10^8 RBC in the population with no remission). The p -value of the Mann-Whitney-Wilcoxon test was 0.26 (where the median of past mean 6-TG concentrations for the observations with remission

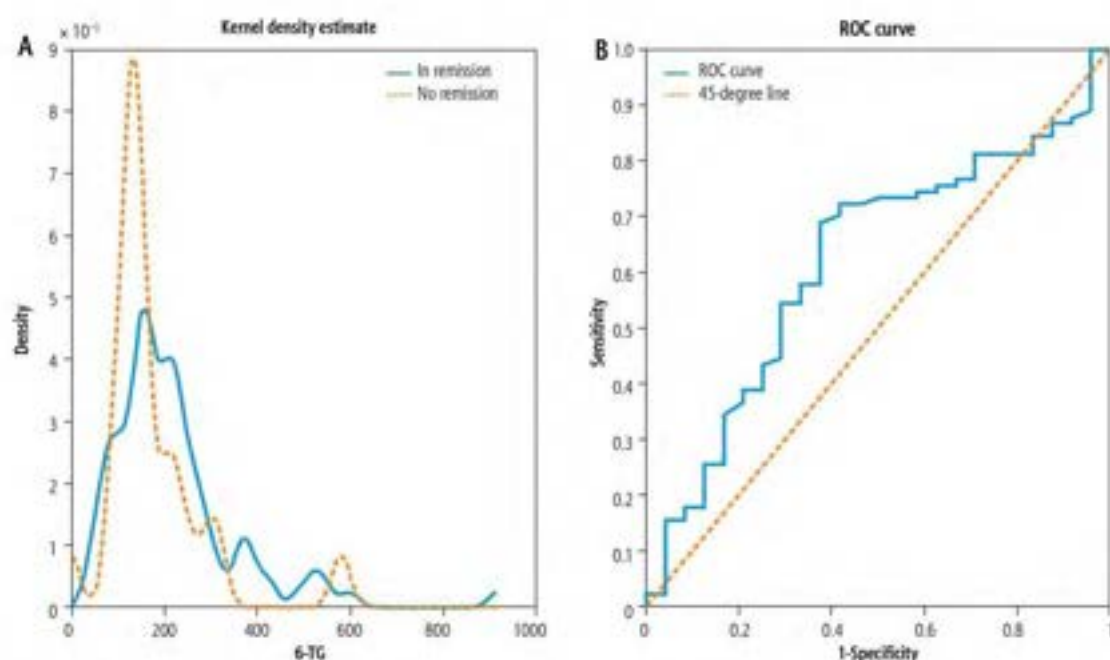


Fig. 2. Variant A – empirical densities (A), ROC curve (B)

was $194.3 \text{ pmol}/8 \times 10^6 \text{ RBC}$ and for the observations with no remission was $170.5 \text{ pmol}/8 \times 10^6 \text{ RBC}$ and the p -value associated with the Kolmogorov-Smirnov test was 0.26. Figure 3 displays the estimated kernel densities of empirical 6-TG distributions for patients

with active disease and remission (left panel) and the ROC curve based on the logistic regression estimating the impact of the mean past 6-TG concentration on the chances of remission (with the AUC of 0.57) (Table 2).

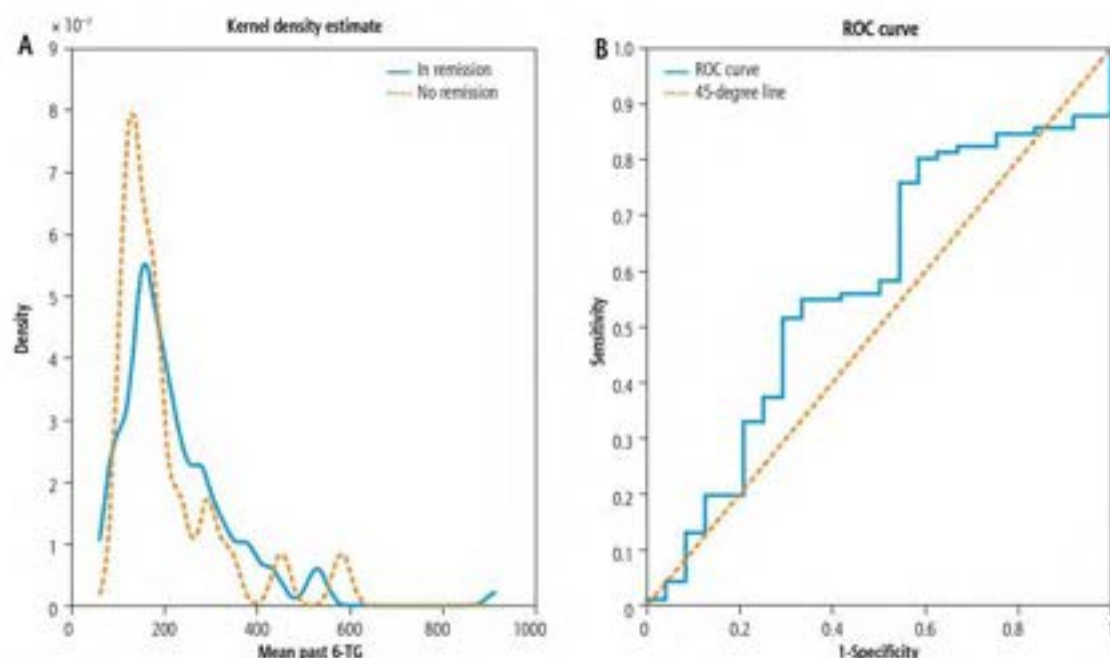


Fig. 3. Variant B – empirical densities (A), ROC curve (B)

Table 2. Results of biochemical remission

Parameter	Variant A: 6-TG level measured at the same time as the ALT level	Variant B: mean 6-TG levels recorded up to the time when the level of ALT was measured
Sample size	114	115
Observations in remission	90	91
Observations without remission	24	24
Correlation of 6-TG and ALT	-0.04 ($p = 0.68$)	-0.04 ($p = 0.64$)
Mean 6-TG in the population with active disease (Variant A)/mean past averages of 6-TG (Variant B)	174.9 pmol/8 × 10 ⁶ RBC	202.5 pmol/8 × 10 ⁶ RBC
Mean 6-TG in the population with remission (variant A)/mean past averages of 6-TG (variant B)	218.6 pmol/8 × 10 ⁶ RBC	223.9 pmol/8 × 10 ⁶ RBC
Statistically significant differences between distributions of 6-TG levels in two subgroups (patients with and without remission)	No/Yes (if Kolmogorov-Smirnov is considered) t-test: $p = 0.16$ Mann-Whitney-Wilcoxon: 0.08 Kolmogorov-Smirnov: 0.04	No t-test: 0.46 Mann-Whitney-Wilcoxon: 0.26 Kolmogorov-Smirnov: 0.26

6-TG - 6-thioguanine, ALT - alanine aminotransferase

Histologic remission

In our clinical practice we perform a liver biopsy approximately after two years of maintenance treatment. In this part we discuss the relationship between 6-TG concentration and the biopsy outcomes that, analogously to the presentation of results related to biochemical remission, are reported in two different variants, A and B, which correspond to various timing conventions of 6-TG measurement. The fact that biopsies are performed less frequently than the biochemical examinations severely limits the number of observations in the sample studied in this section. This also led us to constrain the set of statistical tools applied in this part to 3 tests: the *t*-test, the Mann-Whitney-Wilcoxon test and the Kolmogorov-Smirnov test.

Variant A. Number of patients: 22 (a subgroup of the sample of 44 children). The number of observations in

this variant was 28. The *p*-value of the *t*-test was 0.34 (with the mean 6-TG level in the sample classified as patients in remission being 192.6 pmol/8 × 10⁶ RBC and the value corresponding to those with active disease being 160.2 pmol/8 × 10⁶ RBC). The *p*-value of the Mann-Whitney-Wilcoxon test was 0.35 (with the medians of 170.5 for patients in remission and 161.5 with no remission). Finally, the *p*-value of the Kolmogorov-Smirnov test was 0.58.

Variant B. Number of patients: 28. The size of the sample was 34. The *p*-values of Student's *t*, Mann-Whitney-Wilcoxon and Kolmogorov-Smirnov tests were 0.90, 0.80 and 0.99, respectively. The mean (median) past average 6-TG concentration in the subsample of patients in remission was 209.24 pmol/8 × 10⁶ RBC (172.8 pmol/8 × 10⁶ RBC) and for those with an active disease it was 213.6 pmol/8 × 10⁶ RBC (190 pmol/8 × 10⁶ RBC) (Table 3).

Table 3. Results of histologic remission

Parameter	Variant A: 6-TG level measured at the same time as liver biopsy was performed ($n = 22$)	Variant B: mean 6-TG levels recorded up to the time when the biopsy was performed ($n = 28$)
Sample size	28	34
Observations in remission	18	21
Observations without remission	10	13
Mean 6-TG in the population with active disease (Variant A)/mean past averages of 6-TG (Variant B)	160.2 pmol/8 × 10 ⁶ RBC	213.6 pmol/8 × 10 ⁶ RBC
Mean 6-TG in the population with remission (Variant A)/mean past averages of 6-TG (Variant B)	192.6 pmol/8 × 10 ⁶ RBC	209.24 pmol/8 × 10 ⁶ RBC
Statistically significant differences between distributions of 6-TG levels in two subgroups (patient with and without remission)	No t-test: 0.34 Mann-Whitney-Wilcoxon: 0.35 Kolmogorov-Smirnov: 0.58	No t-test: 0.90 Mann-Whitney-Wilcoxon: 0.80 Kolmogorov-Smirnov: 0.99

6-TG - 6-thioguanine

Discussion

Autoimmune hepatitis is a liver disease which can lead to liver failure if not treated properly. Nowadays, the standard therapy consists of either prednisolone (or prednisone) or azathioprine, and there have been only a few studies trying to answer the question of what level of 6-TG is appropriate for pediatric patients diagnosed with AIH. This is an important issue because the role of azathioprine metabolites in children suffering from AIH has not been defined yet [5]. What is also important, therapeutic drug monitoring of AZA is an important tool in patients who fail to respond to standard thiopurine doses or when patient noncompliance or toxicity is suspected [6]. Additionally, because of the differences in the disease phenotype and the AZA metabolism between pediatric patients and adult ones, the treatment of the former should not necessarily follow the guidelines formulated for the latter. In what follows, we compare our results to those discussed in the literature to argue that there is no conclusive evidence on the effective 6-TG concentration that can be targeted in the course of AIH treatment in pediatric patients.

Our analysis of biochemical remission outcomes corroborates the consensus presented in the majority of studies, which is that the difference in 6-TG levels between patients in remission and those with active disease is not statistically significant. It is worth emphasizing that there is only one meta-analysis reporting that the mean 6-TG levels were significantly higher among patients in remission than in those who were not, with a pooled difference of $15.67 \text{ pmol}/8 \times 10^6 \text{ RBC}$ [6]. However, the authors also note that of the seven studies included in their meta-analysis, only 1 study had previously demonstrated such a relationship [6]. Moreover, the definition of remission was not unified, and it was based on several different threshold levels of ALT below which patients were classified as being in remission.

In our study, the results of all statistical tests – except for the Kolmogorov-Smirnov test for variant A, which referred to biochemical remission – were not statistically significant. To establish this fact, not only did we use the values of 6-TG concentration measured together with ALT (i.e., during the same follow-up visit), as described in the literature, but also, to account for the potential persistence of treatment, we documented that patients in remission and with no remission did not differ concerning either of the mean 6-TG concentrations measured up to the visit when the ALT level was assessed. Second, apart from exploring the relationship between 6-TG concentration and the biochemical remission rates, we contribute to the existing

research by analyzing the relationship between 6-TG levels and histologic remission in patients with AIH.

We found no statistically significant difference in 6-TG levels between patients in remission and those not in remission, which is similar to Bolia *et al.* [5] and Sheiko *et al.* [4]. In our study, the median level of 6-TG in patients in remission was $192.5 \text{ pmol}/8 \times 10^6 \text{ RBC}$, while the level corresponding to those not in remission was $139.5 \text{ pmol}/8 \times 10^6 \text{ RBC}$. The analogous values reported by Bolia *et al.* are $271 \text{ pmol}/8 \times 10^6 \text{ RBC}$ for those in remission and $224 \text{ pmol}/8 \times 10^6 \text{ RBC}$ for children not in remission [5].

We documented a statistically insignificant correlation between 6-TG and ALT levels (in particular, the correlation coefficient in our study was -0.04 compared to -0.18 reported by Bolia *et al.* [5]). Similarly to Bolia *et al.* [5], we did not find any specific level of 6-TG that could be routinely targeted during the AIH treatment: the value of AUC associated with the ROC curve is relatively low both in our study (0.62) and theirs (0.61), and so are the sensitivity and the specificity of resulting optimal cut-off values. We found that the correlation between the dose of AZA and the corresponding 6-TG concentration was poor and statistically insignificant. In particular, we found that the correlation coefficient equaled 0.01 with the corresponding p -value of 0.93 .

We found that the average rate of biochemical remission measured with ALT was higher for patients with 6-TG higher than $250 \text{ pmol}/8 \times 10^6 \text{ RBC}$ compared to those with levels below that threshold, which is similar to Sheiko *et al.* [4]. More specifically, the mean remission rate for the former group was 85% , and it was 77% in the latter. It might be the case that the remission rates reported here are lower than those reported by Sheiko *et al.* because our definition of remission is more restrictive (we set the remission threshold at 40 U/l of ALT while Sheiko *et al.* used the threshold value of 50 U/l). Analogously to Sheiko *et al.*, the difference between remission rates in our analysis was not statistically significant (the p -values associated with the t -test and the Fisher exact test were 0.37 and 0.43 , respectively).

Interestingly, the results of Nguyen *et al.* [7] differ substantially compared to our results. Nguyen *et al.* observed relatively high 6-TG concentrations across patients in their sample. In particular, the mean 6-TG level reported by Nguyen *et al.* was $478 \text{ pmol}/8 \times 10^6 \text{ RBC}$ (with a median of $427 \text{ pmol}/8 \times 10^6 \text{ RBC}$ and the corresponding range $51\text{--}1966 \text{ pmol}/8 \times 10^6 \text{ RBC}$) [7], whereas the analogous value in our sample is $209.3 \text{ pmol}/8 \times 10^6 \text{ RBC}$. Nevertheless, similarly to our study, the Mann-Whitney-Wilcoxon test showed no

significant difference between 6-TG levels in children in remission and those with active disease [7]. Another important aspect with respect to which the results of Nguyen *et al.* differ from those reported here (and from those analyzed by Bolia *et al.* [5] and Sheiko *et al.* [4]) is the statistically significant correlation between AZA dose and 6-TG level (with the coefficient of 0.31 and *p*-value equal below 0.001) [7].

We are not aware of any literature reporting levels of 6-TG that can be targeted in the course of treatment of AIH for pediatric patients. There is, however, a paper by Dhaliwal *et al.* [8] which includes both pediatric and adult patients (with a median age of 51 years and a range of 3–78), which reports the optimal cut-off for 6-TG concentration of 220 pmol/8 × 10⁶ RBC based on the ROC curve featuring the AUC of 0.68 and the associated sensitivity of 83% (specificity of 62%) [8]. Moreover, in contrast to papers discussing pediatric populations, Dhaliwal *et al.* [8] observed higher 6-TG concentrations in patients in remission compared to those not maintaining remission (with the median of 237 pmol/8 × 10⁶ RBC for the former and 177 pmol/8 × 10⁶ RBC for the latter and with the *p*-value of the associated Mann-Whitney-Wilcoxon test equal to 0.03) [8]. Contrary to the results of Bolia *et al.* [5], Sheiko *et al.* [4] and our study, they found a negative, statistically significant correlation between ALT and 6-TG concentration of –0.32 (with the associated *p*-value of 0.007) [6]. On top of that, similarly to our analysis, Dhaliwal *et al.* [8] concluded that the correlation between the dose of AZA and 6-TG was statistically insignificant [8].

In their meta-analysis, Bolia *et al.* [6] tried to answer why Dhaliwal *et al.* [8] reached a different conclusion concerning the 6-TG levels in patients in/without remission compared to other articles. They concluded that the study by Dhaliwal *et al.* [8] was prospective and included only patients at the maintenance stage of treatment. This contrasts with other studies that included non-selected cohorts of patients receiving thiopurine therapy [6].

In an interesting study, Bąk-Drabik *et al.* [9] evaluated the usefulness of measuring thiopurine metabolites in children with inflammatory bowel disease and autoimmune hepatitis treated with azathioprine. Bąk-Drabik *et al.* [9] found that patients with 6-TG concentrations ranging from 230 to 450 pmol/8 × 10⁶ RBC exhibited higher remission rates than the under- or overdosed patients. At the same time, the authors also emphasized that an optimal therapeutic 6-TG level for AIH was not determined [9].

At the same time, we are aware of two main limitations of our retrospective analysis. First, the type II

error might have occurred in our study (especially in the investigation of 6-TG levels and histologic remission rates) due to the small sample size. Second, the frequency of collecting data was not equal across patients, reflecting the differences between the practice patterns of doctors employed in our department.

Conclusions

In conclusion, our results suggest that there is no relationship between 6-TG concentration and remission (both biochemical and histologic) in pediatric patients with AIH.

Disclosure

The authors declare no conflict of interest.

References

- Jimenez-Rivera C, Ling SC, Ahmed N, et al. Incidence and characteristics of autoimmune hepatitis. *Pediatrics* 2015; 136: e1237–1248.
- Deneau M, Jensen MK, Holmen J, et al. Primary sclerosing cholangitis, autoimmune hepatitis, and overlap in Utah children: Epidemiology and natural history. *Hepatology* 2013; 58: 1392–1400.
- Mieli-Vergani G, Vergani D, Baumann U, et al. Diagnosis and management of pediatric autoimmune liver disease: ESPGHAN Hepatology Committee Position Statement. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2018; 66: 345–360.
- Sheiko MA, Sundaram SS, Capocelli KE, et al. Outcomes in pediatric autoimmune hepatitis and significance of azathioprine metabolites. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2017; 65: 80–85.
- Bolia R, Rajanayagam J, Hardikar W. Lower 6-MMP/6-TG ratio may be a therapeutic target in pediatric autoimmune hepatitis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2018; 67: 695–700.
- Bolia R, Goel A, Srivastava A. Systematic review and meta-analysis of thiopurine metabolite levels and biochemical remission in autoimmune hepatitis. *The Drug Monit* 2021; 43: 609–616.
- Nguyen TM, Daubard M, Le Gall C, et al. Monitoring of azathioprine metabolites in pediatric patients with autoimmune hepatitis. *The Drug Monit* 2010; 32: 433–437.
- Dhaliwal HK, Anderson R, Thornhill EL, et al. Clinical significance of azathioprine metabolites for the maintenance of remission in autoimmune hepatitis. *Hepatology* 2012; 56: 1401–1408.
- Bąk-Drabik K, Adamczyk P, Duda-Wróńska J, et al. Usefulness of measuring thiopurine metabolites in children with inflammatory bowel disease and autoimmune hepatitis, treated with azathioprine. *Gastroenterol Res Pract* 2021; 2021: 9970019.
- Rumbo C, Emerick KM, Emre S, et al. Azathioprine metabolite measurements in the treatment of autoimmune hepatitis in pediatric patients: a preliminary report. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2002; 35: 391–398.

ORIGINAL PAPER

CLASSICAL AUTOIMMUNE HEPATITIS AND THE IgG4-ASSOCIATED AUTOIMMUNE HEPATITIS IN PAEDIATRIC PATIENTS

DOMINIKA KAPS-KOPIEC¹, MALGORZATA WOŹNIAK¹, DOROTA JARZĘBICKA¹,
RENATA GRZYWA-CZUBA², JOANNA PAWŁOWSKA¹, PIOTR CZUBKOWSKI¹, JOANNA CIELECKA-KUSZYK³

¹Department of Gastroenterology, Hepatology, Feeding Disorders and Paediatrics, The Children's Memorial Health Institute, Warsaw, Poland

²Department of Microbiology and Clinical Immunology, The Children's Memorial Health Institute, Warsaw, Poland

³Department of Pathology, The Children's Memorial Health Institute, Warsaw, Poland

The IgG4-associated autoimmune hepatitis (IgG4-AIH) is a newly proposed disease entity characterised by the accumulation of the IgG4-expressing plasma cells in the liver. Its pathophysiology and clinical significance remain unclear and have poor evidence in the paediatric population. Thus, our study aims at comparing the group of paediatric patients with classical AIH and the IgG4-AIH.

We carried out a retrospective analysis of 23 children (median age 8.5 years) diagnosed with AIH, who were compared according to the presence of IgG4-positive plasma cells in the liver biopsy.

IgG4-AIH was defined if 10 or more IgG4 positive plasma cells/high-power field were found in the biopsy.

The presence of the IgG4 component seems to be clinically insignificant. That is why, the conventional immunosuppressive protocol should be considered the standard treatment in the case of the IgG4-associated AIH.

Key words: autoimmune hepatitis, immunoglobulin G4-related diseases, children.

Introduction

Immunoglobulin G4-related diseases (IgG4-RDs) are systemic, chronic fibroinflammatory conditions characterised by a tissue infiltration with the IgG4-positive plasma cells, development of fibrosis and elevated serum levels of IgG4, mainly affecting men at 50–60 years of age. Among the children, the most affected organs are the orbit, salivary gland, pancreas, and lymph nodes. Hepatic involvement is less well established. There is still no certainty that the IgG4-autoimmune hepatitis (IgG4-AIH) is a subtype of AIH or rather a hepatic manifestation of IgG4-related diseases.

Material and methods

Our study aims at evaluating the frequency and characteristics of the IgG4-AIH in children in our

hospital. We conducted a retrospective analysis of 23 paediatric patients with AIH diagnosed between 2011 and 2018. The diagnosis was based on the combination of clinical, biochemical, immunological, and histological features and the exclusion of other known causes of liver disease that may share serological and histological features with AIH. Twenty-one patients received the standard treatment consisting of prednisone and azathioprine, and 2 patients received only prednisone (the first of them was not treated with azathioprine because of the lack of antibodies and a slight inflammation in the liver biopsy, and the second because of a slight inflammation in the liver biopsy and low IgG concentration). Patients were divided into 2 subgroups according to the presence of IgG4-positive plasma cells in the liver biopsy. The IgG4-associated AIH was diagnosed if 10 or more IgG4-positive plasma cells/high-power field (HPF) were found in the liver biopsy (Fig. 1).

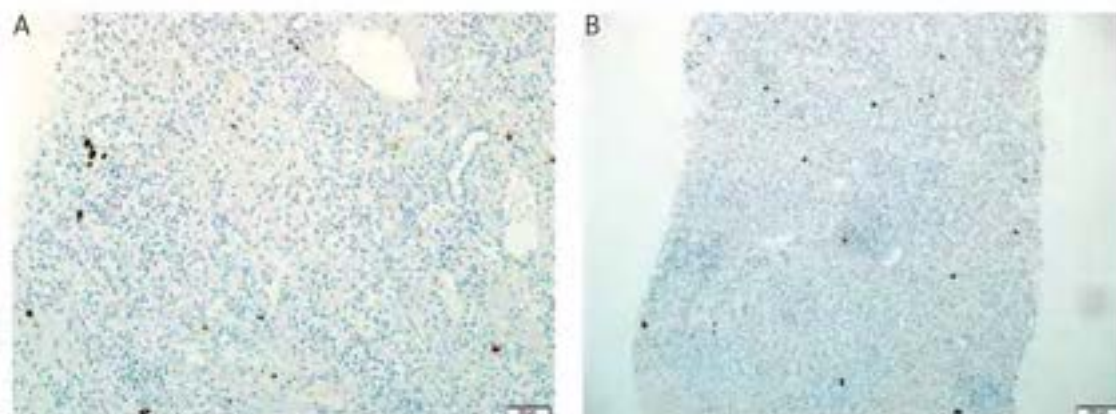


Fig. 1. IgG4-positive plasma cells in the liver biopsy

The control biopsy was proceeded after 25 months (on average). One patient did not have the control biopsy because of coagulation disorders.

Remission was defined as transaminase levels within the normal range, normalisation of IgG, either negative or lower (than at the moment of diagnosis) autoantibodies, and the histological resolution of inflammation or reducing the degree of inflammation.

Histopathology and immunohistochemistry

All liver biopsy specimens were fixed in 4% buffered formalin for 24 hours, embedded in paraffin blocks, and routinely stained by haematoxylin and eosin, periodic acid-Schiff with and without diastase, and Azan and Gomori silver to evaluate microscopic features. The histological interpretation was performed using internationally accepted criteria: the extent of inflammation (inflammatory infiltrates in portal tracts and lobules, interface infiltration) and fibrosis (portal and periportal fibrosis, portal to portal and portal to central septa), and was assessed by grade and stage based on the Batts and Ludwig scoring system. Additionally, plasma cell infiltration and lymphoid infiltrates between bile duct epithelial cells were assessed.

The phenotype of the inflammatory reactions was examined on paraffin-embedded tissue using monoclonal antibodies directed against IgG4 plasma cells by the EnVision system DAKO. IgG4-associated AIH was diagnosed if 10 or more IgG4-positive plasma cells/HPF were found in the biopsy. We then compared these 2 groups according to clinical and laboratory outcomes:

- grading,
- staging,
- portal inflammation grade,
- interface hepatitis grade,
- lobular hepatitis,
- bile duct damage,
- cholestasis.

Statistical methods

The statistical methods used in the study were the Mann-Whitney *U* test and Fisher's exact test.

Results

In our study, 23 paediatric patients were diagnosed with AIH (15 female and 8 male), average age 105 months. Eight patients (35%) satisfied the criteria of the IgG4-associated autoimmune hepatitis. Among the group 19 patients were type 1 AIH (6 patients with IgG4-associated AIH), 2 patients were type 2 AIH (a group with IgG4 associated AIH), and 2 patients were seronegative AIH (patients with classical AIH). There was no statistically significant difference between the clinical, laboratory, and histopathological findings between the groups (Table I). The grade and stage of the histopathological changes were measured by portal, interface and lobular inflammation, fibrosis, and bile duct inflammation.

Fifteen patients had magnetic resonance cholangiopancreatography, and only one patient had changes typical for primary sclerosing cholangitis (the patient had 0 IgG4 positive plasma cells in the liver biopsy). Seven patients (47%) in the group with AIH and 5 patients with the IgG4-associated AIH achieved remission, but there was no statistically significant difference in remission outcomes between these groups ($p = 0.17$) (Table II).

Discussion

To diagnose IgG4-related diseases we must satisfy these criteria: elevation of serum IgG4 concentrations and abundant infiltration of IgG4-expressing plasma cells [1]. On the other hand, IgG4-AIH is diagnosed based on significant accumulation of IgG4-expressing plasma cells in the liver biopsy [1]. There is still discussion about whether IgG4-AIH is a subtype

Table I. The clinical, laboratory, and histopathological characteristics of the study groups at the time of diagnosis

PARAMETERS	CLASSICAL AIH (N = 15)	IgG4-ASSOCIATED AIH (N = 8)	EXACT P-VALUE
Age (months)	108 (48–168)	90 (30–144)	0.27
Gender [f/m]	9/6	6/2	0.66
Type 1 AIH	13	6	0.59
Type 2 AIH	0	2	0.11
Seronegative AIH	2	0	0.53
ALT [U/l]	423 (92–1587)	851 (162–2116)	0.32
AST [U/l]	422 (60–1696)	895 (93–3614)	0.48
GGTP [U/l]	110 (34–509)	67 (35–169)	0.16
IgG [g/l]	32.2 (10–47.8)	17.4 (13.6–32.6)	0.21
INR	1.25 (0.97–2.1)	1.37 (1.09–1.88)	0.67
Total bilirubin [mg/dl]	1.52 (0.22–19.07)	2.16 (0.40–7.57)	0.63
Grading	3 (2–4)	3 (2–4)	0.57
Staging	3 (0–4)	3 (2–4)	0.18
Portal inflammation grade	3 (2–4)	3 (2–4)	0.21
Interface hepatitis grade	3 (1–3)	3 (2–4)	0.30
Lobular hepatitis	2 (0–3)	2 (1–3)	0.65
Bile duct damage	1 (0–2)	1 (0–2)	0.47
Cholestasis y/n	3/12	1/7	0.99

Table II. The laboratory and histopathological characteristics of the study group at the time of control biopsy

PARAMETERS	CLASSICAL AIH (N = 15)	IgG4-ASSOCIATED AIH (N = 7)	EXACT P-VALUE
ALT [U/l]	22 (7–248)	13 (8–472)	0.81
AST [U/l]	24 (15–150)	22 (17–320)	0.70
GGTP [U/l]	16 (9–238)	14 (10–57)	0.57
IgG [g/l]	13.4 (9.3–23)	9.9 (7.9–28)	0.23
INR	1.09 (0.94–1.26)	1.01 (0.98–1.17)	0.94
Total bilirubin [mg/dl]	0.56 (0.19–2.5)	0.31 (0.22–0.71)	0.06
Grading	2 (0–3)	1 (1–3)	0.52
Staging	2 (0–3)	2 (0–3)	0.80
Portal inflammation grade	2 (0–3)	1 (1–2)	0.43
Interface hepatitis grade	1 (0–3)	1 (0–3)	0.66
Lobular hepatitis	0 (0–2)	0 (0–2)	0.71
Bile duct damage	0 (0–2)	0 (0–2)	0.25
Cholestasis [y/n]	1/14	0/7	0.99

of classical AIH or it is rather a hepatic manifestation of IgG4-related diseases.

It is worth emphasising that in the literature we can find different criteria of IgG4-AIH, which is why the proportion of IgG4-AIH can be variable in different studies. For example, Chung *et al.* and Amarapurkar *et al.* defined the disease when in the liver biopsy there are minimum of 5 IgG4-positive plasma cells.

In our work, we adopt the criteria used by Umemura *et al.* They proposed the diagnostic criteria for IgG4-AIH consisting of more than 10 IgG4-positive plasma cells/HPF. The same diagnostic criteria were adopted by Aydemir *et al.* They also reported the first study of IgG4-associated AIH in paediatric patients.

Most cases in the literature [2–6] reported that blood biochemical examinations do not distinguish

IgG4 AIH and IgG4 not associated AIH; we proved the same in our work.

Chunget *et al.*, Umemura *et al.*, and Canivet *et al.* reported no difference in serum ANA, but the IgG concentration was significantly higher in patients with IgG4-associated AIH in 2 studies: Chung *et al.* and Canivet *et al.* [2, 3, 5]. In our study, we did not observe any statistically significant difference between levels of serum IgG and ANA titres.

By contrast to studies in adult AIH patients [2–5], the degree of chronic inflammation in children [6] did not show a significant difference between IgG4-associated AIH and IgG4-non-associated AIH, as judged by the grade of portal inflammation, interface hepatitis, rosette formation, and fibrosis. The adult patients with IgG4-related disease were characterised by a more advanced interface hepatitis and bridging fibrosis than the classical AIH patients [7]. In our work, in both the IgG4-positive and IgG4-negative groups we observed similar degrees of inflammatory changes and fibrosis stage. Also, we did not observe any difference in the severity of plasma cell infiltration in the portal areas, which is described in the IgG4-positive adult patients [8]. On the other hand, adult patients with IgG4 AIH are similar clinically and pathologically to classical AIH patients [9].

IgG4-AIH defined by Umemura *et al.* might be a hepatic manifestation of systemic IgG4-related disease. On the other hand, IgG4-AIH defined by Chung *et al.* might be a subtype of AIH characterised by moderately increased IgG4 responses in the liver, but not in the serum.

Storiform fibrosis is characteristic of IgG4-related diseases. Lack of multiple organ involvement as well as storiform fibrosis supports the idea that IgG4 AIH is a subtype of classical AIH rather than a hepatic manifestation of IgG4-related disease.

Conclusions

The presence of the IgG4 component confirms that among paediatric patients with autoimmune hepatitis, there are some cases with the type of AIH characterised by abundant infiltration of IgG4-positive plasma cells, but this component seems to be clinically insignificant. The conventional immunosuppressive protocol should be the standard treatment in the case of the IgG4-associated AIH.

We need more studies to decide if IgG4-AIH is a subtype of AIH characterised by abundant infiltration of IgG4-positive plasma cells in the liver biopsy, without the presence of IgG4 in the serum.

Disclosures

1. Institutional review board statement: Not applicable.

2. Assistance with the article: None.

3. Financial support and sponsorship: Grant Zadanie Młodego Badacza M38/19.

4. Conflicts of interest: None.

References

- Minaga K, Watanabe T, Chung H, et al. Autoimmune hepatitis and IgG4-related disease. *World J Gastroenterol* 2019; 25: 2308-2314.
- Chung H, Watanabe T, Kudo M, et al. Identification and characterization of IgG4-associated autoimmune hepatitis. *Liver Int* 2010; 30: 222-231.
- Umemura T, Zen Y, Hamano H, et al. Clinical significance of immunoglobulin G4-associated autoimmune hepatitis. *J Gastroenterol* 2011; 46: 48-55.
- Amarapurkar AD, Amarapurkar DN. Immunoglobulin IgG4 and autoimmune hepatitis. *Trop Gastroenterol* 2015; 36: 112-117.
- Canivet CM, Anty R, Patoureaux S, et al. Immunoglobulin G4-associated autoimmune hepatitis may be found in Western countries. *Dig Liver Dis* 2016; 48: 302-308.
- Aydemir Y, Akcoen Z, Demir H, et al. Clinical and histopathological feature of immunoglobulin G4-associated autoimmune hepatitis in children. *J Gastroenterol Hepatol* 2019; 34: 742-746.
- Yoshitaka A, Koshi M, Kazuya A, et al. Clinicopathological features of autoimmune hepatitis with IgG4-positive plasma cell infiltration. *Dig Dis* 2020; 39: 236-244.
- Norihisa Y, Masatoshi K, Hobyung C, et al. Autoimmune hepatitis and immunoglobulin G4-associated autoimmune hepatitis. *Dig Dis* 2013; 31: 415-420.
- Yunpeng L, Lifeng W. IgG4-related autoimmune hepatitis: a case report. *J Internat Med Res* 2023; 51: 1-6.

Address for correspondence

Dominika Kaps-Kopiec
Department of Gastroenterology, Hepatology,
Feeding Disorders and Paediatrics
The Children's Memorial Health Institute
Warsaw, Poland
e-mail: d.kaps-kopiec@ipcad.pl



Autoimmunizacyjne zapalenie wątroby – alternatywne metody leczenia

Autoimmune hepatitis – alternative methods of treatment

Dominika Kaps-Kopiec, Joanna Pawłowska

Klinika Gastroenterologii, Hepatologii, Zaburzeń Odżywienia i Pediatrii, Instytut „Pomnik – Centrum Zdrowia Dziecka”, Warszawa

STRESZCZENIE

Autoimmunizacyjne zapalenie wątroby (ang. autoimmune hepatitis, AIH) to przewlekła, postępująca choroba zapalna, występująca w każdej grupie wiekowej, również wśród dzieci. Po postawieniu diagnozy niezwykle istotne jest jak najszybsze rozpoczęcie leczenia w celu zatrzymania progresji choroby, a w konsekwencji uniknięcia przeszczepienia wątroby. Niestety standardowe leczenie nie jest skuteczne u ok. 10-20% pacjentów. W tych przypadkach istnieje konieczność zastosowania alternatywnych metod terapii. W pracy omówiono najczęściej stosowane leki drugiego wyboru w populacji pediatrycznej.

Standarty Medyczne/Pediatrya ■ 2024 ■ T. 21 ■ 461-465

SŁOWA KLUCZOWE: ■ AUTOIMMUNIZACYJNE ZAPALENIE WĄTROBY ■ DZIECI ■ ALTERNATYWNE METODY LECZENIA

ABSTRACT

Autoimmune hepatitis is a chronic progressive liver disease. The disease affects both adults and children. It is worth remembering that the treatment should start immediately after the diagnosis to stop the disease progression and, consequently, to avoid liver transplantation. Unfortunately, about 10-20% of patients do not respond to the standard treatment. In these cases, there is a necessity to use an alternative treatment. This article describes the second-line drugs used in children.

Standarty Medyczne/Pediatrya ■ 2024 ■ T. 21 ■ 461-465

KEY WORDS: ■ AUTOIMMUNE HEPATITIS ■ CHILDREN ■ ALTERNATIVE METHODS OF TREATMENT

Wstęp

Autoimmunizacyjne zapalenie wątroby (ang. autoimmune hepatitis, AIH) to przewlekła, postępująca choroba zapalna o nieznanym etiologii. Jej cechami charakterystycznymi są: nacieki plazmo- i limfocytarne w przestrzeniach wrotnych, obecność krążących w surowicy autoprzeciwciał oraz podwyższone stężenie immunoglobuliny G (IgG) i gamma-globulin. Może występować w każdym wieku, również w grupie pediatrycznych pacjentów. Wśród chorych dominuje płeć żeńska.

U części pacjentów objawy choroby mogą przypominać te występujące w przypadku ostrego zapalenia wątroby, wywołanego infekcją wirusową. Odrebną grupę stanowią pacjenci zgłaszający niecharakterystyczne dolegliwości: postępujące zmęczenie, nawracającą żółtaczkę, ból głowy, utratę apetytu, brak miesiączki, ubytek masy ciała. Należy pamiętać, że pierwsze objawy AIH mogą wynikać również z powikłań spowodowanych nadciśnie-



GŁÓWNE TEZY

- Prednizon/prednizolon i azatiopryna to standardowe leki stosowane w terapii autoimmunizacyjnego zapalenia wątroby, również u dzieci.
- Około 10-20% pacjentów wymaga zastosowania alternatywnego leczenia.
- Prowadzenie leczenia pacjentów z AIH lekami drugiego wyboru wymaga ostrożności oraz indywidualnego podejścia; ważne, aby leczenie prowadzić w ośrodkach, które mają doświadczenie w ich stosowaniu i monitorowaniu działań niepożądanych.

niem wrotnym (splenomegalia, krwawienie z żyłaków przełyku)¹.

Diagnoza AIH stawiana jest na podstawie badania podmiotowego i przedmiotowego, wyników badań laboratoryjnych i wyniku badania histopatologicznego biopsjatu wątroby, po wykluczeniu innych przyczyn stanu zapalnego wątroby (wirusowych za-

paleń wątroby, choroby Wilsona, niedoboru alfa-1-antytrypsyny, niealkoholowego stłuszczenia wątroby, toksycznego uszkodzenia wątroby)².

W zależności od rodzaju występujących autoprzeciwciał, AIH dzieli się na typ 1 i typ 2. Dla typu pierwszego charakterystyczne jest występowanie przeciwciał ANA (ang. *anti-nuclear antibodies*) i/lub SMA (ang. *smooth muscle antibodies*), a dla typu drugiego – anty-LKM1 (ang. *anti-liver-kidney microsome antibodies*) i/lub anty-LC1 (ang. *anti-liver cytosol type 1 antibodies*). Drugi tryb AIH występuje głównie u dzieci i młodzieży².

Po rozpoznaniu AIH odpowiednie leczenie powinno być wdrożone jak najszybciej w celu zatrzymania progresji choroby, w przeciwnym razie może rozwinąć się marskość, a następnie niewydolność wątroby. Rekomendacje zalecają kontynuowanie terapii przez minimum 2-3 lata². Warto podkreślić, że leczenie może trwać dłużej, a u znacznego odsetka pacjentów, po odstawieniu leków (obligatoryjnie po wykonaniu kontrolnej biopsji wątroby), obserwuje się nawrót choroby. Aktualnie podstawowym lekiem stosowanym w terapii jest prednizon/prednizolon podawany w dawce 2 mg/kg masy ciała/dobę (maksymalnie 60 mg/dobę) ze stopniową redukcją dawki po 4-8 tygodniach do dawki podtrzymującej 2,5-5 mg/dobę². Przy podejmowaniu decyzji o zmniejszeniu dawki sterydów konieczne jest monitorowanie spadku aktywności aminotransferaz i poziomu IgG. Drugim lekiem stosowanym w leczeniu AIH jest azatiopryna, która – w zależności od doświadczenia danego ośrodka – może być podawana jednocześnie ze sterydami, po kilku tygodniach od rozpoczęcia leczenia lub w momencie wystąpienia istotnych działań niepożądanych sterydów². Przy podejmowaniu decyzji o rodzaju leczenia niezwykle ważne znaczenie ma ocena aktywności i zaawansowania choroby w biopsji wątroby. U większości pacjentów, również pediatrycznych, już w momencie rozpoznania choroba jest zaawansowana. W tym przypadku zwykle należy od początku wdrożyć leczenie skojarzone, składające się ze sterydów i azatiopryny.

Przed podaniem azatiopryny wskazane jest oznaczenie aktywności S-metylotransferazy tiopuryny (ang. *thiopurine S-methyltransferase*, TPMT). Dzięki temu można ocenić ryzyko wystąpienia działań niepożądanych po włączeniu leku².

Celem leczenia jest osiągnięcie remisji, która w populacji pediatrycznej charakteryzuje się: prawidłową aktywnością aminotransferaz, normalizacją stężenia IgG, ujemnym lub bardzo niskim mianem autoprzeciwciał oraz wycofaniem się zmian zapalnych w biopsji wątroby².

Przed podjęciem decyzji o wycofaniu się z leczenia należy wykonać kontrolną biopsję wątroby, ponie-

waż stan zapalny wątroby może być stwierdzony w wyniku badania histopatologicznego, mimo prawidłowych wyników badań laboratoryjnych².

Konieczność alternatywnego leczenia występuje u pacjentów, którzy nie odpowiedzieli na standardową terapię lub wystąpiły u nich nasilone działania niepożądane².

Alternatywne leki stosowane w terapii autoimmunizacyjnego zapalenia wątroby:

Budezonid – stosowany jest zarówno do indukcji jak i podtrzymania remisji choroby. Lek przyjmowany drogą doustną charakteryzuje się 90% efektem pierwszego przejścia w wątrobę, dzięki czemu osiąga tam wysokie stężenie, minimalizując jednocześnie ryzyko wystąpienia działań niepożądanych⁴. Dzięki temu jest bardziej akceptowany przez pacjentów w porównaniu do prednizonu⁵. Co istotne, nie może być stosowany w przypadku stwierdzonej już marskości wątroby, która dotyczy co najmniej 1/3 pacjentów z AIH², ponieważ w tym przypadku efekt pierwszego przejścia jest zredukowany z powodu obecności przetok wrotno-systemowych⁶. Badania przeprowadzone przez Wernera i wsp. pokazują, że budezonid jest skuteczny w utrzymaniu remisji choroby u pacjentów, którzy osiągnęli ją za pomocą prednizonu⁷, ale niestety lek ten również nie jest pozbawiony działań niepożądanych i nie jest skuteczny u pacjentów, którzy nie osiągnęli korzyści za pomocą prednizonu, ponieważ oba te leki wykorzystują ten sam receptor⁸.

Wojnarowski i wsp. w 2013 r. porównali skuteczność budezonidu i prednizonu w połączeniu z azatiopryną w grupie 46 pediatrycznych pacjentów. Stosowanie budezonidu wiązało się z mniejszą ilością działań niepożądanych, ale po roku tylko 46% chorych osiągnęło całkowitą remisję^{4,9}. Z powodu niskiego odsetka remisji wykazanego w tym badaniu w porównaniu do wyników innych badań, gdzie u dzieci w leczeniu stosowano prednizon i azatioprynę, nie zaleca się stosowania budezonidu jako leku pierwszego wyboru w terapii AIH^{4,9,10}.

Mieli-Vergani i wsp. również zwracają uwagę, że wyniki dotyczące remisji w przypadku stosowania budezonidu są gorsze niż w przypadku stosowania standardowego leczenia, dlatego zalecają rozważne podchodzenie do leczenia budezonidem AIH wśród dzieci¹⁰.

Cyklosporyna – lek szeroko stosowany w transplantologii. Działania niepożądane ograniczające jej stosowanie to: nefrotoksyczność, nadciśnienie tętnicze, negatywne efekty kosmetyczne (przerost włosów, hirsutyzm).

W 1999 r. Alvarez i wsp. opisali grupę 32 pediatrycznych pacjentów z AIH, głównie typu 1, którzy przez



6 miesięcy byli leczeni wyłącznie cyklosporyną. Po tym okresie do terapii dołączono prednizon i azatioprynę. Takie leczenie kontynuowano przez miesiąc, następnie odstawiono cyklosporynę. Dwóch pacjentów zostało wycofanych z badania, pierwszy z powodu niestosowania się do zaleceń, a drugi z powodu niewydolności wątroby. Spośród 30 pozostałych pacjentów 25 znormalizowało aktywność aminotransferazy alaninowej (ALT) w ciągu 6 miesięcy, a pozostali w ciągu roku leczenia. Działania uboczne leku były łagodne i ustąpiły po zakończeniu terapii¹¹.

W tym samym roku Debray i wsp. opublikowali retrospektywną analizę obejmującą 15 pacjentów pediatrycznych i młodocianych, u których zastosowano cyklosporynę w leczeniu AIH. Wszyscy pacjenci osiągnęli normalizację aktywności ALT w ciągu 6 miesięcy leczenia, jednak u 5 z nich w wynikach badań laboratoryjnych obserwowano pogorszenie wskaźnika filtracji kłębuszkowej (ang. *glomerular filtration rate*, GFR). Z tego powodu autorzy podkreślili konieczność monitorowania laboratoryjnych wskaźników czynności nerek u pacjentów leczonych tym lekiem¹².

Kilka lat później, w 2006 r. Cuatrecasas i wsp. stosowali cyklosporynę przez 6 miesięcy w grupie 84 dzieci z AIH. Remisję osiągnięto w ciągu pół roku leczenia u 69% pacjentów. Działania niepożądane obejmowały rozwój nadmiernego owłosienia oraz przerost drążek. Przejściowy wzrost stężenia kreatyniny i nadciśnienie tętnicze były stwierdzone tylko raz u 4% pacjentów¹³.

W metaanalizie Zizzo i wsp. potwierdzili skuteczność cyklosporyny u dzieci z AIH opornym na standardowe leczenie¹⁴.

Mimo dobrych efektów leczenia należy pamiętać, że badania przeprowadzone na zwierzętach pokazują, że cyklosporyna może nasilać procesy autoimmunizacyjne¹⁵⁻¹⁸. Wiadomo również, że u pacjentów po transplantacji wątroby, leczonych inhibitorami kalcyneuryny (cyklosporyna, takrolimus), może rozwijać się AIH *de novo* w przeszczepionej wątrobie. Również z tego powodu należy z dużą rozwagą podchodzić do leczenia AIH u dzieci cyklosporyną.

Mykofenolan mofetylu (MMF) – w wielu krajach jest najczęściej używanym lekiem drugiego wyboru, głównie w połączeniu z prednizonem. Jest prolekiem, który ulega przekształceniu do kwasu mykofenolowego.

Stosowany jest zarówno u pacjentów nietolerujących azatiopryny, jak też u tych, którzy nie w pełni odpowiedzieli na standardowe leczenie. Badania pokazują, że jest bardziej skuteczny w pierwszej grupie pacjentów.

W pojedynczym prospektywnym badaniu Zachou i wsp. wykazali, że MMF jest bezpieczny i skutecz-

ny zarówno do indukcji, jak i podtrzymania remisji choroby¹⁹. Warto jednak pamiętać, że lek ma działanie teratogenne, co może być istotnym ograniczeniem w jego stosowaniu, ponieważ duża grupa pacjentów z AIH są kobiety w wieku rozrodczym. Działania niepożądane obejmują ponadto: ból głowy, biegunkę, zawroty głowy, utratę włosów, leukopenię^{9,20}.

Marion i wsp. w swojej pracy oceniali wyniki leczenia pacjentów pediatrycznych z AIH mykofenolanem mofetylu w przypadku braku efektu lub nietolerancji standardowego leczenia. Autorzy badania wykazali, że MMF może być skuteczną terapią ratunkową dla dzieci z AIH, ale nie u pacjentów z autoimmunizacyjnym stwardniającym zapaleniem dróg żółciowych (ang. *autoimmune sclerosing cholangitis*, ASC)²¹. W metaanalizie Zizzo i wsp. stwierdzili, że MMF jest drugim po cyklosporynie najbardziej skutecznym lekiem u dzieci w przypadku opornego na standardowe leczenie AIH. Autorzy pracy podkreślili równocześnie, że MMF charakteryzował się niskim odsetkiem działań niepożądanych¹⁴.

Takrolimus – silniejszy lek immunosupresyjny niż cyklosporyna. Wprowadzony do leczenia w 2011 r. u 20 pacjentów pediatrycznych z rozpoznaniem AIH. Lek podawano w formie doustnej dwa razy dziennie. Leczenie kontynuowano przez rok, zalecane stężenie leku wynosiło wówczas 2,5-5 ng/mL. Całkowitą remisję osiągnęło 85% pacjentów, ale u 14 z nich pojawiła się konieczność dołączenia prednizonu lub azatiopryny. Działania niepożądane: ból głowy i/lub nawracający ból brzucha zgłosiło 50% pacjentów; u nikogo nie odnotowano pogorszenia parametrów oceniających funkcję nerek. Autorzy pracy podkreślili, że mimo, że takrolimus w monoterapii nie jest wystarczający do osiągnięcia całkowitej remisji u wszystkich pacjentów, to pozwala zredukować dawkę prednizonu i azatiopryny, unikając dzięki temu ich działań niepożądanych²².

Należy jednak mieć na uwadze, że podawanie takrolimu związane jest z następującymi działaniami niepożądanymi: nefrotoksyczność, cukrzyca, działania uboczne ze strony układu nerwowego i przewodu pokarmowego^{23,24}.

Rytuksymab – chimeryczne przeciwciało monoklonalne anty-CD20, powodujące spadek liczby limfocytów B. Lek był zastosowany z sukcesem u dwójki dzieci z opornym na leczenie AIH w 2013 r. przez D'Agostino i wsp. jako terapia ratunkowa. Uzyskano kliniczną i biochemiczną remisję, nie odnotowano skutków ubocznych²⁵.

W retrospektywnym badaniu, łączącym doświadczenie związane z leczeniem rytuksymabem 22 pacjentów z AIH, określanych jako „*difficult to treat*”, z Północnej Europy i Kanady, wykazano poprawę w wynikach badań laboratoryjnych oraz zredukowano



DO ZAPAMIĘTANIA

- Po rozpoznaniu autoimmunizacyjnego zapalenia wątroby odpowiednie leczenie powinno być wdrożone jak najszybciej.
- Po rozpoczęciu terapii pacjenci wymagają regularnych badań kontrolnych w celu oceny skuteczności leczenia i występowania ewentualnych działań niepożądanych.
- W Polsce cyklosporyna jest najczęściej używanym lekiem drugiego wyboru, aczkolwiek należy mieć na uwadze, że w piśmiennictwie to mykofenolan mofetylu posiada największą liczbę danych naukowych dotyczących jego stosowania.

dawkę steroidów, po podaniu dwóch dawek rytuksymabu w odstępie dwóch tygodni²⁶.

Warto podkreślić konieczność prowadzenia dalszych badań oceniających skuteczność i profil bezpieczeństwa tego leku, ponieważ rytuksymab wykazuje długookresowe działanie niepożądane w postaci obniżenia stężenia limfocytów B²⁷.

Inflixymab – inhibitor czynnika martwicy nowotworów (TNF-alfa), zastosowany w leczeniu AIH jako terapia ratunkowa. Rajanayagam i wsp. opisał przypadek 10-letniej dziewczynki z AIH opornym na leczenie wysokimi dawkami steroidów, azatiopryny, MMF i takrolimusem. Dzięki zastosowaniu leczenia odstawiono sterydy, poprawiono jakość życia pacjentki oraz odroczone termin wykonania przeszczepienia wątroby²⁸. Jednak schemat dotyczący dawkowania inflixymabu i jego profil bezpieczeństwa w leczeniu AIH nadal pozostaje nieznany⁴. Co ciekawe, w badaniu Nedelkopoulou i wsp. wykazano, że w grupie 11 pacjentów z nieswoistym zapaleniem jelit oraz AIH, zastosowanie anty-TNF alfa korzystnie wpłynęło na chorobę jelit, ale u większości z nich nie poprawiło parametrów oceniających funkcję wątroby²⁹.

Sirolimus – lek zapobiegający odrzuceniu przeszczepionego narządu stosowany w transplantologii. Dostępne dane dotyczące leczenia AIH sirolimusem są skąpe i raczej niesatysfakcjonujące. Wśród częstych działań niepożądanych występujących podczas leczenia wymienia się: hiperlipidemię, owrzodzenia w obrębie jamy ustnej, owrzodzenia kończyn dolnych³⁰⁻³². W 2014 r. Kurowski i wsp. opisał grupę 4 pediatrycznych pacjentów, którzy otrzymali sirolimus jako terapię ratunkową. Dwoje pacjentów osiągnęło poprawę w wynikach badań laboratoryjnych, u jednego pacjenta była widoczna również poprawa w wyniku badania histopatologicznego wątroby³¹.

Ewerolimus – zapobiega procesowi odrzucania przeszczepionego narządu oraz stosowany jest jako lek przeciwnowotworowy. Istnieje niewiele danych dotyczących leczenia pacjentów z AIH. Lek był zastosowany u 7 pacjentów z AIH, nieodpowiadającym na standardowe lub alternatywne leczenie lub z istotnymi działaniami niepożądanymi. Osiągnięto normalizację ak-

tywności aminotransferaz u 3 pacjentów oraz obniżenie aktywności enzymów u pozostałych, nie obserwując przy tym istotnych działań niepożądanych³³.

6-merkaptopuryna – jest używana w leczeniu nieswoistych zapaleń jelit, uważa się, że jest lepiej tolerowana niż azatiopryna^{34,35}. W przypadku AIH była skutecznie zastosowana w niewielkiej grupie pacjentów nietolerujących azatiopryny^{36,37}.

Allopyrrolol – hepatotoksyczność azatiopryny związana jest z jej zaburzonym metabolizmem, kiedy zamiast 6-tioguaniny (6-TG) następuje jej przekształcenie do 6-metylmerkaptopuryny (6-MMP). Allopyrrolol skutecznie „przekierowuje” metabolizm azatiopryny w kierunku 6-TG⁴. De Boer i wsp. oraz Al-Shamma i wsp. w swoich pracach wykazali, że allopyrrolol jest skuteczny u pacjentów opornych lub nietolerujących azatiopryny z powodu jej zaburzonego metabolizmu^{38,39}.

Podsumowanie

Autoimmunizacyjne zapalenie wątroby wymaga skutecznego leczenia, aby uniknąć progresji choroby. Należy pamiętać, że u dzieci i młodzieży choroba ma bardziej agresywny przebieg w porównaniu do pacjentów dorosłych. Standardowe leczenie oparte na steroidach i azatioprynie jest skuteczne dla 80-90% pacjentów⁴. W przypadku braku skuteczności takiego leczenia istnieje konieczność zastosowania alternatywnych metod terapii. W warunkach polskich cyklosporyna jest najczęściej używanym lekiem drugiego wyboru, aczkolwiek należy zauważyć, że w piśmiennictwie to MMF posiada największą liczbę danych naukowych dotyczących jego stosowania³. Należy mieć na uwadze, że prowadzenie leczenia pacjentów z AIH lekami drugiego wyboru wymaga ostrożności oraz indywidualnego podejścia; ważne aby leczenie prowadzić w ośrodkach, które mają doświadczenie w ich stosowaniu i monitorowaniu działań niepożądanych.

lek. Dominika Kaps-Kopiec

Klinika Gastroenterologii, Hepatologii, Zaburzeń Odżywiania i Pediatrii
Instytut „Pomnik - Centrum Zdrowia Dziecka”
04-730 Warszawa, al. Dzieci Polskich 20

d.kaps-kopiec@ipczd.pl

Autorstwo manuskryptu:

Dominika Kaps-Kopiec – analiza i interpretacja danych, napisanie artykułu.

Joanna Pawłowska – opracowanie koncepcji badania/pracy naukowej, merytoryczna recenzja artykułu, nadzór nad ostateczną wersją artykułu.



PIŚMIENNICTWO

1. Floreani A, Liberal R, Vergani D i wsp. Autoimmune hepatitis: Contrasts and comparisons in children and adults – A comprehensive review. *J Autoimmun* 2013;46:7–16.
2. Mieli-Vergani G, Vergani D, Baumann U i wsp. Diagnosis and Management of Pediatric Autoimmune Liver Disease: ESPGHAN Hepatology Committee Position Statement. *JPGN* 2018;66:345–360.
3. Beretta-Piccoli BT, Mieli-Vergani G, Vergani D. Autoimmune hepatitis: Standard treatment and systemic review of alternative treatments. *World J Gastroenterol* 2017;23:6030–6048.
4. Nastasio S, Sciveres M, Matarazzo L i wsp. Old and New Treatments for Pediatric Autoimmune Hepatitis. *Curr Pediatr Rev* 2018;14:187–195.
5. Mohammad S. Budesonide as first-line therapy for non-cirrhotic autoimmune hepatitis in children: a decision analysis. *Scand J Gastroenterol* 2016;51:753.
6. Vergani D, Beretta-Piccoli BT, Mieli-Vergani G. A reasoned approach to the treatment of autoimmune hepatitis. *Dig Liver Dis* 2021;53:1381–1393.
7. Werner M, Wallerstedt S, Lindgren S i wsp. Characteristics and long-term outcome of patients with autoimmune hepatitis related to the initial treatment response. *Scand J Gastroenterol* 2010;45:457–467.
8. Wojnarowski M, Nemeth A, Baruch Y i wsp. Budesonide versus prednisone with azathioprine for the treatment of autoimmune hepatitis in children and adolescents. *J Pediatr* 2013;163:1347–1353.
9. Maggiore G, Nastasio S, Sciveres M. Juvenile autoimmune hepatitis. Spectrum of the disease. *World J Hepatol* 2014;6:464–476.
10. Mieli-Vergani G, Vergani D. Budesonide for juvenile autoimmune hepatitis? Not yet. *J Pediatr* 2013;163:1246–1248.
11. Alvarez F, Cioeca M, Canero-Velasco C i wsp. Short-term cyclosporine induces a remission of autoimmune hepatitis in children. *J Hepatol* 1999;30:222–227.
12. Debray D, Maggiore G, Grandet JP i wsp. Efficacy of cyclosporin A in children with type 2 autoimmune hepatitis. *J Pediatr* 1999;135:111–114.
13. Cuarterolo M, Cioeca M, Velasco CC i wsp. Follow-up of children with autoimmune hepatitis treated with cyclosporine. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2006;43:635–639.
14. Zizz AN, Valentino PL, Shah PS i wsp. Second-Line Agents in Pediatric Patients with Autoimmune Hepatitis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2017;65:6–15.
15. Cuarterolo M, Cioeca M, Velasco CC i wsp. Follow up of children with autoimmune hepatitis treated with cyclosporine. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2006;43:635–639.
16. Wu DT, Goldschneider I. Cyclosporin A – induced autologous graft-versus-host disease: a prototypical model of autoimmunity and active (dominant) tolerance coordinately induced by recent thymic emigrants. *J Immunol* 1999;162:6926–6933.
17. Bucy RR, Xu XY, Li J i wsp. Cyclosporin A-induced autoimmune disease in mice. *J Immunol* 1993;151:1039–1050.
18. Gao EK, Lo D, Cheney R i wsp. Abnormal differentiation of thymocytes in mice treated with cyclosporin. *A Nature* 1988;336:179–176.
19. Zachou K, Gatselis NK, Arvaniti P i wsp. A real-world study focused on the long term efficacy of mycophenolate mofetil as first-line treatment of autoimmune hepatitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2016;43:1035–1047.
20. Vitell-Pedersen J, Jorgensen MH, Muller K i wsp. Autoimmune hepatitis in children in Eastern Denmark. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2012;55:376–376.
21. Aw MM, Dhawan A, Samy M i wsp. Mycophenolate mofetil as rescue treatment for autoimmune liver disease in children: A 5-year follow-up. *J Hepatol* 2009;51:156–160.
22. Marlaka JR, Papadogiannakis N, Fischler B i wsp. Tacrolimus without or with the addition of conventional immunosuppressive treatment in juvenile autoimmune hepatitis. *Acta Paediatr* 2012;101:993–999.
23. Shrestha BM. Two Decades of Tacrolimus in Renal Transplant Basic Science and Clinical Evidences. *Exp Clin Transplant* 2017;15:1–9.
24. Webster A, Woodroffe JC, Taylor RS i wsp. Tacrolimus versus cyclosporin as primary immunosuppression for kidney transplant recipients. *Cochrane Database Syst Rev* 2005;4:CD003961.
25. D'Agostino D, Costaguta A, Alvarez F. Successful treatment of refractory autoimmune hepatitis with rituximab. *Pediatrics* 2013;132:526–530.
26. Than NN, Hodson J, Schmidt-Martin D i wsp. Efficacy of rituximab in difficult-to-manage autoimmune hepatitis: results from the international autoimmune hepatitis group. *JHEP Reports* 2019;1:437–445.
27. Pavanello F, Zucca E, Ghismini M. Rituximab: 13 open questions after 20 years of clinical use. *Cancer Treat Rev* 2017;53:38–46.
28. Rajanayagam J, Lewindon PJ. Infliximab as rescue therapy in paediatric autoimmune hepatitis. *J Hepatol* 2013;59:908–909.
29. Nedelkopoulou N, Vadamalayan B, Vergani D i wsp. Anti-TNF α Treatment in Children and Adolescents With Combined Inflammatory Bowel Disease and Autoimmune Liver Disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2018;66:100–105.
30. Chattrath H, Allen L, Boyer TD. Use of sirolimus in the treatment of refractory autoimmune hepatitis. *Am J Med* 2014;127:1128–1131.
31. Kurowski J, Melin-Akden H, Bass L i wsp. Sirolimus as rescue therapy in pediatric autoimmune hepatitis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2014;58:4–6.
32. Rubin JN, Te HS. Refractory Autoimmune Hepatitis: Beyond Standard Therapy. *Dig Dis Sci* 2016;61:1757–1762.
33. Yiting H, Larsen FS. Everolimus treatment for patients with autoimmune hepatitis and poor response to standard therapy and drug alternatives in use. *Scan J Gastroenterol* 2015;50:1025–1031.
34. Hindorf U, Johansson M, Eriksson A, Kvilfors E i wsp. Mercaptopurine treatment should be considered in azathioprine intolerant patients with inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2009;29:654–661.
35. Kennedy NA, Rhatigan E, Arnett ID i wsp. A trial of mercaptopurine is a safe strategy in patients with inflammatory bowel disease intolerant to azathioprine: an observational study, systematic review and meta-analysis. *Aliment Pharmacol Ther* 2013;38:1255–1266.
36. Hubner S, Do YH, Than NN i wsp. Efficacy of 6-mercaptopurine as second-line treatment for patients with autoimmune hepatitis and azathioprine intolerance. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2016;14:445–453.
37. Pratt DS, Flavin DR, Kaplan MM. The successful treatment of autoimmune hepatitis with 6-mercaptopurine after failure with azathioprine. *Gastroenterology* 1996;110:271–274.
38. De Boer YS, van Gerven NM, de Boer NK i wsp. Allopurinol safely and effectively optimizes thiopurine metabolites in patients with autoimmune hepatitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2013;37:919.
39. Al-Shamma S, McCrudden IL, McLaughlin C. Letter: allopurinol co-therapy is safe and effective in autoimmune hepatitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2013;37:919.