

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE  
“CAROL DAVILA”, BUCUREȘTI  
ȘCOALA DOCTORALĂ  
DOMENIUL MEDICINĂ**



**TEZĂ DE DOCTORAT  
REZUMAT**

**Conducător științific:  
Prof. Univ. Dr. ARAMĂ ȘTEFAN SORIN**

**Student-doctorand:  
VIERAȘU (căs. MOLAGIC) VIOLETA**

**2021**

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE  
“CAROL DAVILA”, BUCUREȘTI  
ȘCOALA DOCTORALĂ  
DOMENIUL MEDICINĂ**



**EVALUAREA MECANISMELOR PATOGENICE  
IMPLICATE ÎN REACTIVAREA INFECȚIILOR CU  
VIRUSURI HEPATITICE B ȘI C LA PACIENȚII SUB  
TERAPII BIOLOGICE ÎN VEDEREA OPTIMIZĂRII  
MANAGEMENTULUI ACESTOR INFECȚII**

**REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT**

**Conducător științific:  
Prof. Univ. Dr. ARAMĂ ȘTEFAN SORIN**

**Student-doctorand:  
VIERAȘU (căs. MOLAGIC) VIOLETA**

**2021**

# Cuprins

	<b>Pagina</b>
<b>INTRODUCERE.....</b>	<b>13</b>
<b>I. PARTEA GENERALĂ .....</b>	<b>18</b>
<b>1. Terapiile biologice.....</b>	<b>19</b>
1.1. Istoric.....	19
1.2. Definiții și terminologie .....	19
1.3. Clasificarea actuală a terapiilor biologice și mecanismele lor de acțiune .....	20
1.4. Indicații clinice actuale ale terapiilor biologice.....	21
1.5. Reacții adverse ale terapiei biologice .....	23
1.6. Mecanisme patogenice implicate în dezvoltarea reacțiilor adverse la terapiile biologice.....	24
1.6.1. Rolul TNF-a ... ..	24
1.6.2. Rolul IL-1 .....	25
1.6.3. Rolul IL-6 .....	26
1.6.4. Rolul limfocitelor B.....	26
1.7. Clasificarea infecțiilor secundare asociate utilizării terapiilor biologice .....	26
1.7.1. Infecțiile bacteriene .....	26
1.7.1.1. Tuberculoza .....	27
1.7.1.2. Alte infecții bacteriene . .....	27
1.7.1.3. Infecția cu <i>Listeria monocytogenes</i> . .....	28
1.7.2. Infecțiile fungice . .....	28
1.7.2.1. Histoplasmoza .....	29
1.7.2.2. Coccidioidomicoza .....	29
1.7.2.3. Candidoza .....	29
1.7.2.4. Aspergiloza .....	29
1.7.2.5. Cryptococcoza .....	30
1.7.2.6. Infecția cu <i>Pneumocystis jirovecii</i> .....	30
1.7.3. Infecțiile parazitare . .....	30
1.7.4. Infecțiile virale .....	30
1.7.4.1. Infecția cu virusul imunodeficienței umane (HIV). .....	30
1.7.4.2. Infecții cu herpesvirusuri umane .....	31

1.7.4.2.1. Infecția cu HSV-1.....	31
1.7.4.2.2. Infecția cu VZV .....	31
1.7.4.2.3. Infecția cu EBV .....	31
1.7.4.2.4. Infecția cu CMV .....	32
1.7.4.2.5. Infecția cu HHV-8 .....	33
1.7.4.3. Infecția cu Parvovirusul B 19 .....	33
1.7.4.4. Infecția cu virusul JC.....	33
1.7.4.5. Infecția cu VHB .....	34
1.7.4.6. Infecția cu VHC .....	35
<b>2. Reactivarea infecției cu VHB și VHC asociată terapilor biologice.....</b>	<b>36</b>
2.1. Reactivarea infecției VHB (VHB-r).....	36
2.1.1. Infecția cu VHB .....	36
2.1.1.1. Epidemiologia infecției VHB.....	36
2.1.1.2 Structura VHB .....	40
2.1.1.3. Replicarea VHB .....	41
2.1.1.4. Patogenia infecției VHB .....	43
2.1.1.5. Evoluția naturală a infecției VHB .....	46
2.1.1.6. Diagnosticul infecției VHB .....	52
2.1.2. Reactivarea infecției VHB la pacienții aflați sub terapii biologice .....	53
2.1.2.1. Perspective istorice .....	53
2.1.2.2. Epidemiologia reactivării infecției VHB.....	54
2.1.2.3. Definiția reactivării infecției VHB .....	54
2.1.2.4. Factorii care pot influența rata de reactivare a infecției VHB .....	56
2.1.2.5. Terapiile biologice implicate în reactivarea infecției VHB .....	58
2.1.2.6. Mecanisme patogenice implicate în reactivarea infecției VHB .....	58
2.1.2.7. Debutul reactivării infecției VHB .....	61
2.1.2.8. Tablouri clinico-evolutive asociate reactivării infecției VHB .....	61
2.1.2.9. Diagnosticul pozitiv al reactivării infecției VHB .....	62
2.1.2.10. Diagnosticul diferențial al reactivării infecției VHB.....	63
2.1.3. Infecția cu virusul hepatitei D.....	63
2.1.4. Infecția cu virusul hepatitei C.....	65
2.1.4.1. Istoricul infecției cu VHC.....	65
2.1.4.2. Epidemiologia infecției cu VHC.....	64
2.1.4.3. Structura VHC și replicarea virală.....	66

2.1.4.4. Patogenia infecției cu VHC. Răspunsul imun în infecția cu VHC.....	67
a. Răspunsul imun specific de tip celular .....	68
b. Răspunsul imun specific de tip umoral .....	69
2.1.4.5. Formele clinice ale infecției cu VHC .....	70
2.1.4.6. Diagnosticul infecției cu VHC .....	70
2.1.4.7. Tratamentul actual al infecției VHC .....	72
2.1.4.8. Profilaxia infecției cu VHC .....	73
2.2. Reactivarea infecției VHC (VHC-r) .....	74
2.2.1. Istoricul reactivării infecției VHC .....	74
2.2.2. Epidemiologia asocierii infecției VHC cu unele afecțiuni maligne .....	74
2.2.3. Definiția reactivării infecției VHC .....	75
2.2.4. Mecanismele implicate în reactivarea infecției VHC.....	75
2.2.5. Factorii de risc pentru reactivarea infecției VHC .....	76
2.2.6. Terapiile incriminate în reactivarea infecției VHC .....	76
2.2.7. Evoluția pacienților cu reactivarea infecției VHC .....	78
2.2.8. Diagnosticul pozitiv al reactivării infecției VHC.....	78
2.2.9. Diagnosticul diferențial al reactivării infecției VHC .....	78
<b>3. Screening-ul, profilaxia și managementul pacienților cu infecție cu VHB și VHC aflați în terapie biologică.....</b>	<b>79</b>
3.1. Screening-ul pentru infecția VHB al pacienților care necesită terapii biologice ....	79
3.2. Managementul infecției cu VHB la pacienții care necesită terapii biologice .....	82
3.2.1. Managementul pacienților cu AgHBs pozitiv.....	82
3.2.2. Managementul pacienților cu AgHBs negativ și IgG anti-HBc pozitivi .....	83
3.3. Managementul pacienților co-infecțați cu VHB și VHD .....	86
3.4. Screening-ul pentru infecția VHC la pacienții care necesită terapii biologice .....	87
3.5. Managementul infecției cu VHC la pacienții aflați sub terapii biologice.....	87
<b>II. CERCETAREA PERSONALĂ.....</b>	<b>89</b>
<b>4. Ipoteza de lucru și obiectivele generale.....</b>	<b>90</b>
<b>5. Metodologia generală a cercetării.....</b>	<b>92</b>
5.1. Considerații etice.....	93
5.2. Analiza statistică.....	93
<b>6. Evaluarea complexă și identificarea factorilor de risc privind reactivarea infecțiilor cu virusuri hepatitice B, C și D la un lot de pacienți cu afecțiuni hematologice maligne care au primit chimioterapie și/sau terapie biologică.....</b>	<b>95</b>

6.1. Introducere.....	95
6.2. Obiectivele studiului.....	95
6.3. Material și metodă.....	96
6.3.1. Definiții.....	96
6.3.2. Criteriile pentru selectarea lotului de studiu.....	97
6.3.3. Monitorizarea pacienților pe durata studiului.....	97
6.4. Rezultate.....	98
6.4.1. Caracteristicile lotului de studiu.....	98
6.4.2. Corelații între tipul de infecție virală și SLC.....	107
6.4.3. Analiza deceselor înregistrate la pacienții din lotul studiat.....	120
6.4.4. Reactivarea virală la pacienții cu SLC.....	125
6.4.5. Caracteristicile pacienților cu coinfecții cu virusuri hepatitice și SLC.....	140
6.5. Discuții.....	141
<b>7. Analiza imunofenotipică asupra unui lot de pacienți cu SLC și infecție cu virusuri hepatitice B și C aflați în TIS.....</b>	<b>152</b>
7.1. Introducere.....	152
7.2. Obiectivele studiului .....	152
7.3. Material și metodă .....	152
7.4. Rezultate.....	153
7.4.1. Caracteristicile lotului de studiu.....	153
7.5. Discuții.....	161
<b>8. Monitorizarea în dinamică a unui lot de pacienți cu afecțiuni reumatologice care asociau cel puțin un marker serologic al infecției cu VHB și care au necesitat terapie biologică.....</b>	<b>164</b>
8.1. Introducere.....	164
8.2. Obiectivele studiului.....	164
8.3. Material și metodă.....	164
8.3.1. Caracteristicile lotului de studiu.....	165
8.3.2. Monitorizarea pacienților pe durata studiului.....	165
8.4. Rezultate.....	166
8.5. Discuții .....	177
<b>9. Concluzii și implicații practice.....</b>	<b>182</b>
9.1. Concluzii.....	182

9.1.1. Concluzii rezultate din analiza loturilor de pacienți cu sindrom limfoproliferativ cronic și infecție cu virusuri hepatitice B, C și D aflați în tratament imunosupresor/biologic.....	182
9.1.2. Concluzii rezultate din analiza lotului de pacienți cu afecțiuni reumatologice și infecție cu virus hepatitic B aflați sub terapie imunosupresoare/biologică.....	185
9.2. Implicații practice ale cercetării doctorale și perspective deschise.....	186
<b>Bibliografie.....</b>	<b>192</b>
<b>Anexe.....</b>	<b>217</b>

## **Parte generală-stadiul actual al cunoașterii**

Medicina modernă a permis diagnosticarea cu mare acuratețe a unor afecțiuni oncologice și autoimune severe, situație ce a creat premisele necesare identificării unor noi molecule pentru tratamentul acestora.

În prezent, tratamentul afecțiunilor neoplazice, autoimune sau reumatismale asociază terapii imunosupresoare și/sau biologice potente. Utilizarea acestora este în continuă expansiune, în special în suferințele reumatismale și hematologice maligne.

Riscul major al acestor terapii imunosupresoare (TIS) sau terapii biologice (TBI) este acela de a reactiva infecții latente, aparent controlate, fiind astfel absolut necesară monitorizarea atentă atât a eficienței, cât și a siguranței acestor noi terapii.

În pofida noilor descoperiri în ceea ce privește profilaxia, diagnosticul și tratamentul infecțiilor cu virusuri hepatitice B (VHB) și C (VHC), acestea continuă să fie considerate de Organizația Mondială a Sănătății (OMS) o problemă majoră de sănătate publică. Hepatitele cronice cu VHB și VHC pot evolua în timp către ciroză hepatică, carcinom hepatocelular și deces. Din punct de vedere al mortalității asociate, infecția cu VHB și VHC se află în "top 10 boli infecțioase".

La nivel mondial, România continuă să se afle în zona de endemicitate intermediară pentru infecția cu VHB și VHC, în timp ce în Europa, țara noastră se numără printre țările cu prevalență înaltă pentru infecția cu VHB sau VHC. În România predomină genotipurile de VHB și VHC care au un răspuns suboptimal la terapiile antivirale clasice.

Având în vedere cele de mai sus, este importantă conștientizarea lumii medicale referitor la riscul de reactivare a infecțiilor cu VHB și VHC în timpul terapiilor biologice moderne, precum și necesitatea realizării unui screening virusologic riguros al pacienților tratați cu imunosupresoare, în scopul prevenirii complicațiilor infecțioase ulterioare.

Reactivarea infecției cu VHB sau VHC sub TIS /TBI poate conduce la forme severe de hepatită acută cu evoluție fulminantă către insuficiență hepatică acută și deces. Afectarea hepatică impune întreruperea TIS, fapt care va atrage agravarea bolii de fond, cu risc crescut de deces prin progresia acesteia.

În acest context, considerăm importantă și necesară colaborarea multidisciplinară (reumatolog, hematolog, gastroenterolog, virusolog, imunolog și infecționist), pentru a putea evalua corect statusul serologic și virusologic al pacienților referitor la infecțiile cu virusuri hepatitice înainte de inițierea terapiei imunosupresoare, în vederea abordării corecte a acestora.



În lucrarea de doctorat am studiat un lot de pacienți cu afecțiuni hematologice maligne și reumatologice care prezentau infecții cu virusuri hepatitice B, C și D aflați în evidența mai multor clinici de hematologie și reumatologie din București și care urmau tratament imunosupresor/biologic.

Am realizat o analiză prospectivă și retrospectivă a evoluției acestor pacienți pe durata tratamentului, am încercat să determin factori de risc ai reactivării infecțiilor virale hepatitice în vederea optimizării managementului acestora.

Lucrarea este compusă din Introducere, Parte generală, Cercetarea personală, Concluzii și Contribuții personale.

**Partea generală** cuprinde:

- Scurt istoric al terapiilor biologice, definiții, terminologii și clasificarea actuală a terapiilor biologice precum și a mecanismelor de acțiune. Sunt prezentate indicațiile clinice ale acestor terapii, sunt redată informații despre mecanismele patogenice implicate în dezvoltarea reacțiilor adverse la terapia biologică, precum și clasificarea infecțiilor asociate utilizării terapiei biologice, inclusiv infecțiile cu virusuri hepatitice B și C.
- Sunt prezentate succint date despre acțiunea terapiilor biologice asupra sistemului imunitar, gradul de imunosupresie pe care îl produc, precum și despre rolul citokinelor în medierea proceselor biologice ale inflamației și imunității, având un rol în homeostazia mecanismelor de apărare.
- Sunt prezentate date epidemiologice, patogenice, clinice și virusologice ale infecțiilor cu VHB, VHC și VHD precum și actualizări privind definițiile, clasificările și mecanismele patogenice ale reactivării acestora sub terapia biologică. Sunt descrise terapiile biologice implicate în reactivarea virală, precum și tabloul clinico-evolutiv asociat reactivării infecțiilor cu VHB, VHD și VHC.
- Sunt prezentate date actuale privind screening-ul, profilaxia și managementul pacienților cu infecții cu virusuri hepatitice B și C aflații sub terapie biologică care au reactivat.

În partea de **Cercetare personală** sunt prezentate rezultatele obținute în urma analizării lotului de pacienți înrolați, iar capitolul de **Concluzii și contribuții personale** cuprinde un algoritm de screening, monitorizare și management al infecțiilor cu virusuri hepatitice la pacienții cu afecțiuni hematologice maligne și reumatologice care necesită terapie imunosupresoare/biologică.

## CONTRIBUȚII PERSONALE

### Metodologia generală a cercetării

În cadrul cercetării doctorale au fost evaluate 2 loturi de pacienți:

- Un lot de pacienți cu afecțiuni hematologice maligne aflați sub tratament chimioterapic și/sau biologic, care erau monitorizați în trei clinici universitare de hematologie din București;
- Un lot de pacienți cu afecțiuni reumatologice aflați sub terapii biologice, care erau monitorizați în două clinici universitare de reumatologie din București.

Lucrarea este compusă din două studii individuale ale căror rezultate au stat la baza formulării concluziilor finale:

- **Studiul 1** a constat din evaluarea epidemiologică, clinică, serologică, virusologică, monitorizarea multidisciplinară și identificarea factorilor de risc privind reactivarea infecțiilor cu virusuri hepatitice la un lot de pacienți cu afecțiuni hematologice maligne (sindroame limfoproliferative cronice), care asociau cel puțin un marker serologic pozitiv pentru VHB, VHC, VHD și care au primit chimioterapie și/sau terapie biologică. Este vorba despre un studiu desfășurat în INBIMB, care a evaluat și monitorizat un lot de pacienți diagnosticați cu SLC în clinicile de hematologie ale Spitalului Universitar de Urgență București (SUUB), Spitalul Clinic Colentina (SCC) și Spitalul Clinic Colțea.

- **Studiul 2** a constat în monitorizarea sero-virusologică în dinamică a pacienților cu afecțiuni reumatologice aflați sub terapii biologice și care asociau cel puțin un marker pozitiv pentru infecția cu virusul hepatitic B. Este vorba despre un studiu prospectiv desfășurat în INBIMB, care a evaluat și monitorizat un lot de pacienți aflați în evidența clinicilor de reumatologie din Spitalul Clinic Colentina (SCC) și Spitalul Clinic Dr. Ioan Cantacuzino (SCIC).

Am investigat asocierea dintre reactivările infecțiilor cu virusuri hepatitice B, C sau D apărute pe parcursul chimioterapiei și a terapiei biologice și potențiali predictorii precum: vârsta, sex, tipul de afecțiune, durata bolii, severitatea suferinței de fond, nivelul încărcăturii virale, nivelul ALAT și ASAT la momentul includerii în studiu, nivelul limfocitelor, gradul de afectare hepatică determinată prin fibromax, corelația cu decesele la acești pacienți.

Datele au fost colectate într-o bază de date Office Excel, iar prelucrarea statistică s-a realizat utilizând soft-ul *SPSS Statistic for Windows* (versiunea 22.0, IBM Corp, Armonk, New York, SUA). Valoarea  $p < 0.05$  a fost considerată semnificativ statistic.

## **Studiul 1 – Evaluarea complexă și identificarea factorilor de risc privind reactivarea infecțiilor cu virusuri hepatitice B, C și D la un lot de pacienți cu afecțiuni hematologice maligne care au primit chimioterapie și/sau terapie biologică**

Obiectivele acestui studiu au fost:

- Urmărirea evoluției infecției cu virusuri hepatitice la pacienții cu SLC care primesc terapie imunosupresoare (în special Rituximab);
- Evaluarea mecanismelor patogenice implicate în reactivarea virusurilor hepatitice la pacienții cu SLC;
- Determinarea caracteristicilor clinice și biochimice ale pacienților cu afecțiuni hematologice maligne, care au prezentat cel puțin un marker serologic pozitiv pentru infecția cu virusurile hepatitice B, C sau D;
- Determinarea caracteristicilor serologice și virusologice ale infecțiilor cu virusuri hepatitice la această categorie de pacienți;
- Monitorizarea în dinamică a titrului de anticorpi anti-HBs pe parcursul terapiei biologice și după terminarea acesteia (FW = follow up);
- Determinarea caracteristicilor evolutive și identificarea factorilor de risc pentru reactivare virală la acești pacienți;
- Determinarea riscului de deces la acești pacienți.

### **Material și metodă**

Am realizat un studiu retrospectiv și prospectiv care a cuprins 100 pacienți diagnosticați cu afecțiuni hematologice maligne în perioada decembrie 2007 – ianuarie 2018 și care au avut cel puțin 6 luni de monitorizare ulterioară (FW). Lotul a fost alcătuit din:

- Grup de 57 pacienți înrolați cu ocazia desfășurării unui grant de cercetare Nr. 1454 / 2007, câștigat de INBIMB în competiția PNCDI II din 2007. Titlul grantului a fost „*Corelarea metodelor de diagnostic privind evaluarea implicării virusurilor hepatitice în limfoproliferările cronice - prevalența infecției și identificarea unor mecanisme moleculare implicate în oncogeneză*” (acronim LIMFO-VIR). Menționez că am făcut parte din echipa de cercetare a acestui proiect și am participat în mod activ la derularea acestei cercetări multidisciplinare.

- La acest număr am adăugat ulterior alți 43 de pacienți monitorizați până în ianuarie 2018.

## Rezultate

### Caracteristicile lotului de pacienți cu SLC și infecției cu virusuri hepatitice

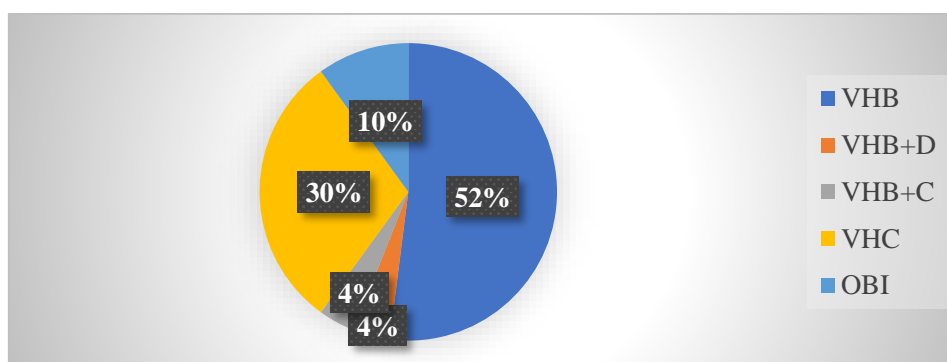
Lotul studiat a cuprins 100 pacienți cu sindroame limfoproliferative cronice (SLC) și cel puțin un marker serologic prezent pentru infecțiile cu VHB, VHC sau VHD. Pacienții au fost diagnosticați hematologic în cadrul secțiilor de hematologie ale spitalelor SUUB, SCC și Spitalul Clinic Colțea și monitorizați virusologic în INBIMB.

Din cei 100 de pacienți, 44 (44%) de cazuri au fost de sex feminin și 56 (56%) de cazuri de sex masculin. Raport M/F a fost de 1.27. Vârsta medie a pacienților a fost de  $60.32 \pm 12.09$  ani. Am observat că vârsta medie a pacienților cu SLC și infecție cu VHC a fost semnificativ mai mare decât cea a pacienților cu SLC și infecție concomitentă cu VHB (65 ani versus 58.02 ani,  $p=0.0081$ ).

În grupul pacienților cu infecție VHB a predominat sexul masculin (73%), iar în grupul celor monoinfecțați VHC au predominat femeile (73%).

### Caracteristicile serologice și virusologice ale pacienților cu SLC și infecție virală

Din punct de vedere al infecției cu virusurile hepatitice, cele 100 cazuri au fost împărțite astfel (Figura 1):



Legendă: VHB – virusul hepatitei B, VHC – virusul hepatitei C, OBI – infecție ocultă VHB

Figura 1. Distribuția în funcție de tipul de virus hepatitic implicat

Evaluând complex markerii serologici virali, am identificat prezența Ac anti-HBs în 17 cazuri. În 8 cazuri anticorpul este obținut secundar trecerii prin infecția cu VHB. Alți 9 pacienți diagnosticați cu infecție VHC au prezentat concomitent și Ac anti-HBs: în 7 cazuri Ac anti-HBs au fost obținuți post vaccinare, iar în alte 2 cazuri anticorpul anti-HBs au fost

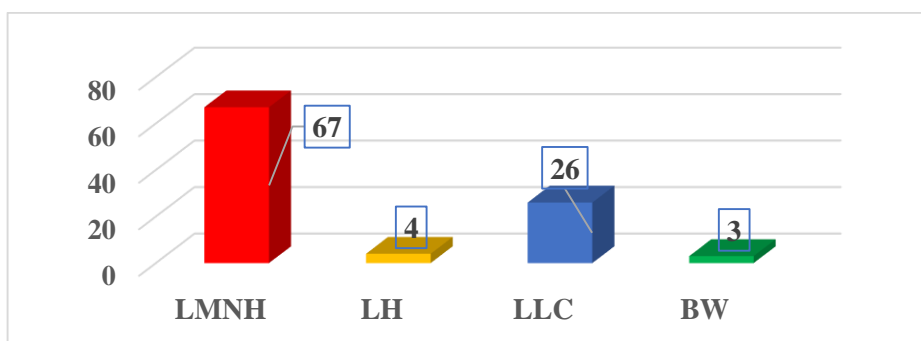
obținuți prin trecerea prin infecția VHB. Media titrului de anticorpi anti-HBs a fost de 98.46 UI/ml (minim 10.8 UI/ml, maxim 391 UI/ml).

Totodată, în grupul pacienților cu VHB, am identificat 17 cazuri cu AgHBe pozitiv, din care 9 cazuri au evoluat cu reactivarea VHB (50%). În sublotul pacienților cu AgHBe negativ, au reactivat doar 14/45 cazuri (31%), **p=0.048**. Riscul de reactivare este de aproape 2 ori mai mare pentru cei cu AgHBe pozitiv (p=0.20, OR=1.66, 95%CI: 0.764 -3.610).

Pacienților li s-a determinat nivelul încărcăturii virale, astfel că valori ale ADN-VHB > 10<sup>5</sup> copii/ml și ale ARN-VHC > 600.000 UI/ml au fost considerate înalte.

### Distribuția pacienților în funcție de tipul histologic al SLC

În lotul de studiu au predominat pacienții cu LMNH (67%), urmați de cei cu LLC (26%), LH (4%) și BW (3%) (Figura 2).



Legendă: LMNH = limfom malign non-Hodgkin, LH = limfom Hodgkin, LLC = leucemie limfatică cronică, BW = boală Waldenstrom

Figura 2. Distribuția pacienților în funcție de boala hematologică

Corelând tipul de SLC cu infecția cu virusuri hepatitice am observat că în rândul celor cu LMNH și LLC a predominat infecția cu VHB comparativ cu infecția cu VHC (**p=0.004**). Am constatat că riscul relativ privind corelația infecției VHB cu LLC a fost semnificativ statistic RR=3.766 (1.235-11.483), **p=0.0015**, 95%CI.

Momentul diagnosticării infecției virale în raport cu momentul diagnosticării SLC a fost anterior în 21 (9%) cazuri, concomitent în 45 (54%) cazuri și ulterior confirmării diagnosticului hematologic în 33 (37%) cazuri. În acest context am putut concluziona că exista un număr semnificativ de pacienți care nu își cunoșteau statusul lor serologic privind infecțiile cu virusuri hepatitice. Nu există încă un plan de screening coerent, eficient, care să fie implementat la nivel național pentru identificarea statusului serologic viral la pacienții cu afecțiuni hematologice maligne care sunt eligibili pentru tratament biologic/imunosupresor.

Din totalul pacienților, 52 cazuri au avut un tip histologic agresiv de SLC, 37 pacienți au avut un tip indolent de SLC, iar la 11 pacienți tipul histologic nu a putut fi specificat. Tipul histologic agresiv a fost frecvent întâlnit la pacienții cu VHB (64.28%) și infecție mixtă B+D comparativ cu tipul histologic indolent, care a fost mai frecvent diagnosticat la pacienții cu VHC (63,3%). Faptul că tipul agresiv de SLC a fost întâlnit mai frecvent la pacienții cu VHB (**p=0.009**) ar putea sugera că VHB ar avea un rol de marker de agresivitate a bolii la acești pacienți. Infecția cu VHB a fost mai agresivă decât infecția cu VHC, existând un RR=1.876 (1.092, 3.224) 95% CI, **p=0.0226**, z statistic=2.280.

### **Caracteristicile clinice și paraclinice ale pacienților cu infecții cu virusuri hepatitice și SLC**

Am urmărit corelațiile dintre hepatomegalie sau splenomegalie și infecția cu virusurile hepatitice. *Hepatomegalia* a fost identificată cu predominantă la pacienții cu infecție VHC (73.3%), comparativ cu cei cu markeri serologici pozitivi pentru VHB (46%). Hepatomegalia a avut un RR de 1.594 (1.101-2.307), **p=0.013**, 95% CI de a se asocia cu infecția VHC. *Splenomegalia* a fost identificată în 32 cazuri (32%). Astfel, în 14/32 cazuri (43.8%), splenomegalia a fost identificată la pacienții cu markeri pozitivi pentru VHB, comparativ cu 18/31 cazuri (56.2%) la pacienții cu VHC (**p=0.001**). Prezența splenomegaliei s-a corelat statistic cu prezența infecției cu virusuri hepatitice la pacienții cu SLC, existând un RR de corelație cu VHC de 2.61 (1.44 - 4.74), 95% CI, cu **p=0.0015**, semnificativ statistic.

Valoarea medie a *limfocitelor* (valoare absolută) a fost de  $3311.16 \pm 4086.56/\text{mmc}$ . Am urmărit să determin dacă limfopenia s-a corelat cu prezența virusurilor hepatitice. Am constatat că pacienții cu SLC și infecție VHB au asociat mai frecvent limfopenie (31.7%), în timp ce pacienții cu SLC și infecție VHC au asociat mai frecvent limfocitoza (50%) (**p=0.016**, OR=1,58). Există astfel un RR=2.38, 95% CI (1.16-4.88), z statistic=2.38, **p=0.017** (semnificativ statistic) în privința corelației dintre limfocitoză și infecția cu VHC la pacienții cu SLC. În privința corelației dintre reactivarea virală și categoriile de limfocite, reactivarea a fost identificată în 18 din cazurile care au avut numărul absolut de limfocite modificat. Din acestea, în 14 cazuri s-a constatat limfopenie, dar fără semnificație statistică (**p=0.055**, OR=1.722).

Valoarea medie a ALAT (*TGP*) la includerea în studiu a fost de 195.48 UI/ml (de 2.7 ori valoarea superioară a normalului). În grupul pacienților la care s-a diagnosticat reactivarea virală, media valorii ALAT a fost de 458.69UI/ml (de 6.36 ori valoarea

superioară a normalului) comparativ cu media ALAT = 65.83UI/ml în lotul pacienților fără reactivare virală ( $p < 0.001$ ). Valoarea medie a ASAT (*TGO*) a fost de 165.20UI/ml (de 3.17 ori valoarea superioară a normalului). În grupul pacienților cu reactivare virală, media valorilor ASAT a fost de 362.75UI/ml (de 6.9 ori valoarea superioară a normalului), comparativ cu 56.20 UI/ml în grupul pacienților fără reactivare virală, diferență care are semnificație statistică ( $p = 0.001$ ). Această creștere, care corespunde unei hepatite active secundare reactivării virale, este frecvent descrisă în literatura de specialitate. Se pare că valoarea ASAT este un predictor mai bun decât ALAT pentru activitatea necroinflamatorie și ar putea deveni un test de screening de laborator mai bun în evaluarea severității leziunii hepatice.

În ceea ce privește bilanțul imunologic, am căutat prezența *crioglobulinemiei* în lotul de studiu, care a fost identificată în 34% din cazuri (18/53 pacienți investigați). Am fost surprinsă să constat prezența crioglobulinemiei doar la 10/30 (33%) din pacienții cu SLC și infecție cu VHC. De asemenea crioglobulinele au fost decelate și la 8/70 (11.4%) din cazurile cu infecție VHB, procent mai mare decât cel citat în literatura de specialitate. Am constatat asocierea crioglobulinemiei cu hepatomegalia ( $p = 0.017$ ).

#### **Corelații cu gradul necroinflamației și fibrozei hepatice evaluate prin Fibromax**

Pacienții au fost evaluați și din punct de vedere al fibrozei, necroinflamației și steatozei hepatice cu ajutorul Fibromax. Acesta a fost efectuat la 57/100 din pacienții cu SLC și infecție cu virusuri hepatitice. Am constatat că un număr important de pacienți aveau fibroză semnificativă ce corespunde gradului F3-4 (43.9%), iar aproximativ 40% din pacienți au avut activitate necroinflamatorie importantă (A2-3). În grupul pacienților cu infecție VHC am identificat mai multe cazuri cu *fibroză* avansată (52%) față de 44% pentru VHB. Activitatea necroinflamatorie importantă (A2-3), a fost identificată într-un număr aproximativ egal în cele două loturi de pacienți cu infecție cu virusuri hepatitice (VHB și VHC).

#### **Determinarea riscului de deces la pacienții cu reactivare a infecției cu virusuri hepatitice și SLC**

În lotul de studiu, pe parcursul monitorizării, s-au înregistrat 25 decese (25%). Acestea au fost distribuite astfel: 18 în grupul pacienților cu LMNH, 5 în grupul pacienților cu LLC și câte un pacient în grupul cu LH respectiv BW. Cele mai frecvente decese au fost înregistrate la pacienții de sex feminin, la cei cu vârsta peste 50 ani (22/25 cazuri), la cei cu

forme agresive de boală (21/25 cazuri), cu infecție cu VHB (19 cazuri la VHB vs. 3 cazuri la VHC). De asemenea au fost decese în 10 (30.3%) din cazurile la care s-a înregistrat reactivare virală, indiferent de tipul de virus hepatitic care a reactivat. Riscul de deces este de 1.5 ori mai mare la pacienții cu SLC și infecții cu virusuri hepatitice care au reactivat ( $p=0.267$ ,  $OR= 1.507$ ). Numărul deceselor înregistrate în grupul pacienților cu infecție VHB a fost semnificativ statistic mai mare ( $p=0.024$ ) față de cel înregistrat în grupul pacienților cu infecție VHC, riscul de deces fiind de aproximativ 4 ori mai mare ( $OR=3.97$ ) în acest grup de pacienți. Menționez faptul că un număr de 23 (92%) din decese s-au datorat agravării suferinței hematologice din care în 18 cazuri am decelat viremii VHB sau VHC înalte. Doar în 2 (8%) cazuri, decesul a fost cauzat de infecția cu virus hepatitic C, respectiv VHB reactivat. Riscul de deces este semnificativ mai mare la pacienții cu viremii mari,  $p=0.049$ ,  $OR=1.450$  (1.044-2.041).

### Reactivarea virală la pacienții cu SLC

Din totalul pacienților, în 33/100 (33%) cazuri s-a decelat reactivarea virusologică, obiectivată prin creșterea valorilor încărcăturii virale VHB sau VHC. Reactivarea virală a fost identificată în 23/62 (37.1%) din pacienții cu infecție cu VHB, în alte 2 cazuri cu virus D replicativ și la 8/30 (26.7%) din pacienții cu infecție cu VHC ( $p=0.226$ ,  $OR=1.16$  pentru VHB, respectiv 0.716 pentru VHC). Riscul relativ de reactivare a cazurilor cu VHB (pacienți cu AgHBs pozitiv sau negativ, dar cu anti-HBc pozitiv) nu a fost semnificativ statistic comparativ cu riscul relativ de reactivare a infecției VHC,  $RR=1.3911$  (0.707-2.735),  $p=0.338$ , 95% CI. În privința riscului de reactivare corelat cu vârsta pacientului, am constatat că pacienții mai în vârstă au avut un risc mai mare de reactivare virală (64.15 versus 58.43 ani), astfel la aceștia, frecvența reactivărilor a fost semnificativ mai mare ( $p=0.033$ , calculat prin testul neparametric Wilcoxon) (Figura 3).

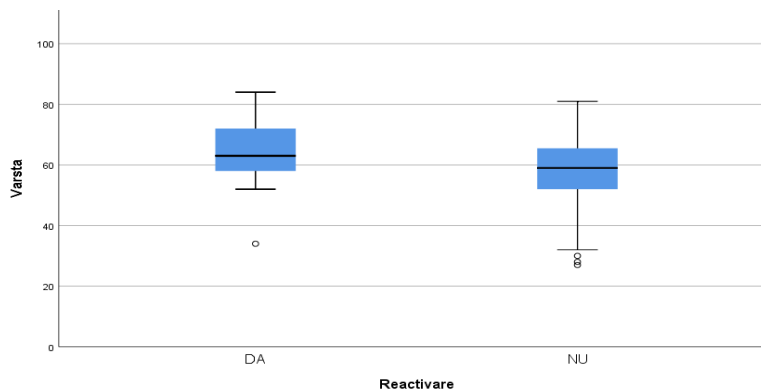




Figura 3. Distribuția cazurilor în funcție de vârsta și riscul de reactivare virală la pacienții cu SLC

Doar 20/48 (41.66%) pacienți cu forme agresive au asociat reactivarea virală, comparativ cu 8/40 (20%) din cazurile cu forme indolente. Această corelație este semnificativă statistic ( $p=0.025$ ), formele agresive de SLC având un risc de aproximativ 3 ori mai mare de a determina reactivare virală, față de formele indolente ( $OR=2.857$ ). În privința corelației temporale între momentul diagnosticării afecțiunii hematologice și celei hepatice, durata medie în luni a fost de 10.86 luni ( $SD=19.875$  luni) cu o minimă de 1 lună și o maximă de 120 luni. Din totalul pacienților la care s-a decelat reactivarea virală, doar 10 cazuri au decedat. Am observat că aproximativ un sfert din pacienții cu VHC au dezvoltat reactivarea virală (Figura 4), în timp ce doar o treime din grupul celor cu monoinfecție VHB au prezentat reactivare virală.

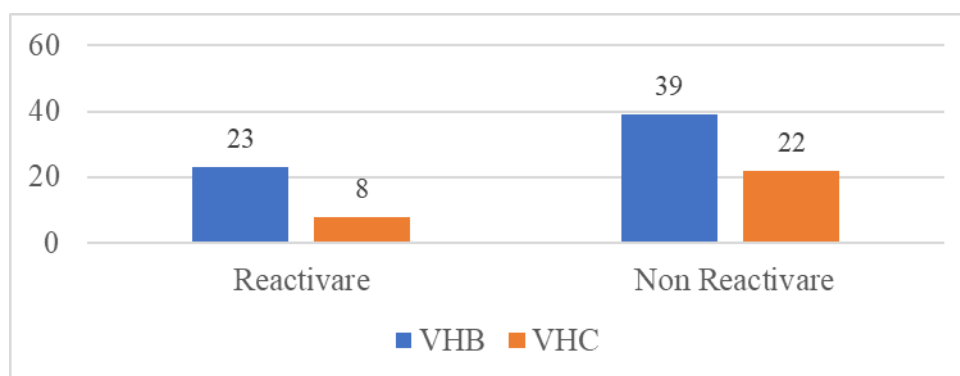


Figura 4. Distribuția reactivărilor virale în funcție de tipul de virus hepatitic care a reactivat

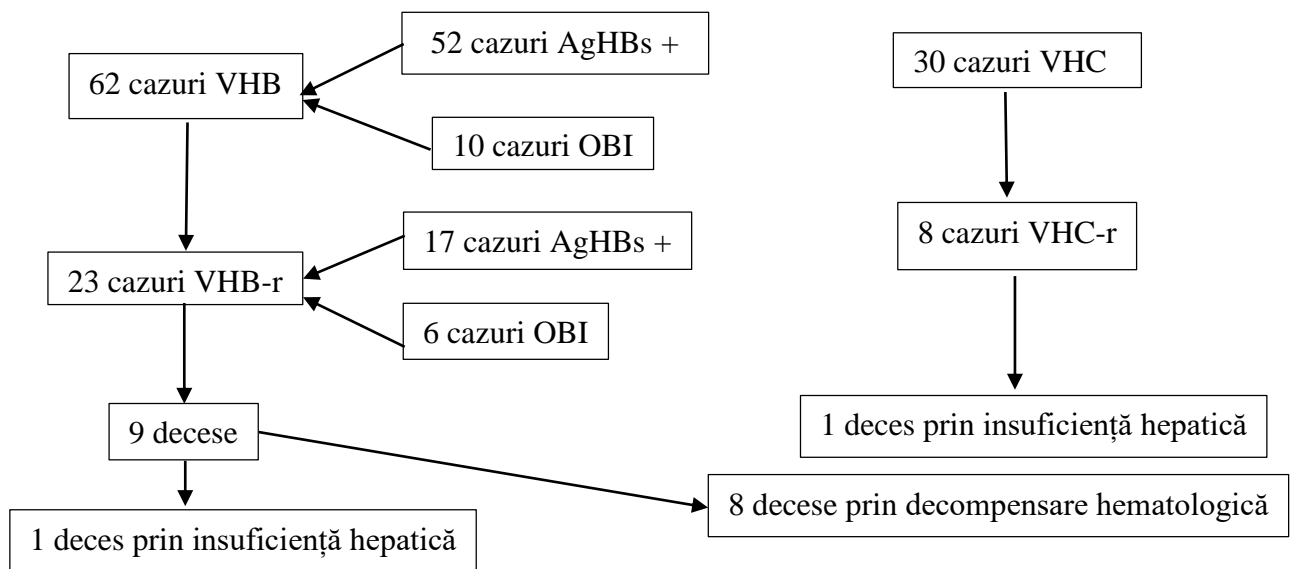
Pe parcursul monitorizării pacienților, la 45 % din pacienții cu VHB (28/62 cazuri) și 50 % (15/30 cazuri) din pacienții cu VHC s-au decelat viremii înalte. Reactivarea virală a fost diagnosticată în 26 din cazurile cu viremii mari ( $ADN-VHB > 10^5$  copii/ml,  $ARN-VHC = 600.000$  UI/ml)  $p=0.001$ ,  $OR= 1.820$  (1.313-2.523).

#### Particularitățile pacienților cu reactivare virală VHB și VHC

Grupul pacienților cu cel puțin un marker serologic pozitiv pentru VHB (62 cazuri) la care am diagnosticat reactivarea virală, a fost împărțit astfel:

- Reactivarea virală cu VHB a apărut la 6 din cele 10 cazuri cu infecție ocultă VHB (OBI), am remarcat că 4 din acești pacienți aveau chiar AchBs în titru aparent protector (conform CDC  $\geq 10mUI/ml$ ).
- Reactivarea virală cu VHB s-a produs la 17/52 (32.6%) din pacienții cu AgHBs pozitiv.

Am remarcat faptul că din totalul celor 62 de pacienți cu cel puțin un marker serologic pozitiv pentru VHB care au primit terapie imunosupresoare/biologică, numai 6 (10%) au primit tratament profilactic cu Lamivudină 100 mg/zi, cu o durată medie de administrare de 18 luni. Din cele 6 cazuri, au dezvoltat VHB-r doar 5 pacienți, datorită faptului că Lamivudina are profil de rezistență joasă, astfel că nu asigură o protecție eficientă asupra riscului reactivării virale. Din totalul celor 30 cazuri cunoscute cu infecție VHC care au primit terapie biologică, numai la 3 pacienți s-a administrat terapie antivirală profilactică cu Interferon alfa 2 b. Am reprezentat schematic în Figura 5 tipurile de infecție virală decelate în lotul de studiu:



Legendă: VHB = virusul hepatitei B, OBI = infecție ocultă cu virusul hepatitei B, AgHBs = antigen de suprafață VHB, VHC = virusul hepatitei C, VHB-r = reactivarea infecției cu VHB, VHC-r = reactivarea infecției cu VHC, If Hepatică = insuficiență hepatică

Figura 5. Distribuția schematică a pacienților din lotul de studiu în funcție de tipul de virusuri hepatitice asociate

Au fost diagnosticate mai multe cazuri de reactivare virală în grupul pacienților cu VHB (VHB-r) comparativ cu cei din grupul VHC ( $p=0.226$ ,  $OR=1.622$ ).

Pacienții cu SLC și infecție VHB care au reactivat au avut media de vârstă peste 60 ani, comparativ cu cei cu infecție VHB fără reactivare virală, a căror medie de vârstă a fost de 54.56 ani ( $p=0.008$ ). Pacienții cu SLC și infecție VHB reactivată au o medie a numărului absolut de limfocite mai mică comparativ cu cei fără reactivare VHB ( $p=0.040$ ). În ceea ce privește pacienții cu SLC și infecție VHC, media numărului de limfocite în grupul

pacienților cu reactivare virală a fost mai mică comparativ cu cea a pacienților fără reactivare virală VHC, dar fără semnificație statistică ( $p=0.205$ ).

Momentul reactivării virale VHB a fost variabil, el fiind identificat în majoritatea cazurilor în timpul terapiei imunosupresoare, iar în două cazuri la 3 luni după oprirea Rituximab-ului, respectiv 6 luni după oprirea Ibrutinib-ului. Am identificat două situații în care reactivarea virală VHB a fost depistată la 2 luni după inițierea curei de tratament cu Rituximab, probabil datorită afecțiunii hematologice intens imunosupresantă, care a impus inițierea de urgență a terapiei onco-hematologice. Cu toate acestea am remarcat că screening-ul virusologic complet nu a fost făcut de la momentul luării în evidență a pacienților, fiind inițiat după decelarea modificărilor paraclinice de afectare hepatică. În privința infecției cu VHC, nu s-a înregistrat o reactivare semnificativă statistic în grupul pacienților care au primit Rituximab asociat altor imunosupresoare comparativ cu cei fără Rituximab în schema de tratament sau care nu au primit nici un tratament onco- hematologic ( $p=0.304$ ).

În grupul pacienților cu infecție VHB care au reactivat, 17 cazuri au primit Rituximab în asociere cu CHOP sau alte imunosupresoare și 6 pacienți au primit alte terapii specifice SLC. Numărul total de pacienți cu infecție VHB care au primit Rituximab a fost de 32. Dintre aceștia în 15 cazuri nu s-a înregistrat reactivare virală. Această diferență este semnificativă statistic ( $p=0.039$ ) ceea ce ne sugerează că tratamentul cu Rituximab poate să fie un factor de risc pentru reactivarea virală.

În privința celor 10 pacienți cu infecție cu VHB și AgHBs negativ (OBI), în 5/10 cazuri au fost identificați concomitent și Ac antiHBs. Un caz a fost diagnosticat înainte de inițierea terapiei imunosupresoare (TIS), iar celelalte 9 cazuri au fost diagnosticate concomitent/ulterior diagnosticării afecțiunii hematologice și inițierii TIS.

Profilaxia reactivării VHB a fost inițiată în 3/10 cazuri OBI, pacienții primind Lamivudină 100mg/zi. Din cei 10 pacienți cu OBI, în 6 cazuri (60%) s-a produs reactivarea virusologică VHB: 2 cazuri de OBI-r chiar în grupul pacienților care au primit profilaxia reactivării virale și 4 cazuri de reactivare în grupul fără profilaxie antivirală. Reactivările din grupul pacienților care au primit profilaxie s-au datorat:

- 2 cazuri s-au dovedit a fi de fapt o reactivare a VHD
- 1 caz s-a datorat opririi din proprie inițiativă a tratamentului antiviral cu LMV de către pacient după 2 ani de la inițierea acestuia.

Identificând reactivarea virală doar în 6 din 10 cazuri OBI, riscul relativ a fost la limita semnificației statistice:  $RR=1.835$  (0.968-3.476),  $p=0.0625$ , 95%CI. La pacienții cu OBI,

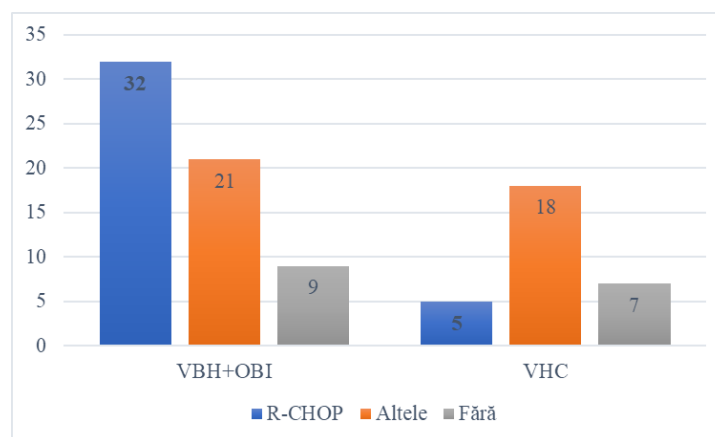
cazurile de boală hematologică agresivă au fost mai frecvente decât în cazul infecției cronice VHB.

Deși riscul relativ de deces (RR=1.857) nu a fost semnificativ statistic (p=0.112), 5 pacienți cu OBI din 10 (50%) au decedat, comparativ cu pacienții cu infecție VHB la care proporția deceselor este mai mică decât în cazul infecției OBI (14/52 pacienți= 26.9%).

Reactivările virale s-au produs:

- la toți pacienții care au primit corticoterapie și agenți alchilanți pentru SLC,
- la 21/31 (67.74 %) de pacienți care primeau antraciclilinele în schema terapeutică,
- la 22/40 (55 %) pacienți care primeau Rituximab singur sau în asocieri.

Am redat în Figura 6 distribuția pacienților în funcție de tipul de infecție cu virusuri hepatice asociate SLC și tipul de terapie onco-hematologică utilizată la pacienții incluși în studiu.

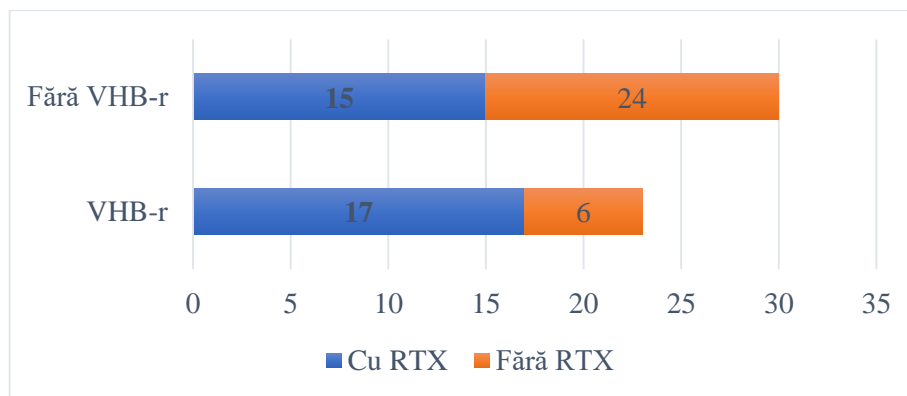


Legendă: VHB – virusul hepatitei B, VHC – virusul hepatitei C, R-CHOP – rituximab, ciclofosfamidă, hidroxidaunorubicină, vincristină, prednison

Figura 6. Distribuția pacienților în funcție de tipul de tratament imunosupresor folosit în tratarea SLC

Am urmărit corelarea reactivării virale atât VHB cât și VHC cu administrarea de Rituximab (Figura 7). Din grupul de 33 pacienți care au prezentat reactivare am observat că aceasta a fost semnificativ statistic mai mare (**p=0.005**), în grupul celor care au primit Rituximab, existând un RR = 2.255 (1.228-4.139), 95%CI, **p=0.008**.

Am observat că numai 5/23 pacienți (21.7%) cu VHB-r au primit profilaxia reactivării virale. Dintre aceștia, 2 pacienți au fost confirmați cu AgHBs pozitiv, 1 pacient cu OBI și 2 pacienți cu infecție ocultă VHD. Durata medie de tratament antiviral a fost de 13 luni, cu o minimă de 8 luni și o maximă de 24 luni.



Legendă: VHB-r – reactivarea VHB, RTX – Rituximab

Figura 7. Riscul de reactivare virală VHB în funcție de prezența/absența Rituximab în schema terapeutică

Rituximabul a crescut riscul de reactivare VHB de **3 ori** comparativ cu riscul de reactivare diagnosticat la pacienții fără Rituximab în schema de tratament hematologic.

Toți cei 23 pacienți diagnosticați cu VHB-r au primit terapia antivirală în scop curativ cu Entecavir 0,5mg/zi, cu evoluție favorabilă din punct de vedere biochimic, hepatic și virusologic.

La pacienții cu infecție VHC care au primit Rituximab am constatat reactivarea virală în 4/7 (57.1%) cazuri ( $p=0.578$ ).

## **Analiza imunofenotipică asupra unui lot de pacienți cu SLC și infecție cu virusuri hepatitice B și C aflați în TIS**

### **Obiectivele studiului**

Obiectivele acestui studiu au cuprins pe lângă obiectivele generale prezentate anterior și:

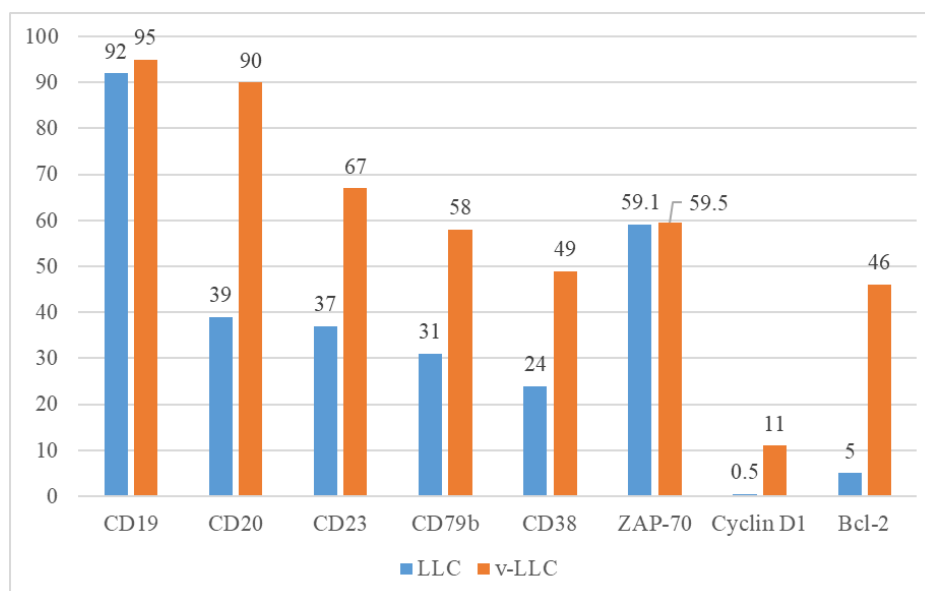
- Corelarea markerilor imunofenotipici cu infecția cu virusuri hepatitice B și C.
- Analiza statistică a modificărilor clinice și paraclinice (hematologice).

### **Rezultate**

În perioada 2007 – 2010 au fost diagnosticați în cadrul SUUB, în Clinica de Hematologie, un total de 502 pacienți cu SLC, din care am selectat 57 cazuri care asociau infecție cu virusuri hepatitice. În acest context, se evidențiază o prevalență a infecției cu virusuri hepatitice la acești pacienți de 11.3%. Prezența virusului B a fost depistată la 5.37%

din pacienți, prezența VHC la 6.57% dintre pacienți, cu mențiunea că s-au depistat și co-infecții la 1.19% dintre subiecții investigați. Am observat că din momentul diagnosticării infecției cu virus hepatitic, debutul SLC a fost mai rapid în cazul pacienților infectați cu VHB (în medie 4.3 ani), față de pacienții cu VHC (în medie 6.6 ani) dar fără semnificație statistică ( $p=0.07$ ).

Din totalul pacienților cu SLC prezentați succesiv la SUUB și care au asociat infecție cu virusuri hepatitice, 28 (49.12%) cazuri au fost diagnosticați cu LLC (v-LLC), fiind comparat cu un grup de pacienți cu LLC fără infecție virală hepatitică (LLC). Cuantificarea expresiilor markerilor specifici a fost determinată ca și intensitate medie a fluorescenței (MFI) și s-au comparat valorile medii ale acestora în cele două loturi de LLC (Figura 8). Pacienții au fost monitorizați serologic în INBIMB pe toată durata desfășurării grantului de cercetare, cât și ulterior până în 2018.



Legenda: LLC = leucemie limfatică cronică, v-LLC = leucemie limfatică cronică corelată cu virusuri hepatitice  
 Figura 8. Markerii imunofenotipici studiați

La acești pacienți a fost decelată o expresie crescută a CD19, CD20 și CD79b, ceea ce sugerează un fenotip atipic al v-LLC. De asemenea, am identificat nivele ridicate ale expresiei Bcl-2 și cyclin D1. Această expresie crescută a markerilor de prognostic a LLC, demonstrează rezistența la tratamentul oncohematologic al pacienților cu SLC care asociază infecții cu virusuri hepatitice. Markerul surrogat ZAP 70 pentru riscul de progresie a LLC nu a fost modificat, astfel încât infecția cu virusuri hepatitice B sau C nu reprezintă un risc crescut de progresie a SLC. Pot concluziona că este nevoie de alegerea unor imunosupresoare mai agresive, care să învingă rezistența potențială a SLC asociate cu

infecții virale hepatitice. Aceasta situație impune o monitorizare extrem de atentă a pacienților cu infecții cu VHB, VHC sau VHD precum și inițierea la timp a unui tratament antiviral eficient.

## **Studiul 2 – Monitorizarea în dinamică a unui lot de pacienți cu afecțiuni reumatologice care asociau cel puțin un marker serologic al infecției cu VHB și care au necesitat terapie biologică**

Obiectivele acestui studiu au fost:

1. Determinarea particularităților clinice și epidemiologice ale pacienților cu afecțiuni reumatice care necesită terapie specifică, inclusiv biologică.
2. Determinarea caracteristicilor serologice și virusologice ale infecției cu VHB la pacienții cu afecțiuni reumatologice.
3. Determinarea riscului de reactivare a infecțiilor cu VHB sub tratament reumatologic
4. Dinamica serologică a titrului de anticorpi antiHBs sub tratament reumatologic.
5. Rolul terapiei antivirale în controlul reactivării infecției virale VHB.

### **Rezultate**

Studiul a inclus 39 de pacienți cu afecțiuni reumatologice în tratament cu agenți biologici și/sau Metotrexat. Lotul a fost format din 21 femei (53.8%) și 18 bărbați (46.1%), având media de vârstă de 54.12 ani (minim 27, maxim 80). În privința corelației între vârstă și sexul pacienților, am constatat că în intervalele de vârstă 50-59 ani, respectiv 60-69 ani s-au înregistrat cei mai mulți pacienți, predominând sexul feminin.

Lotul de studiu a cuprins 23 (59%) pacienți cu poliartrită reumatoidă, 5 (12.8%) cazuri cu artrită psoriazică, 2 cazuri (5.1%) cu lupus eritematos sistemic, 8 (20.5%) cazuri cu spondilită anchilozantă. și 1 caz (2.5%) cu sindrom Sjogren. Vârsta pacienților s-a corelat cu diagnosticul afecțiunii reumatologice (**p=0.04**), cei mai mulți pacienți au fost diagnosticați cu PR și au aparținut grupei de vârstă 50-60 ani .

Din lotul studiat, 18 (46.15%) pacienți au primit tratament cu Infliximab, 5 (12.82%) au primit Etanercept, 11 (28.20%) au primit Rituximab și câte 1 caz (2.56%) au primit Adalimumab, respectiv Certolizumab. Din totalul de pacienți, 27 (69.23%) au fost tratați în APP cu Metotrexat, iar 2 (5.12%) pacienți primiseră tratament cu Salazopirină în perioada anterioară inițierii sau concomitent cu tratamentul biologic.

În ceea ce privește numărul de produse primite de pacienți, 18 cazuri au primit un singur produs terapeutic, 17 cazuri au primit 2 produse în asociere, iar în alte 4 cazuri au fost administrate scheme de tratament care au cuprins mai mult de 3 produse.

Toți pacienții au prezentat infecție cu VHB, având cel puțin un marker serologic pozitiv doar pentru infecția cu virusul hepatitei B. Nici unul din pacienții lotului studiat nu a avut markeri serologici pozitivi pentru infecția cu VHD sau VHC. Unii pacienți au fost screenați pentru VHB după stabilirea diagnosticului de boală reumatică, sau chiar după inițierea tratamentului biologic/imunosupresor, în momentul decelării unui sindrom hepatocitolic. Pacienților li se efectuase doar determinarea de AgHBs, fără extinderea bilanțului serologic care ar fi putut identifica statusul real al infecției VHB.

Screening-ul serologic VHB efectuat la momentul luării în evidență în INBIMB (Tabelul 3.1) a identificat: AgHBs pozitiv în 33 (84.61%) cazuri, iar în 6 (15.38%) cazuri AgHBs negativ, Ac anti-HBc pozitiv, ce corespunde definiției de infecție ocultă VHB (OBI). Din acești 6 pacienți: un caz prezenta Ac antiHBs pozitiv în valoare de 50 mUI/ml, iar ceilalți 5 pacienți aveau Ac anti-HBs negativi. În privința anticorpilor anti-HBc totali, în 3 cazuri aceștia au fost decelați pozitivi, existând astfel dovada trecerii prin infecția VHB.

Din totalul pacienților incluși în studiu, în 4 cazuri Ac anti-HBc totali au fost negativi, iar în alte 2 cazuri nu au fost determinați la momentul diagnosticului afecțiunii reumatologice.

**Tabelul V. Caracteristicile serologice ale infecției cu VHB în lotul de studiu**

	Pozitiv n/N (%)	Negativ n/N (%)
AgHBs	33/39 (84.6%)	6/33(15.3%)
AcHBc	33/39 (84.6%)	4/39 (10.3%); 2 cazuri ND
AcHBs	4/39 (10.3%)	35/39 (89.7%)
AgHBe	3/39 (7.7%)	36/39 (93.3%)

Legendă: ND = not done

Au fost înregistrate și situații particulare de evoluție serologică, astfel încât în 3 situații au fost decelate concomitent AgHBs și Ac antiHBs în titru aparent protector >10 mUI/ml (7390 mUI/ml, 195.67 mUI/ml respectiv 374.96 mUI/ml). Valoarea medie a viremiei VHB la momentul diagnosticului reumatologic în lotul nostru a fost de 52.399 UI/ml, aceasta fiind extrasă din buletinele de analiză.

Din totalul pacienților incluși în studiu, 10 (25.6%) au îndeplinit criteriile definiției de reactivare VHB comparativ cu 29 cazuri în care nu s-a decelat reactivarea VHB (**p=0.000**,



Chi (1)=0.000). Perioada de timp dintre momentul diagnosticului suferinței reumatismale și cea hepatică a avut o mediană de 12 luni (minim 1 lună, maxim 144 luni, IQR 35). Timpul scurs între momentul diagnosticului afecțiunii reumatismale și inițierea tratamentului specific antireumatic a avut o mediană de 1 lună (IQR 11 luni), iar intervalul mediu de timp cuprins între momentul inițierii tratamentului specific și reactivarea virală VHB a fost de 25.7 luni (**p=0.024**, t=1.648, CI95% -5.658-47.547).

Tratamentele imunosupresoare administrate în monoterapie sau în asociere s-au asociat cu reactivarea virală într-o proporție semnificativă statistic (**p=0.037**). Asocierile medicamentelor imunosupresoare/biologice la DMARDs (disease-modifying antirheumatic drugs) convenționale (Metotrexat) s-au însoțit de reactivarea VHB în 9 cazuri, valoare de asemenea semnificativ statistic, (**p=0.003**, t=1.017, CI 95%:-0.301-0.907).

Reactivarea VHB s-a asociat în majoritatea cazurilor (60%) cu administrarea unui singur produs biologic. Cele mai multe cazuri de reactivare VHB au fost înregistrate la pacienții cu poliartrită reumatoidă, în special la cei cu vârsta cuprinsă între 60-69 ani.

Riscul de reactivare VHB în lotul de studiu s-a corelat cu vârsta (**p=0.01**), dar nu s-a corelat cu sexul pacienților (p=0.53, OR=0.813). În privința corelației dintre reactivarea VHB și sex, vârsta sau numărul de produse utilizate pentru tratamentul afecțiunii reumatologice, am constatat un  $R^2 = 0.30$ , care este semnificativ statistic utilizând testul Anova (**p=0.01**). Din totalul celor 39 de pacienți incluși în studiu s-au înregistrat doar 2 (5.1%) decese datorate altor patologii (sepsis sever într-un caz, respectiv infarct miocardic în alt caz). Sub terapia antivirală cu Entecavir 0.5 mg/zi, evoluția pacienților a fost favorabilă, cu normalizarea rapidă a valorilor transaminazelor și cu negativarea viremiei VHB. În 8 cazuri s-a decelat negativarea AgHBs, iar în 5 cazuri s-a constatat apariția AcHBs în titru protector cu o medie de 590 m UI/ml. Toți pacienții au evoluat favorabil sub tratament antiviral, într-un caz înregistrându-se seroconversia HBs cu apariția de AcHBs în titru protector (250 mUI/ml).

Din cauza faptului că numărul pacienților este mic și aceștia au primit tratamente diferite am realizat un studiu descriptiv al pacienților cu profil serologic VHB cu AgHBs negativ. Această situație face foarte grea obținerea unor rezultate relevante, deschizătoare de perspective medicale. Din acest motiv doresc să aprofundez cercetarea pe acest tip de profil serologic VHB la pacienții cu afecțiuni reumatologice care primesc diferite tipuri de tratament imunosupresor/biologic.

## Discuții

Am dorit ca rezultatul acestei teze să contribuie la optimizarea diagnosticării și managementului infecțiilor cu virusuri hepatitice B, C și D la pacienții cu limfoproliferări cronice și afecțiuni reumatismale aflați sub terapie biologică/imunosupresoare.

Tuturor acestor pacienți trebuie să li se efectueze la momentul diagnosticului suferinței de fond, un screening virusologic complet pentru VHB, VHC și VHD.

În lotul de pacienți cu SLC și infecție cu virusul hepatitic B, cea mai frecventă formă de infecție a fost cea cu AgHBs pozitiv (83.87%), urmată de pacienții cu infecții oculte VHB (16.12%). Diagnosticarea tardivă a acestor infecții, după ce pacienții au primit terapie biologică, precum și procentul mare de pacienți cu infecție ocultă care au reactivat, se datorează faptului că screening-ul infecțiilor cu virusuri hepatitice încă nu este o rutină în practica medicală din țara noastră. În situațiile în care acesta a fost efectuat, deseori el nu a fost complet și s-a limitat numai la cercetarea AgHBs. Un screening complet pentru VHB trebuie să conțină determinarea AgHBs, Ac anti-HBs și Ac anti-HBc totali. În acest context, un screening incomplet, limitat numai la AgHBs nu arată situația reală din România în ceea ce privește prevalența ridicată pentru infecția cu VHB (27.9% din populație are Ac anti-HBs pozitivi, iar 4.2% este purtătoare de AgHBs conform INSP 2013 [1]).

În studiile internaționale [2,3] s-a observat că screening-ul virusologic pentru infecția VHB a fost efectuat în procente cuprinse între 36.6 și 43% la pacienții cu afecțiuni hematologice maligne aflați în tratament imuno-chimioterapic, iar reactivarea virală a fost depistată în 50% din cazurile fără profilaxie antivirală.

În situația în care pacienții sunt identificați cu AgHBs + /AcHBc + sau AgHBs negativ/AcHBc + cu / fără AcHBs+ trebuie să li se recomande determinarea viremiei VHB și nu în ultimul rând markerii serologici pentru VHD (antiVHD IgG și Ag VHD). În lotul cercetării doctorale am identificat cel puțin un caz cu profil serologic și virusologic compatibil cu infecție ocultă VHD, infecție care a reactivat sub terapia biologică cu Rituximab. Reactivarea VHD este o entitate puțin cunoscută și puțin descrisă în literatura de specialitate.

Profilaxia reactivării virale a fost recomandată în doar 6 din cazurile aflate în studiu: 3 cazuri cu OBI (unul chiar cu AcHBs pozitiv) și 3 cazuri cu AgHBs pozitiv.

Ghidurile internaționale [4,5] recomandă profilaxia reactivării virale VHB tuturor pacienților cu AgHBs pozitiv care vor primi tratament imunosupresor/biologic indiferent de valoarea viremiei VHB [6]. Pacienții cu AgHBs negativ și anti-HBc pozitiv necesită

profilaxie anti-VHB dacă sunt viremici, sau în cazul celor aviremici, la momentul administrării tratamentului imunosupresor dacă au risc crescut de reactivare VHB >10% (în special în cazul utilizării Rituximab). Profilaxia trebuie continuată încă 18 luni de la oprirea tratamentului specific, iar apoi pacientul trebuie monitorizat virusologic încă 12 luni. Pentru pacienții cu risc de reactivare 1-10%, cât și pentru cei cu risc sub 1%, se recomandă monitorizarea AgHBs și/sau ADN-VHB la fiecare 1-3 luni în timpul și după finalizarea tratamentului imunosupresor. În funcție de evoluție se aplică metoda terapiei antivirale preemptivă (tratament inițiat în cazul seroreversiei HBs și/sau pozitivității ADN VHB).

În grupul total al pacienților cu infecție VHB din lotul de studiu al cercetării doctorale am constatat o rată a reactivării VHB de 37.1% (23/62 cazuri).

Reactivarea virală la pacienții cu AgHBs pozitiv a survenit în 32.6% (17/52) cazuri, iar reactivarea în grupul OBI a fost identificată în 60% din cazuri (6/10 pacienți).

Datele din studiul de față corespund cu cele din literatura de specialitate în ceea ce privește reactivarea virală la pacienții cu AgHBs pozitiv.

În cazul grupului de pacienți diagnosticați cu infecție ocultă reactivată, rezultatele obținute în studiul de față (66.66%) sunt mult mai mari față de cele raportate în literatura de specialitate, în condițiile unui lot mic. După unele studii, aceste procente sunt cuprinse între 2.7 -14.2% [7], ajungând până la 45% în cazurile cu OBI tratate cu Rituximab [8]. Valoarea procentuală trebuie privită cu prudență, ținând cont de dimensiunea mică a grupului de pacienți [9,10]. Cu toate acestea, consider că introducerea în protocolul de screening a determinării titrului de Ac anti-HBs este importantă. Monitorizarea acestui titru ar fi utilă pentru determinarea inițierii profilaxiei antivirale la pacienții cu OBI seronegativi sau seropozitiv. Perrillo et al. consideră că prezența Ac anti-HBs pozitivi conferă o reducere a riscului de reactivare virală mult prea mică, situație care reiese și din cercetarea mea doctorală [11].

Studiile au arătat că riscul de reactivare OBI este corelat cu sexul masculin, vârsta înaintată și nu în ultimul rând cu absența, sau scăderea în timp a titrului de Ac anti-HBs sub terapia imunosupresoare [12] situație descrisă și în lotul meu de studiu. Mai mult de jumătate din cazuri au fost de sex masculin având media de vârstă de 62.5 ani.

Testarea anti-VHD nu este utilizată de rutină în practica medicală curentă la pacienții cu VHB, deși prevalența mare a infecției VHD în România este binecunoscută. Pentru VHD se recomandă identificarea anticorpilor anti-VHD IgG. Un test pozitiv obligă și la determinarea viremiei VHD. În literatură există puține relatări ale reactivării VHD la pacienții cu LMNH aflați sub tratament biologic [13].

În studiul de față, riscul de reactivare virală l-au avut în special pacienții care au primit tratament cu Rituximab, atât în lotul cu AgHBs pozitiv, cât și în grupul OBI [14].

Tratamentul reactivărilor VHB a fost inițiat cu Entecavir în doză de 0.5 mg/zi. Ghidurile internaționale recomandă la acest moment tratament antiviral cu molecule noi de analogi nucleos(t)idici (NUC), de generația a treia, care să aibă acțiune antivirală puternică și barieră genetică înaltă. Astfel, schemele de tratament de primă intenție recomandate de majoritatea ghidurilor internaționale cuprind Entecavirul sau Tenofovirul.

Toți pacienții au avut evoluție favorabilă din punct de vedere virusologic și biochimic.

Reactivarea virală, în special a VHB, nu este o entitate rară, care poate fi ignorată. Repercusiunile ei pot fi importante, antrenând o evoluție severă a afecțiunii hepatice, mergând până la deces prin insuficiență hepatică corelată cu reactivarea VHB, după unii autori riscul fiind de 16% [15]. Nu este de neglijat nici riscul de agravare a bolii hematologice soldat cu deces, datorat întreruperii premature sau întârzierii inițierii terapiei imunosupresoare salvatoare [10,12].

În lotul meu de pacienți diagnosticați cu reactivare VHB au predominat cei de sex masculin cu vârsta medie de 64.15 ani ( $p=0.03$ ). Factorii de risc pentru reactivarea virală au fost de asemenea: AgHBe pozitiv (50% din cazuri),  $p=0.156$ , OR=1.909, pacienții cu LMNH urmat de cei cu LLC ( $p=0.225$ , OR=0.623), dar fără semnificație statistică. Formele agresive de SLC au avut un risc de 3 ori mai mare de a dezvolta reactivare virală (indiferent de infecția virală care reactivează) comparativ cu formele indolente ( $p=0.025$ ). Utilizarea în schemele terapeutice a Rituximabului a determinat un risc de 2.2 ori mai mare de reactivare a VHB ( $p=0.039$ ).

În lotul de studiu am identificat un număr mai mic, de doar 30 (30%) de pacienți cu monoinfecție VHC, comparativ cu cei cu infecție VHB. Într-un studiu publicat în 2016, o echipă medicală din Cluj a evidențiat o prevalență a infecției cu VHC de 11.7% la pacienții cu LMNH, care este inferioară prevalenței identificate în cercetarea doctorală de față (37.3%) [16].

Numărul mai mare de infecții cu VHC corelat cu SLC la sexul feminin se datorează caracteristicilor epidemiologice ale României, unde principala cale de transmitere a VHC a fost legată de transfuziile sanguine, comparativ cu cea din Europa de Vest și America, unde calea de transmitere era cea prin administrare de droguri pe cale intravenoasă. Implicit, în țara noastră sexul cel mai expus la infectarea iatrogenă a fost cel feminin [1].

Forma histologică de SLC cea mai frecvent corelată cu VHC a fost cea indolentă, situație similară cu cea relatată de Arcaini et al. [18], deși sunt alte studii în care forma agresivă este mai frecvent corelată cu infecția VHC [19].

Reactivarea infecției VHC în lotul studiat a fost identificată la 8 (26.66%) pacienți din cei 30 diagnosticați cu VHC. Acest procent este similar cu cel relatat de unii autori.

Splenomegalia a fost mai frecvent depistată la pacienții cu infecție VHC comparativ cu cei infectați cu VHB. Numărul cazurilor depistate cu hepatomegalie a fost mai mic în lotul infectat cu VHC comparativ cu VHB.

În lotul meu, reactivarea VHC a fost mai frecventă la pacienții cu media de vârstă de 67 ani și de sex feminin. În alte studii reactivarea a fost mai frecventă la bărbații cu vârste mai tinere, cu o medie a vârstei de 55 ani. Cele mai frecvente cazuri au fost înregistrate la pacienții cu LMNH, în special în formele agresive. Aceste caracteristici se regăsesc și în literatura de specialitate. Reactivarea virală a fost identificată după o medie de 7 cicluri de tratament imunosupresor. Șapte din cei 8 pacienți cu infecție VHC reactivat au primit Rituximab în schema de tratament utilizată. Rituximab-ul determină, se pare, 48% din cazurile de afectare hepatică [20].

Media viremiei VHC la momentul diagnosticului reactivării virale a fost 1.139.862 UI/ml ( $1.13 \log_{10}$  UI/ml), ceea ce reprezintă o valoare relativ mică a încărcăturii virale. Aceste valori mici sunt în concordanță cu cele observate și descrise și în alte studii, în care se specifică în plus faptul că valoarea medie mică a ARN VHC la debutul TIS este considerată chiar un predictor de reactivare virală (media IQR  $5.9 \log_{10}$  UI/ml versus  $6.6 \log_{10}$  UI/ml pentru pacienții care nu au dezvoltat reactivare VHC).

În studiul de față durata cuprinsă între momentul diagnosticului afecțiunii hematologice până la diagnosticarea infecției virale a fost în medie de 3 ani (minim 1 an, maxim 10 ani). În opinia mea, unele din aceste intervale au fost deosebit de lungi, această situație putând afecta profund calitatea vieții, motiv pentru care insist asupra screening-ului riguros și la timp al acestor pacienți.

În cadrul grupului de 30 pacienți cu infecție VHC am identificat și 9 cazuri care au asociat infecție ocultă VHB, cu markeri serologici pozitivi pentru Ac anti-HBc, dar cu AgHBs negativ. Dintre aceștia, 7 pacienți asociau inclusiv Ac anti-HBs pozitiv în titru aparent protector. Din acest subgrup, doar 2 pacienți au evoluat cu reactivare virală VHC, dar fără reactivare VHB.

Un caz particular a fost al unei paciente de 62 ani, cu LMNH formă indolentă, aflată în tratament specific de 36 luni. După al 18-lea ciclu de TIS, care conținea Rituximab,

pacienta a dezvoltat fenomene de insuficiență hepatică severă. S-a remarcat faptul că pacienta prezenta Ac anti-VHC negativi, dar cu viremie VHC înaltă ( $9 \log_{10}$  UI/ml). Situația este descrisă în literatură în cazul pacienților cu status imun foarte deficitar, situație accentuată și de terapia imunosupresoare intensă. Rituximabul în asociere cu corticoterapia favorizează replicarea virală VHC, aspect descris în literatura de specialitate [17,20,21].

Toți pacienții la care s-a decelat reactivare virală au necesitat reducerea/întreruperea schemei de TIS, iar în cazul celor cu flare hepatic TIS a fost oprită până la normalizarea valorilor biochimice hepatice. Așa cum am prezentat în descrierea lotului, reactivarea VHC s-a dovedit fatală într-un singur caz, restul cazurilor evoluând favorabil.

Până la acest moment, în România nu există un protocol privind profilaxia reactivării VHC. Schemele terapeutice în vigoare până de curând cuprindeau molecule antivirale cu numeroase efecte adverse, în special hematologice, fapt ce făcea dificil tratamentul antiviral al acestor pacienți. Pacienții puteau beneficia doar de doze mici de Interferon alfa 2a (Roferon), administrat la recomandarea hematologilor și doar pentru afecțiuni care includeau în protocol și acest produs.

Este esențială conlucrarea între specialitățile hematologice, oncologice, reumatologice cu cele de boli infecțioase și gastroenterologice pentru un bun management al pacientului care necesită tratament imunosupresor și/sau biologic pentru suferința de fond.

Sugerez continuarea supravegherii reactivării infecției virale până la 2 ani de la finalizarea tratamentului imunosupresor și intrarea în remisiune hematologică. În lumina celor prezentate, sugerez elaborarea unui plan la nivel național care să permită un mai bun management al acestor pacienți, plan care să poată fi pus în aplicare încă de la diagnosticarea afecțiunii pacientului oncohematologic. Screening-ul complet pentru pacienții care vor primi tratament imunosupresor trebuie să cuprindă pe lângă determinarea markerilor serologici VHB și determinarea Ac anti-VHC și ulterior determinarea ARN VHC în cazurile cu anticorpi pozitivi. Viremia VHC ar trebui determinată chiar în condițiile în care Ac anti-VHC sunt negativi, dar pacienții au imunodepresie importantă prin boală sau tratament specific imunosupresor.

În cadrul studiului doctoral asupra pacienților cu afecțiuni reumatologice, am evaluat un lot de 39 pacienți. Au predominat cazurile cu PR iar mediana vârstei a fost de 57 ani (IQR:27-80), cu un raport femei/bărbați de 1.16, mai mic decât datele din literatura de specialitate care specifică raport de 3:1. În ceea ce privește distribuția pacienților în funcție de vârstă, am observat că mediana vârstei pacienților cu SA este mai mică (45 ani)

comparativ cu mediana vârstei celor cu PR (58 ani). Surprinzător, în lotul meu de studiu, 1/3 din cazurile cu poliartrită reumatoidă (34%) au fost de sex masculin (8/23 cazuri).

Aproximativ 18 pacienți (46% din cazuri) au beneficiat de tratament cu Infliximab, iar 11 pacienți (28%) au primit tratament cu Rituximab, moleculă cu risc crescut de a determina reactivarea infecției cu virusuri hepatitice. Utilizând modelul linear de regresie statistică, am găsit o valoare a coeficientului de determinare  $R^2$  de 0.307 (test Anova), existând astfel o corelație statistică între afecțiunea reumatică și vârsta ( $p=0.005$ ), reactivarea infecției VHB ( $p=0.05$ ) precum și numărul de produse utilizate în tratamentul afecțiunilor diagnosticate ( $p=0.04$ ).

Screening-ul serologic necesar diagnosticării infecției cu virusuri hepatitice premergător instituirii tratamentului biologic nu a fost efectuat cu rigurozitate. Unii pacienți au fost screenați pentru VHB după stabilirea diagnosticului de boală reumatică, sau chiar după inițierea tratamentului biologic/imunosupresor, în momentul decelării unui sindrom hepatocitolitic. Pacienților li s-a efectuat doar determinarea de AgHBs, fără extinderea bilanțului serologic care ar fi putut identifica statusul real al infecției VHB.

În lotul studiat am identificat prezența Ac anti-HBs în 4/39 (10%) din cazuri, toți pacienții având titru protector (peste 10 mUI/ml), cu o mediană de 285.3 mUI/ml (IQR 159.24 – 2128.72). Într-un singur caz a fost identificată o particularitate serologică cu prezența concomitentă a AgHBs pozitiv, Ac anti-HBs și viremie VHB pozitivă. Dintre acești pacienți reținem cazul unei paciente de sex feminin cu LES, care a prezentat reactivarea infecției VHB dar fără afectare a funcției hepatice, fiind sub tratament cu Rituximab și Metrotexat de 1 lună.

În ansamblul lotului nostru, reactivarea virală a fost identificată în 10/39 cazuri (25.6%). Dintre aceștia, repartiția cazurilor VHB reactivate a fost următoarea: 7/33 (21,21%) cazuri cu AgHBs pozitiv și 3/6 cazuri cu OBI. Asocierea medicației imunosupresoare la DMARDs a determinat cel mai frecvent reactivarea VHB ( **$p=0.003$** ).

Rituximabul a determinat cele mai multe cazuri de reactivare VHB (7/11, 63.63%, pacienți) urmat de Infliximab (3/18, 16.66%, cazuri). Am constatat că administrarea unui singur imunosupresor a putut determina reactivarea VHB. Pacienții cu VHB-r au avut vârste mai înaintate comparativ cu cei la care nu s-a produs reactivarea, diferența fiind semnificativă statistic ( **$p=0.013$** ). Cele mai multe cazuri de reactivare VHB au fost dovedite la pacienții cu poliartrită reumatoidă (4/23, 17.39%, cazuri) și la grupa de vârstă 60-69 ani.

În grupul de studiu, reactivarea VHB s-a corelat statistic cu vârsta pacienților (la pacienții vârstnici) și cu numărul crescut de produse terapeutice utilizate (cel puțin două

produse terapeutice ). Așa cum era de așteptat, valoarea medie a ALAT și ASAT la pacienții cu VHB-r a fost semnificativ mai mare decât în lotul celor fără reactivare virală ( $p=0.07$ , respectiv  $p=0.018$ ).

Toți pacienții au evoluat favorabil sub terapie antivirală cu Entecavir 0,5 mg/zi. Nici un pacient nu a decedat din cauza reactivării virale. În lotul de pacienți cu afecțiuni reumatologice care au prezentat reactivarea infecției VHB s-au înregistrat doar 2 decese care s-au datorat altor factori, nu afectării hepatice.

### **Concluzii rezultate din analiza lotului de pacienți cu SLC și infecție cu virusuri hepatitice B, C sau D aflați sub terapie imunosupresoare/biologică**

- În lotul de pacienți cu SLC au predominat bărbații, cu vârsta peste 60 ani.
- Cea mai frecventă infecție virală cronică a fost infecția cu VHB, urmată de infecția VHC și OBI. Media vârstei la pacienții cu VHB a fost mai mică decât cea a pacienților cu VHC.
- Majoritatea cazurilor de afectare hepatică au fost diagnosticate concomitent, sau ulterior momentului diagnosticului afecțiunii hematologice (54% din cazuri). Această situație evidențiază că screening-ul infecțiilor cu virusuri hepatitice este încă inefficient și incomplet.
- Infecția cronică cu VHB are risc de 2 ori mai mare de a se asocia cu forme agresive de SLC comparativ cu infecția cronică cu VHC.
- Din punct de vedere hematologic:
  - limfocitoza a fost corelată mai frecvent cu infecția VHC.
  - limfopenia și neutropenia au fost corelate mai frecvent cu infecția VHB.
- Crioglobulinemia a fost asociată cu infecția VHC, fiind corelată și cu hepatomegalia.
- În cazul reactivărilor virale B și C valorile medii ale ALAT și ASAT au fost de circa 6 ori mai mari decât valorile normale. Din cercetarea mea am constatat că valoarea ASAT a fost un predictor mai bun decât ALAT, în ceea ce privește activitatea necroinflamatorie hepatică.
- Reactivarea virusologică a fost diagnosticată în 33% din cazuri.



### **Referitor la reactivarea infecției cronice cu VHB:**

- Riscul relativ de reactivare pentru pacienții care asociau infecție cu VHB nu a fost semnificativ mai mare comparativ cu VHC.
- Jumătate din cazurile cu AgHBe pozitiv au reactivat sub terapie imunosupresoare/biologică, comparativ cu 14/45 (31%) pacienți cu AgHBe negativ care au reactivat.
  - Pacienții vârstnici și de sex masculin au avut un risc de reactivare mai mare.
  - Cele mai frecvente cazuri de reactivare virală au fost diagnosticate în grupul pacienților cu LMNH, urmat de cei cu LLC. Formele agresive de SLC au avut un risc de 3 ori mai mare de a dezvolta reactivare virală (indiferent de infecția virală care a reactivat), comparativ cu formele indolente.
    - Riscul de reactivare s-a corelat pozitiv cu numărul absolut mai mic de limfocite.
    - Am constatat că Rituximabul a crescut riscul de reactivare VHB de 3 ori, comparativ cu cei care nu primesc Rituximab.
    - Au fost cazuri în care diagnosticul reactivării s-a făcut foarte târziu (după 120 luni de la inițierea tratamentului imunosupresor).
    - Profilaxia reactivării VHB s-a făcut într-un număr mic de cazuri (10%); singura moleculă utilizată a fost Lamivudina, care nu și-a dovedit eficacitatea.
    - Pacienții cu infecție VHB reactivată au primit tratament curativ cu Entecavir, sub care evoluția a fost favorabilă.

### **Referitor la reactivarea infecției cu VHC:**

- Dintre pacienții cu infecție cronică VHC care au reactivat au predominat pacienții de sex feminin, LMNH și formele indolente din punct de vedere histologic al SLC.
- Rituximabul s-a asociat cu reactivarea infecției VHC în jumătate din aceste cazuri, dar nu a influențat semnificativ reactivarea infecției virale.

### **Referitor la pacienții cu OBI (AgHBs negativ, anti-HBc pozitiv):**

- Peste jumătate din cazuri au prezentat forme agresive de SLC.
- Un număr de trei pacienți din totalul de 10 primiseră profilaxia reactivării virale. Aceasta a fost lipsită de eficiență, toți cei 3 pacienți au dezvoltat reactivare virală.
- Din cei 7 pacienți care au primit Rituximab, 6 au reactivat. Terapia cu Rituximab s-a asociat cu reactivarea OBI.

### **Referitor la infecția cronică VHD:**

- Din cele 4 cazuri diagnosticate cu coinfecție virală, au fost identificate 2 cazuri cu profil serologic particular, considerați inițial OBI, astfel încât infecția cu VHD nu a fost diagnosticată la timp.
- Ambele cazuri au prezentat reactivarea infecției virale VHD.

### **Referitor la relația dintre fenotipurile LLC și infecția cu virusuri hepatitice:**

- Pacienții care au prezentat infecții latente cu virusuri hepatitice au avut niveluri ridicate ale expresiei CD19, CD20 și CD 79b, bcl-2, precum și cyclin D1, ceea ce sugerează un fenotip de LLC atipic și mai agresiv.
- Infecția cu virusuri hepatitice B sau C nu a determinat progresia bolii hematologice, dar a crescut rezistența bolii la tratamentul specific pentru aceste afecțiuni și implicit utilizarea unor regimuri mai agresive, asociate cu o mortalitate crescută prin decompensarea hematologică.

### **Referitor la decesele pacienților cu SLC care asociau infecție cu virusuri hepatitice B, C sau D:**

- Cele mai frecvente decese s-au înregistrat în rândul femeilor, cu vârsta peste 50 ani, cu LMNH și forme agresive de boală hematologică
- Pacienții cu infecție cu VHB au avut un risc de deces de 4 ori mai mare decât cei cu VHC. Reactivarea virală a crescut riscul de deces de 1.5 ori, indiferent de virusul hepatitic care a reactivat.

### **Concluzii rezultate din analiza lotului de pacienți cu afecțiuni reumatologice și infecție cu virus hepatitic B aflați sub terapie imunosupresoare/biologică:**

- Studiul a inclus **39 de pacienți** cu afecțiuni reumatologice în tratament cu agenți biologici, având vârsta medie de 54.12 ani, majoritatea fiind femei.
- Utilizând modelul linear de regresie statistică, am constatat ca PR s-a asociat cel mai mult cu reactivarea infecției cu VHB.
- Deși majoritatea pacienților au prezentat AgHBs pozitiv la momentul includerii în studiu, dintre aceștia am remarcat în 3 cazuri, situația paradoxală în care au fost decelate concomitent AgHBs și Ac antiHBs în titru aparent protector.

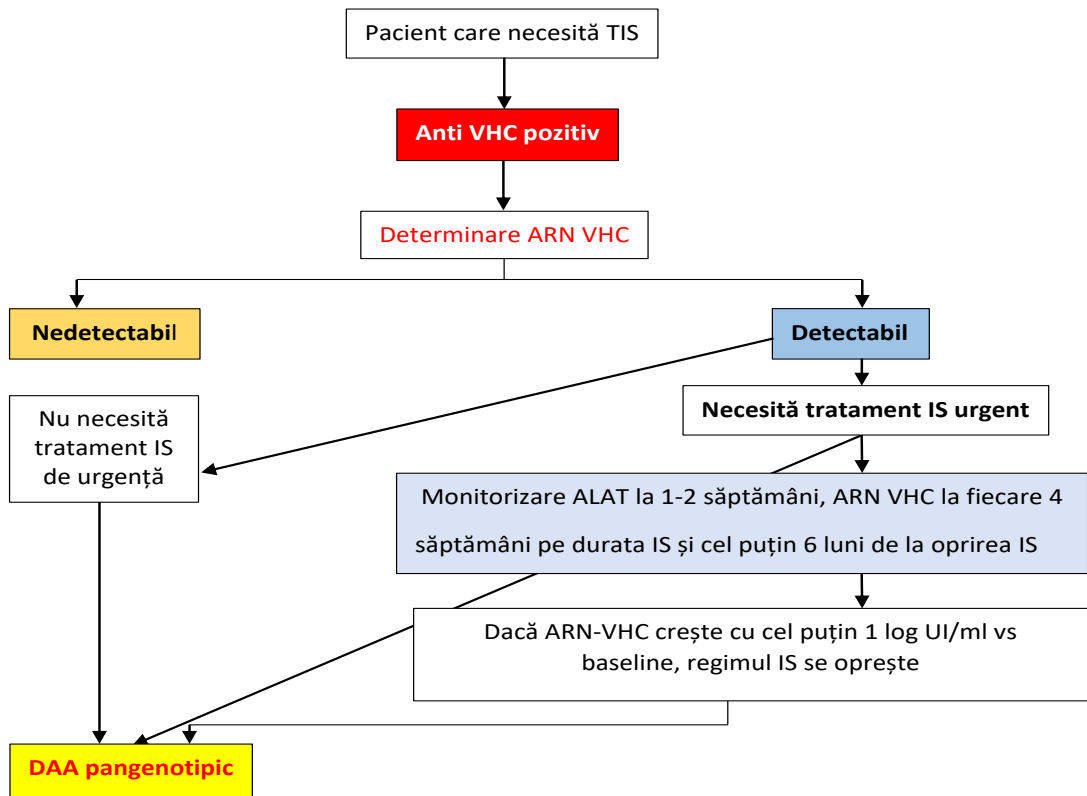
Circa un sfert din pacienți au dezvoltat **reactivare** a infecției VHB, aceasta apărând mai frecvent la pacienții care au primit tratament biologic în asociere cu DMARDs convențional (Metotrexat). Riscul de reactivare VHB s-a corelat statistic cu vârsta și numărul de produse utilizate în tratarea pacienților.

Privind unitar rezultatele cercetării, am constatat că pacienții cu afecțiuni hematologice maligne și reumatologice care necesită terapie imunosupresoare (mai ales biologică) prezintă un risc important de reactivare a infecțiilor cu virusurile hepatitice. În ciuda acestui fapt, datele relevate de pacienții pe care i-am studiat mi-au demonstrat că aceștia au fost investigați incomplet, sau chiar deloc pentru infecțiile cu virusuri hepatitice. În puținele cazuri investigate în momentul inițierii terapiei biologice, panelul de analize s-a rezumat la determinarea doar a AgHBs și a Ac anti-VHC. Aceste determinări nu permit diagnosticarea unor cazuri particulare:

- Infecția ocultă cu VHB (OBI),
- Infecțiile oculte cu VHD,
- Infecțiile cu VHC la pacienții cu imunosupresie severă care pot prezenta citoliză hepatică persistentă, dar nu dezvoltă Ac anti-VHC, având viremie VHC prezentă.

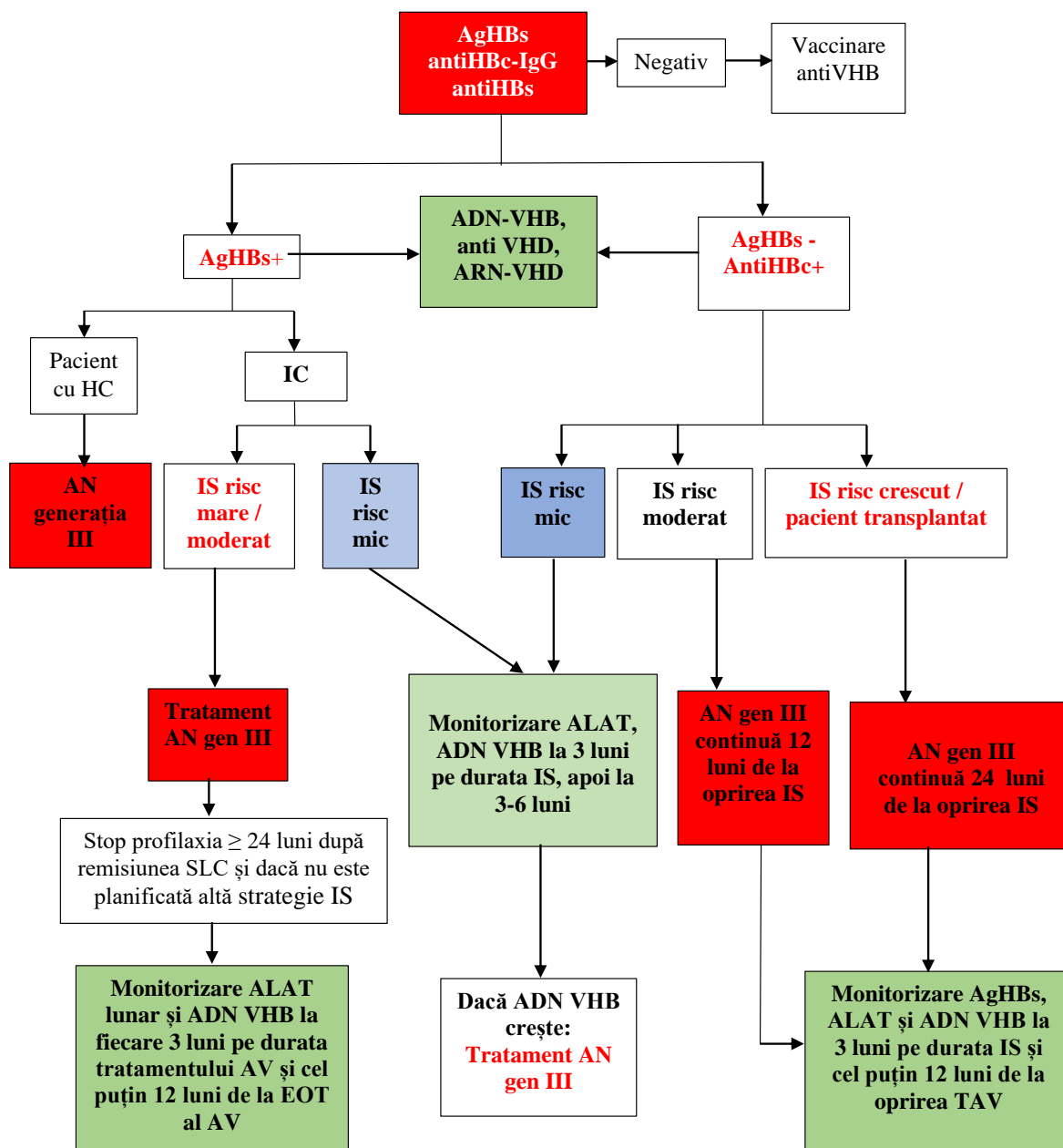
La majoritatea pacienților screening-ul pentru infecții cu virusuri hepatitice s-a făcut în momentul în care pacienții au prezentat citoliză și semne clinice de afectare hepatică. Acest context a impus oprirea intempestivă a terapiei biologice, cu efecte negative asupra evoluției afecțiunii de fond.

În final, doresc să subliniez necesitatea efectuării unui bilanț serologic complet înainte de inițierea terapiei imunosupresoare, precum și repetarea lui periodică, la fiecare 3-6 luni pe durata tratamentului biologic. Pornind de la rezultatele obținute și coroborând cu informațiile din literatura de specialitate, propun un algoritm de screening și tratament antiviral pentru a preveni reactivarea infecțiilor hepatitice sub terapiile biologice/imunosupresoare.



Legenda: TIS = terapie imunosupresoare, VHC = virusul hepatitei C, Ag = antigen , IS = imunosupresor, ALAT = alaninaminotransferaza, DAA = terapie antivirală cu acțiune directă

**Figura 9. Propunere de algoritm pentru screening-ul infecției VHC la pacienții care necesită TIS**



Legendă: IS = imunosupresor, HC = hepatită cronică, IC = infecție cronică, AN gen III = analogi nucleosidici/nucleotidici de generația a IIIa , TAV = terapie antivirală

**Figura 10. Propunere de algoritm pentru screening-ul infecției VHB la pacienții care necesită TIS**

## Bibliografie:

1. file.pdf [Internet]. [cited 2021 May 25]. Available from: <https://www.cnsbct.ro/index.php/analiza-date-supraveghere/hepatita-virala-tip-b-si-c/405-rezultatele-studiului-epidemiologic-de-prevalenta-pentru-infectia-cu-virus-hepatitic-b-si-c-romania-anul-2013/file>
2. Wang Y, Luo X-M, Yang D, Zhang J, Zhuo H-Y, Zhang J, et al. Testing for hepatitis B infection in prospective chemotherapy patients: A retrospective study. *World J Gastroenterol WJG*. 2013 Feb 14;19(6):923–30.
3. Méndez-Navarro J, Corey KE, Zheng H, Barlow LL, Jang JY, Lin W, et al. Hepatitis B Screening, Prophylaxis and Reactivation in the Era of Rituximab-based Chemotherapy. *Liver Int Off J Int Assoc Study Liver*. 2011 Mar;31(3):330–9.
4. European Association for the Study of the Liver. Electronic address: [easloffice@easloffice.eu](mailto:easloffice@easloffice.eu), European Association for the Study of the Liver. EASL 2017 Clinical Practice Guidelines on the management of hepatitis B virus infection. *J Hepatol*. 2017 Aug;67(2):370–98.
5. Terrault NA, Lok ASF, McMahon BJ, Chang K, Hwang JP, Jonas MM, et al. Update on Prevention, Diagnosis, and Treatment of Chronic Hepatitis B: AASLD 2018 Hepatitis B Guidance. *Clin Liver Dis*. 2018 Aug 22;12(1):33–4.
6. Buti M, Manzano ML, Morillas RM, García-Retortillo M, Martín L, Prieto M, et al. Randomized prospective study evaluating tenofovir disoproxil fumarate prophylaxis against hepatitis B virus reactivation in anti-HBc-positive patients with rituximab-based regimens to treat hematologic malignancies: The Preblin study. *PloS One*. 2017;12(9):e0184550.
7. Mozessohn L, Chan KKW, Feld JJ, Hicks LK. Hepatitis B reactivation in HBsAg-negative/HBcAb-positive patients receiving rituximab for lymphoma: a meta-analysis. *J Viral Hepat*. 2015 Oct;22(10):842–9.
8. Evens AM, Jovanovic BD, Su Y-C, Raisch DW, Ganger D, Belknap SM, et al. Rituximab-associated hepatitis B virus (HBV) reactivation in lymphoproliferative diseases: meta-analysis and examination of FDA safety reports. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol*. 2011 May;22(5):1170–80.
9. Seto W-K, Chan TSY, Hwang Y-Y, Wong DK-H, Fung J, Liu KS-H, et al. Hepatitis B reactivation in patients with previous hepatitis B virus exposure undergoing rituximab-containing chemotherapy for lymphoma: a prospective study. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2014 Nov 20;32(33):3736–43.
10. Zannella A, Marignani M, Begini P. Hematological Malignancies and HBV Reactivation Risk: Suggestions for Clinical Management. *Viruses* [Internet]. 2019 Sep 14 [cited 2020 Aug 20];11(9). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6784078/>
11. Perrillo RP, Gish R, Falck-Ytter YT. American Gastroenterological Association Institute technical review on prevention and treatment of hepatitis B virus reactivation during immunosuppressive drug therapy. *Gastroenterology*. 2015 Jan;148(1):221-244.e3.
12. Wang B, Mufti G, Agarwal K. Reactivation of hepatitis B virus infection in patients with hematologic disorders. *Haematologica*. 2019 Mar;104(3):435–43.
13. Andersen ES, Gerstoft J, Weis N. Reactivation of hepatitis D virus after chemotherapy for diffuse large B cell lymphoma despite lamivudine prophylaxis. *Int J Hematol*. 2010 Sep;92(2):378–80.
14. Yamada T, Nannya Y, Suetsugu A, Shimizu S, Sugihara J, Shimizu M, et al. Late Reactivation of Hepatitis B Virus after Chemotherapies for Hematological

- Malignancies: A Case Report and Review of the Literature. *Intern Med.* 2017 Jan 1;56(1):115–8.
15. Loomba R, Rowley A, Wesley R, Liang TJ, Hoofnagle JH, Pucino F, et al. Systematic Review: The Effect of Preventive Lamivudine on Hepatitis B Reactivation during Chemotherapy. *Ann Intern Med.* 2008 Apr 1;148(7):519–28.
  16. Fetica B, Pop B, Blaga ML, Fulop A, Dima D, Zdrenghea MT, et al. High prevalence of viral hepatitis in a series of splenic marginal zone lymphomas from Romania. *Blood Cancer J.* 2016 Nov 11;6(11):e498.
  17. Torres HA, Hosry J, Mahale P, Economides MP, Jiang Y, Lok AS. Hepatitis C virus reactivation in patients receiving cancer treatment: A prospective observational study. *Hepatology* Baltim Md. 2018;67(1):36–47.
  18. Arcaini L, Merli M, Volpetti S, Rattotti S, Gotti M, Zaja F. Indolent B-cell lymphomas associated with HCV infection: clinical and virological features and role of antiviral therapy. *Clin Dev Immunol.* 2012;2012:638185.
  19. El-Hefni AM, Elgohary TA, Kotb A, Abu-Taleb FM. Efficacy of Ribavirin to Prevent Hepatitis Reactivation in Hepatitis C Virus-Infected Patients Treated for Non-Hodgkin Lymphoma, Single Egyptian Center Study. *J Hematol.* 2013 Jun 13;2(1):14–21.
  20. Mahale P, Kontoyiannis DP, Chemaly RF, Jiang Y, Hwang JP, Davila M, et al. Acute exacerbation and reactivation of chronic hepatitis C virus infection in cancer patients. *J Hepatol.* 2012 Dec;57(6):1177–85.
  21. Coppola N, Pisaturo M, Guastafierro S, Tonziello G, Sica A, Iodice V, et al. Increased hepatitis C viral load and reactivation of liver disease in HCV RNA-positive patients with onco-haematological disease undergoing chemotherapy. *Dig Liver Dis Off J Ital Soc Gastroenterol Ital Assoc Study Liver.* 2012 Jan;44(1):49–54.

## Lista lucrărilor științifice elaborate și publicate

### 1. **Hepatitis B and C virus reactivation patterns in a Romanian cohort of patients with chronic lymphoproliferative disorders.**

Autori: **Violeta Molagic**, Raluca Mihăilescu, Cătălin Tilișcan, Cristina Popescu, Ana Maria Vlădăreanu, Remulus Catană, Mihaela Rădulescu, Victoria Aramă, Ștefan Sorin Aramă.

Articol publicat în revista **Indian Journal of Hematology & Blood Transfusion**, An 2019, Volum 35, Număr 3, Pagini 459-464.

ISSN: 0971-4502 (print), 0974-0449 (online).IF=1.615

Link către publicație:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6646501/>

### 2. **Hepatitis B virus reactivation in patients undergoing chemoimmunotherapy for haematological malignancies.**

Autori: **Violeta Molagic**, Cătălin Tilișcan, Cristina Popescu, Victoria Aramă, Mihaela Rădulescu, Ana Maria Vlădăreanu, Ștefan Sorin Aramă.

Articol publicat în revista **Farmacia**, An 2020, Volum 68, Număr 2, Pagini 256-260.

Revistă indexată **ISI Thomson-Reuters cu IF = 1.326/5 ani**

ISSN: 0014-8237 (Print), e-ISSN: 1065-0019 (Online).

Link către publicație:

[https://farmaciajournal.com/wp-content/uploads/2020-02-art-10-Molagic\\_Arama\\_256-260.pdf](https://farmaciajournal.com/wp-content/uploads/2020-02-art-10-Molagic_Arama_256-260.pdf)

### 3. **Rapid loss of HBs antigen in patients with HBV reactivation and high level of transaminases during immunosuppressive therapy-case series.**

Autori: **Violeta Molagic**, Cristina Popescu, Cătălin Tilișcan, Victoria Aramă, Ștefan Sorin Aramă.

Articol publicat în revista **Revista Română de Medicină de Laborator**, An 2021 Volum 29, Număr.1, Pagini 105-115.

Revistă indexată **ISI Thomson-Reuters cu IF= 0.945**

ISSN 1841-6624 (print), 2284-6523 (online).

Link către publicație:



[http://www.rrml.ro/articole/2021/2021\\_1\\_10.pdf](http://www.rrml.ro/articole/2021/2021_1_10.pdf)

**4. De novo hepatitis B infection in a HBsAg negative patient with chronic lymphoproliferative disorders.**

Autori: Cristina Maria Ciufu, Minodora Onisai, Lavinia Lipan, Horia Bumbea, **Violeta Molagic**, Victoria Aramă, Ana Maria Vlădăreanu.

Articol publicat în **Romanian Journal Of Medical Practice**. An 2014, Volum IX, Număr 1(33), Pagini 31-35.

Revistă indexată BDI

ISSN: 1842-8258 (print), 2069-6108 (online)

Link către publicație:

[https://rjmp.com.ro/articles/2014.1/PM\\_Nr-1\\_2014\\_Art-5.pdf](https://rjmp.com.ro/articles/2014.1/PM_Nr-1_2014_Art-5.pdf)

**A. Lucrări publicate la congrese cu rezumat publicat în revistă sau volum de rezumate - poster sau prezentări orale**

**1. Characteristics of hepatitis C virus reactivation due to immunosuppressive therapy in Romanian HCV infected patients with hematological malignancies.**

Autori: **Violeta Molagic**, Cătălin Tilișcan, Cristina Popescu, Raluca Mihăilescu, Daniela Munteanu, Raluca Năstase, Anca Negru, Angelica Teniță, Victoria Aramă, Ștefan Sorin Aramă.

Titlul manifestării: The 12<sup>th</sup> Edition of the Scientific Day of the National Institute for Infectious Diseases „Prof. Dr. Matei Balș” Bucharest and the 12th National Infectious Diseases Conference, București, România, 23-25 noiembrie 2016.

Rezumat publicat în BMC Infectious Diseases 2016;16 (suppl. 4):31-76.

**2. Risk factors for chemotherapy-induced viral hepatitis reactivation in Romanian HBV infected patients with haematological malignancies.**

Autori: **Violeta Molagic**, Cătălin Tilișcan, Irina Lăpădat, Raluca Mihăilescu, Cristina Popescu, Mihaela Rădulescu, Daniela Munteanu, Raluca Năstase, Anca Negru, Victoria Aramă, Ștefan Sorin Aramă.

Titlul manifestării: 25<sup>th</sup> ECCMID, Copenhaga, Danemarca, 25-28 april 2015.

Rezumat publicat în volumul de rezumate al manifestării.

**3. Occult hepatitis B virus reactivation in patients with haematological malignancies under biological therapy.**

Autori: **Violeta Molagic**, Cristina Popescu, Cătălin Tilișcan, Raluca Mihăilescu, Mihaela Rădulescu, Angelica Teniță, Victoria Aramă, Ștefan Sorin Aramă.

Titlul manifestării: 11<sup>th</sup> Edition of The Scientific Days of The National Institute of Infectious Diseases „Prof. Dr. Matei Balș”, București, România, 14-16 october 2015. Rezumat publicat în volumul de rezumate al manifestării, pg 21, ISSN 2457-8525, ISSN-L 2457-8525.

#### **4. Late HBV reactivation in patients with rheumatic diseases treated with biological therapy.**

Autori: **Violeta Molagic**, Cristina Popescu, Cristina Murariu, Cătălin Tilișcan, Laurențiu Stratan, Raluca Năstase, Cristina Covaliov, Viorica Poghirc, Victoria Aramă, Ștefan Sorin Aramă.

Titlul manifestării: The 13<sup>th</sup> Edition of Scientific Days of the National Institute for Infectious Diseases „Prof. Dr. Matei Balș”, București, România, 8-10 november 2017.

Rezumat publicat în volumul de rezumate al manifestării, ISSN 2457-8525; ISSN-L 2457-8525.

Lucrarea a primit Premiu Special.

B.