

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE

"CAROL DAVILA", BUCUREȘTI

ȘCOALA DOCTORALĂ

DOMENIUL MEDICINĂ



**EVOLUȚIA PACIENȚILOR CU FIBROZĂ HEPATICĂ AVANSATĂ DE
ETIOLOGIE VHC POST TRATAMENT CU ANTIVIRALE DIRECTE
REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT**

Conducător de doctorat:

PROF. UNIV. DR. ILIESCU ELENA LAURA

Student-doctorand:

BERTEA (căs. FRÂNCULESCU-BERTEA) ANDREEA-MANUELA

CUPRINS

Lista cu lucrări științifice publicate	39
Lista cu abrevieri și simboluri	5
Introducere	7
1. Partea generală	9
1.1. Infecția virală cronică C – de la morfogeneza la replicare intra și extra hepatică	9
1.1.1. Morfogeneza virală	9
1.1.2. Căi de transmitere	12
1.1.3. Ciclul de viață viral	14
1.1.4. Patogenia bolii hepatice mediată imun	16
1.1.5. Replicarea extrahepatică a VHC	18
1.1.6. Crioglobulinemia mixtă asociată VHC	25
1.2. Rolul VHC în apariția carcinomului hepatocelular	29
1.2.1. Mecanismele HCC asociat infecției cronice VHC	29
1.2.2. Mecanismele moleculare prin care HCC reglează căile neoplazice	32
1.2.3. Celulele stem canceroase	35
1.2.4. Mecanismele oncogenice indirecte	36
1.2.5. Rolul inflamației în tumorigeneză	38
1.3. Noile molecule cu acțiune antivirală directă. Impactul RVS prin DAA asupra recuperării funcției hepatice și asupra riscului de apariție hepatocarcinomului	44
2. Contribuții personale	54
2.1. Ipoteze de lucru și obiective generale	54
2.2. Metodologia generală a cercetării. Plan de cercetare. Materiale și metode	59
2.3. Protocol de tratament	67
2.4. Rezultate obținute	73
2.4.1. Caracterizare lot	73
2.4.1.1. Caracteristici clinic-biologice bazale lot studiat	73
2.4.1.2. Rezultate	73
2.4.1.3. Discuții	76
2.4.2. Comorbidități pacienți monitorizați	80
2.4.2.1. Rezultate	80
2.4.2.2. Discuții	81
2.4.3. Efecte adverse medicație antivirală direct	89
2.4.3.1. Rezultate și discuții	89
2.4.4. Dinamica fibrozei și a principalilor parametri biochimici post tratament cu antivirale directe. Răspunsul virusologic susținut	92
2.4.4.1. Rezultate	92
2.4.4.2. Discuții	96
2.4.5. Impactul tratamentului cu molecule antivirale directe asupra crioglobulinemiei mixte asociate VHC	100
2.4.5.1. Rezultate	101

2.4.5.2. Discuții	112
2.4.6. Incidența HCC la pacienții tratați DAA	115
2.4.6.1. Rezultate	115
2.4.6.2. Discuții	118
Concluzii și contribuții personale	125
BIBLIOGRAFIE	33
ANEXE	152

1. Ipoteze de lucru și obiective generale

Lucrarea de față își propune să prezinte concluziile unui studiu prospectiv, observațional, non-intervențional care s-a desfășurat pe secția de Medicină Internă a Institutului Clinic Fundeni, urmărind evoluția pacienților cu fibroză hepatică avansată și ciroză compensată funcțional (Clasă Child A), tratați cu molecule antivirale directe.

Au fost stabilite următoarele ipoteze de lucru:

1. Stabilirea eficacității terapiei antivirale pe lotul observat (atingerea RVS)
2. Identificarea efectelor adverse asociate medicației antivirale
3. Evoluția parametrilor biochimici post tratament
4. Evoluția fibrozei hepatice post tratament
5. Incidența HCC post tratament
6. Impactul tratamentului asupra manifestărilor extrahepatice ale infecției cronice de etiologie VHC după atingerea RVS prin tratament cu molecule antivirale directe (cu precădere asupra crioglobulinemiei mixte).

Obiectivul principal: să demonstrez că tratarea cu succes a infecției cronice cu virusul hepatitic C conduce la regresia gradului de fibroza, ameliorează profilul biochimic, frânează evoluția către ciroză hepatică și complicațiile acesteia, scade incidența apariției hepatocarcinomului și a decesului de cauză hepatică.

2.2. Metodologia generală a cercetării. Plan de cercetare. Materiale și metode

A fost selectat un total de 260 pacienți. Pacienții adulți, cu infecție cronică de etiologie VHC, viremici (ARN-VHC > 10 UI/ml), cu fibroză hepatică avansată (F3) și ciroză hepatică compensată, naivi/experimentați la terapiile antivirale anterioare, care au primit tratament cu molecule antivirale directe

La momentul inițierii studiului, la nivel național regimurile de tratament aprobate au fost: regimul 3D-Ombitasvir/Ritonavir/Paritaprevir și Dasabuvir, respectiv combinațiile în doze fixe Sofosbuvir/Ledipasvir.

Toți pacienții au fost supuși unei anamneze minuțioase (istoricul infecției, tratamente antivirale urmate, aderența la acestea, investigații endoscopice vechi, utilizarea anticoncepționalelor orale la femeia de vârstă fertilă, medicația cronică).

Gradul fibrozei hepatice a fost evaluat prin metode neinvazive. Testele elastografice au fost efectuate pe același aparat (FibroScan) în cadrul Clinicii Medicale Fundeni, folosind pentru departajarea în stadii Metavir următoarele cut-off-uri: 5,5 kPa, 7,1 kPa, 9,5 kPa, 14,5 kPa, pentru F1, respectiv F2, F3, F4.

ARN-VHC a fost determinat pe COBAS AmpliPrep/COBAS TaqMan HCV (Roche). Rezultatul Fibromax a fost obținut cu ajutorul Biopredictive. Interpretarea APRI și FIB4a fost făcuta conform recomandărilor din articolele în care acestea au fost prezentate de către autorii lor, [177] astfel: APRI: 0,5-1,5 F2/F3, > 1,5 F4 FIB4: 1,45-3,25 F2/F3 > 3,25 F4

Fibrotestul a diagnosticat fibroza la valori peste 0,69 pentru fibroza avansată, respectiv peste 0,78 pentru ciroza hepatică.

Toți pacienții cu diabet zaharat în antecedentele personale patologice au beneficiat de determinarea glicemiei bazale și a hemoglobinei glicozilate (HbA1c %). Au fost determinate teste imunologice (crioglobuline serice, FR, complement, etc). Au fost recoltate teste biochimice complete: ionograma, teste funcționale renale, probe de coagulare (PT, INR), teste funcționale hepatice, albumină serică. Toți pacienții au avut determinări pre terapeutice ale AFP, valoarea maximă normală admisă de laborator fiind de 10 ng/ml. Pacienții cu valoare a AFP > 10 ng/ml, dar < 100 ng/ml au beneficiat de ecografie abdominala standard și cu substanță de contrast (SonoVue). Pacienții cu valori serice ale AFP >100 ng/ml au efectuat CT/IRM abdominal cu substanță de contrast intravenos înaintea inițierii terapiei antivirale directe.

Toți pacienții au semnat consimțământul informat. Pentru desfășurarea studiului a fost obținut avizul Consiliului de Etica al Institutului Clinic Fundeni.

Au fost stabilite următoarele criterii de excludere: pacienții necooperanți, pacienții cu hepatocarcinom diagnosticat imagistic prin CT/IRM abdominal la momentul inițierii DAA, pacienții cu alte hepatopatii cronice, pacienții cu neoplazii extrahepatice- în absența avizului medicului specialist onco-hematolog, pacienții cu CH de etiologie VHC clasă Child B și C.

Nu au fost identificați în lotul urmărit pacienți din grupele de risc, pacienți cu practici sexuale aberante sau pacienți din mediul penitenciar. Pacienții au fost evaluați clinico-biologic și

imagistic pre terapeutic, la sfârșitul perioadei de tratament (EOT) și la 12 săptămâni de la EOT (SVR). Pentru evaluarea consumului excesiv de alcool a fost aplicat chestionarul Audit.

A fost efectuată ecografie abdominală inițial- înainte stabilirii deciziei terapeutice, la SVR și la 1 an la pacienții cu fibroza hepatică avansată (F3). În acord cu ghidurile internaționale, ecografia a fost repetată la intervale de 3-6 luni pentru supravegherea riscului de apariție a hepatocarcinomului. Toți pacienții au beneficiat de determinarea ARN-VHC pre terapeutic și la 12 săptămâni de la EOT. Parametri folosiți pentru monitorizare și comparare la 3 luni-6 luni-1 an au fost: stiffness-ul hepatic, bilirubina totală, transaminazele, albumina serică, hemoleucograma- cu numărătoare trombocite, INR.

Analiza statistică

Rezultatele sunt exprimate ca medie \pm abatere standard (SD) sau n (%). Valorile $p < 0,05$ au fost considerate a fi semnificative statistic. Pentru verificarea ipotezelor în cadrul eșantioanelor dihotomice a fost folosit testul Fisher pentru variabilele nominale și Wilcoxon pentru variabilele continue. Testul T susținut de raportul de Hazard Mantel-Haendel (MH RH) și intervalul sau de încredere de 95%, ca măsura a impactului efectului a fost reprezentat ca diagrame Kaplan-Meier. Pentru variabilele relevante s-au utilizat median and range values. Grupele au fost comparate utilizând Mann-Whitney Test pentru variabilele continue și Fisher test pentru variabilele categorice. The Wilcoxon rank test a fost utilizat pentru a compara doua eșantioane. Analiza regresivă longistică s-a utilizat pentru a evidenția factorii predictivi ai răspunsului clinic și imunologic Analizele statistice au fost efectuate prin utilizarea GraphPad Prism 9 (GraphPad software, California, SUA).

Interacțiunile medicamentoase au fost verificat cu ajutorul www.hep-druginteractions.org.

2.3. Protocol de tratament

Regim 3D: Ombitasvir+Ritonavir+Paritaprevir (12,5 mg/75 mg/50 mg) 2cp/zi

Dasabuvir 250 mg 2cp/zi, impreuna cu alimentele

Regim 2D:Ledipasvir/Sofosbuvir 90/400 mg 1cp/zi, cu/fără alimente

Durata de tratament a fost de 12 săptămâni pentru ambele formule terapeutice.

Niciunul din pacienți nu a primit Ribavirină asociat DAA.

Efectele adverse asociate tratamentului, incluzând anomalii clinice, biologice sau hematologice apărute în timpul tratamentului au fost identificate, monitorizate și

raportate. Gradul efectelor adverse a fost clasificat în acord cu criteriile pentru efecte adverse ale Institutului National de Oncologie, versiunea 4.03. End-point-ul primar de siguranță a fost frecvența efectelor adverse.

Cele mai frecvent interacțiuni medicamentoase (în special în lotul tratat 3D) identificate au fost cu medicația hipotensoare (beta-blocante), inhibitorii de pompă de protoni, benzodiazepinele și statinele.

2.4. Rezultate obținute

2.4.1. Caracterizare lot

Caracteristici clinic-biologice bazale lot studiat

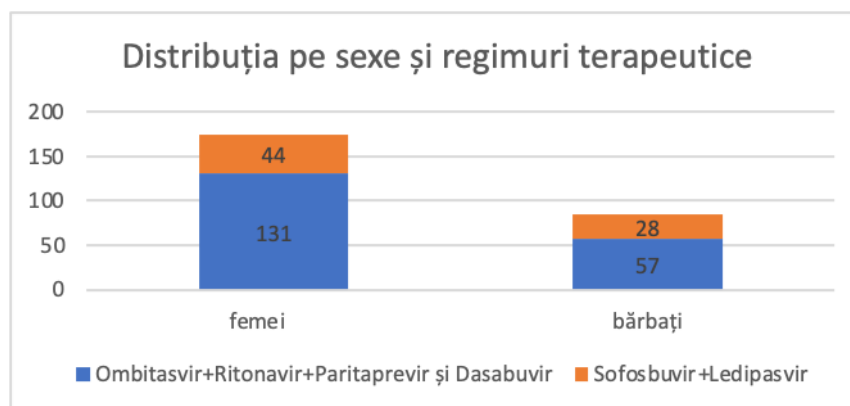
Rezultate

Pacienții luați în evidența aparțin regiunii geografice Sud-Muntenia, precum și regiunii București-Ilfov.

Caracteristicile de bază și demografice ale lotului studiat sunt ilustrate în tabelul alăturat.

	Ombitasvir+Ritonavir+Paritaprevir și Dasabuvir	Sofosbuvir+Ledipasvir	P
Nr. pacienți	188	72	
Vârsta (ani)	51,6 ± 9,22	47,2±9,6	0,66
Sex: - femei - bărbați	131 (69,6 %) 57 (30,4%)	44 (61,1%) 28 (38,9%)	0,56
Diabet zaharat	32 (17%)	11 (15,2%)	0,85
Hipertensiune arterială	36 (19,1%)	16 (22,2%)	0,57
Fumători	41 (21,8%)	14 (19,4%)	0,98
Date biologice			
Bilirubina totală (mg/dl)	1,6±0,31	1,21±0,21	0,01
ALT(UI: 40 U/L)	68,4±40,8	61,2±30,4	0,91
AST(UI: 40 U/L)	57,4±33,7	55,4±21,3	0,75
Albumina (g/dl)	3±0,45	3.1±0,17	0,03
INR	1,6±0,8	1,4±0,5	0,01
Leucocite (x10 ³ /mm ³)	5,4±1,6	6,2±1,3	0,004
Hemoglobina (g/dl)	12,6±23,6	13,8±21,06	0,01
Trombocite (x10 ³ /mm ³)	68,025±18,131	56,703 ±14,370	0,001
PCR-VHC (UI/ML)	1.050.000 (410.387-2.041.000)	945.600 (398.870-2.130.611)	0,76
Grad de fibroză			
F3-95	83	12	0,001
F4-165	105	60	
Experimentați la terapii anterioare (PegIFN+Ribavirina)	38 (20,2%)	13 (18%)	0,62
SVR	187/188 (99,4%)	68/72 (94,4%)	

Vârsta medie în lotul pacienților tratați 3D a fost de 51,6 ani vs 47,2 ani în lotul tratat 2D. În ceea ce privește distribuția pe sexe, s-a observat predominanța sexului feminin, postmenopauză și multipare în marea majoritate.



Valoarea medie a ARN-VHC (ui/ml) pre terapeutic a fost de 1.050.000 (410.387-2.041.000) în lotul tratat cu regim 3D, respectiv 945.600 (398.870-2.130.611) în lotul tratat cu Sof/Led.

Au fost identificați 95 pacienți cu grad de fibroză F3-dintre care 38 pacienți experimentați la terapii antivirale anterioare în lotul 3D și 13 în lotul 2 D. Dintre cei 165 pacienți cu ciroză hepatică, 136 pacienți (82,4%) au prezentat varice esofagiene: de grad I- 73 pacienți (61,1%), 41 pacienți cu varice esofagiene de grad II (31,1 %) și 12 pacienți cu varice esofagiene de grad III (8,8%). Toți pacienții cu varice esofagiene de grad III a beneficiat de bandare profilactică.

În ambele loturi, valorile AST si ALT sunt crescute cu 1-1,5xN. Valoarea medie a albuminei serice s-a situat în jurul valorii de 3 g/dl. Valoarea medie a bilirubinei totale (mg/dl) variază între $1,6 \pm 0,31$ în lotul tratat 3D și $1 \pm 0,21$ în lotul tratat 2D. Valorile leucocitelor și hemoglobinei au prezentat parametri normali. Numărătoarea trombocitară a relevat valori între 68.025 ± 18.131 în lotul propus a fi tratat cu DAA 3D și 56.703 ± 14.370 în lotul 2D.

Au fost identificați 13,46 % pacienți cu obezitate, cu predominanță la sexul feminin în ambele loturi. 18 pacienți consumatori în exces de alcool asociat infecției VHC, predominant de sex masculin.

Discuții

În ceea ce privește distribuția geografică, datele din lotul nostru sunt similare cu cele obținute de Mircea Manuc într-un studiu desfășurat în 2017 cu privire la epidemiologia infecției VHC în România (Muntenia, Dobrogea, Moldova, Banatul și Crișana au dovedit prevalențe înalte și aproximativ egale.) [189]. Studiul lui confirmă datele identificate și de Liana Gheorghe și echipa sa în 2010 cu privire la larga variabilitate geografică a infecției VHC în România, regiunea Sud-Muntenia reprezentând un rezervor viral important.

Peak-ul de incidență a sexului feminin în decadele 5-6 de viață din lotul nostru este explicabil prin expunerea acestora la proceduri medicale nesigure (întreruperi ilegale de sarcină) din perioada comunistă. Rezultatele din studiul nostru privind distribuția pe vârstă și sexe diferă de cele obținute de Manuc et al, unde 75% din totalul pacienților urmăriți se situează între decadele 6 și 7 de viață, 49% pacienți fiind de sex masculin.

Genul influențează de asemenea progresia infecției cronice. Bărbații asociază un risc mai mare de progresie către boală hepatică avansată, ciroză hepatică și hepatocarcinom. Nivelele serice crescute de testosteron s-au asociat cu severitate mai mare a fibrozei hepatice. Pentru fiecare 1 ng/ml creștere a testosteronului s-a remarcat o creștere cu 25% a riscului de fibroza avansată.[190]

Prin contrast, estrogenul joacă rol protector pentru femei. Se consideră factori comorbizi asociați menopauza, IMC crescut, sindromul metabolic și steatoza hepatică. Există un singur studiu care a demonstrat accelerarea fibrozei postmenopauză la femeia infectată VHC. Pacientele care au primit medicație de stimulare hormonală au prezentat stadii mai reduse de fibroză.[191]

În ceea ce privește vârsta pacienților, aceasta a fost identificată în numeroase studii drept un element major în progresia bolii hepatice. Într-un studiu condus de prof Poynard, trei factori au fost asociați cu rata crescută de progresie a fibrozei - vârsta la momentul infectării peste 40 de ani, consumul zilnic a minimum 50 g de alcool și sexul masculin.[192]

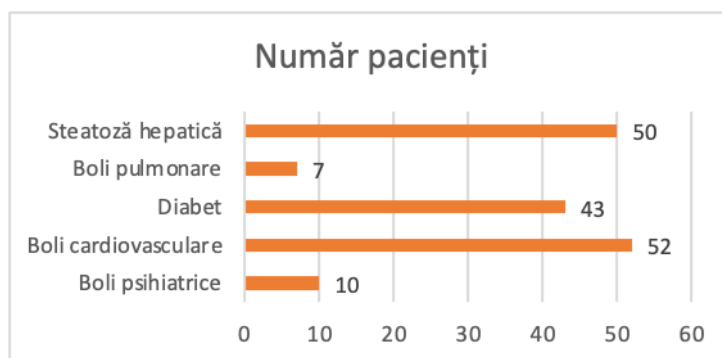
Nu a identificat asociere între progresia fibrozei și ARN-ul viral cantitativ. În lotul nostru, valoarea încărcăturii virale la momentul inițierii tratamentului nu a prezentat semnificație statistică și nu a influențat rata de răspuns la tratament.

În medie, 9% din pacienții urmăriți au declarat consum de alcool în exces. În asociere cu infecția cronică VHC de exacerbare a bolii hepatice, accelerare a progresiei fibrozei și

instalare mult mai rapidă a statusului cirotic.În plus, potențează instalarea efectelor secundare în asociere cu DAA. Mai mult, este factor inductor dovedit de carcinom hepatocelular.

2.4.2. Comorbidități pacienți monitorizați **Rezultate**

Cele mai frecvente comorbidități identificate în lotul investigat asociate infecției cronice cu virus hepatitic C sunt ilustrate în graficul alăturat.



Au fost identificați 52 pacienți cu patologie cardiovasculară (19,6%): 30 pacienți cu HTA, 7 pacienți cu boală coronariană, 11 pacienți cu insuficiență cardiacă, 4 pacienți cu boală cerebrovasculară (AVC sechelar). 7 pacienți au prezentat antecedente personale patologice de boală pulmonară (2,7%). 10 pacienți cu patologie psihiatrică asociată (2,8%) - cea mai comună fiind depresia. La 50 pacienți (19,2 %) a fost descrisă steatoză hepatică în grade variate. 43 pacienți au prezentat diabet zaharat tip II la momentul includerii în studiu: 32 pacienți în lotul tratat 3D și 11 pacienți în lotul tratat cu regim pe baza de Sof/Led.

Discuții

Infecția cronică VHC rezidă în stimulare cronică imunologică și inflamatorie. Studii au demonstrat asocierea între creșterea nivelului seric al acestor citokine pro inflamatorii (fibrinogen, IL6, etc) și prevalența crescută a aterosclerozei carotidiene. În plus, studiul sau a dovedit conexiunea între nivelul ARN-VHC seric și nivelul seric crescut al fibrinogenului și CRP, sugerând statusul pro inflamator ca mecanism independent de promovare a steatozei hepatice. [193]Tratamentul cu succes al VHC rezultă în reducerea markerilor pro inflamatori. Există o legătura directă între încărcătura virală și riscul de boală cardiovasculară. Statusul pro inflamator întreținut de virus promovează un mediu profibrogenic. Petta raportează relația direct proporțională între gradul de fibroză și extensia plăcilor aterosclerotice, subliniind faptul obținerea RVS se însoțește de ameliorarea aterosclerozei carotidiene. [195]. Maruyama a

dovedit că pacientul cu încărcătura virală crescută și index histologic de activitate crescut prezintă un grad mai mare de injurie miocardică. [196]

[197] Prin contrast, studiul lui Volzke nu a identificat asociere semnificativă între statusul viremic și riscul de infarctul miocardic, stroke, stenoze sau plăci carotidiene. [198] Younossi și echipa sa au dovedit o prevalență semnificativ mai mare de apariție a insuficienței cardiace congestive în populația infectată VHC comparativ cu grupul de control (3,8% vs 0,9%)[199]

Numeroase studii populaționale au raportat un risc cumulativ de stroke semnificativ mai mare la pacientul infectat VHC. Un studiu comparativ între un lot pacienți VHC seropozitivi și un grup de control (pacienți non-VHC) a revelat prevalență de 26,2% în primul lot vs doar 6,6 % în lotul fără virus C. [193] Lee a observat că infecția cronică VHC este factor de risc independent predictiv de mortalitate cerebrovasculară, existând un raport direct proporțional între nivelul seric al ARN și rata mortalității. Younossi nu a identificat o asociere strânsă între infecția VHC și riscul de AVC. [194]

Cele mai recente date privind prevalența manifestărilor extrahepatice asociate infecției cronice VHC- au definit DZ II ca fiind una dintre cele mai frecvente. Comparând un grup de pacienți VHC cu un grup de pacienți neinfecțați, DZ II a fost prezent în 15 % din cazurile de pacienți VHC și în 10% din pacienții din lotul de control.[201]

În studiul nostru, prevalența DZ II la individul infectat VHC a fost de 16,5%, superioară celei din metaanaliza publicată de Yunosuu și echipa lui în anul 2016.

O altă metaanaliză a evaluat invers, rata prezenței infecției VHC la individul diabetic. Rezultatele au arătat că indivizii diabetici au prezentat un OR de 3,5 ori mai mare de infecție VHC comparativ cu pacientul non-diabetic. [202]

Asocierea DZ la pacientul infectat cronic VHC este relevantă din punct de vedere clinic deoarece crește rata de fibroză, accelerează evoluția către ciroză hepatică și apariția hepatocarcinomului.

Acumularea anormală de grăsime la nivel hepatocitar se asociază frecvent infecției cronice VHC. Este importantă diferențierea între cele doua tipuri principale de steatoză hepatică asociată acestei categorii de pacienți: steatoza „metabolică” vs steatoza „virală”. Steatoza metabolică este identificată în general la individul cu infecție cronică VHC genotip 1 și se asociază cu elementele sindromului metabolic. Prin contrast, steatoza virală este raportată la

pacientul infectat cu genotip 3, în absența cofactorilor steatogeni. Prin mecanism similar, VHC induce insulinorezistență.

Un alt studiu publicat în World J Gastroenterology în 2009 indică VHC ca fiind culpabil pentru rezistența crescută la tratament și promovarea fibrozei prin replicare virală accelerată asociată acumulării lipidice la nivel hepatocitar. [203]

50 de pacienți au prezentat steatoză hepatică (19,2%) dintre cei urmăriți, 35 pacienți în lotul tratat cu regim 3D și 15 pacienți în lotul care a primit tratament cu Led/Sof.Amedeo Lonardo și echipa sa descriu o prevalență a steatozei hepatice la individul cu hepatită virală cronică C de până la 55,54%, superioară celei din populația generală și superioară celei identificate în studiul nostru. [204]

Datele cu privire la efectul DAA asupra regresiei steatozei hepatice sunt limitate.

În ceea ce privește manifestările extrahepatice de tip psihiatric, între pacienții urmăriți au fost identificați 10 (3,8%), inferior celor din alte studii, care au raportat procente de până la 50 % la pacientul infectat VHC. Dintre aceștia, 7 pacienți sub monitorizare și tratament de specialitate pentru sindrom depresiv sever și 3 pacienți cu sindrom anxios și episoade repetate de atac de panică în antecedente. Niciunul dintre ei nu a prezentat episoade de encefalopatie hepatică-actual sau în antecedente.

Navines și colaboratorii au raportat prevalență de 18,2 % a sindromului depresiv la individul infectat VHC- 6,4% sindroame depresive majore, 7 % episoade de anxietate generalizată și 5,8 % atacuri de panică.[206]

Nu trebuie neglijată povara psihologică a unei suferințe cronice semnificative la această categorie. Depresia a fost asociată în mod independent cu dificultatea accesului la tratament, realizându-se astfel un cerc vicios cu infecția virală.

41 pacienți fumători (21,8%) între cei tratați cu O/R/P/+D, 14 din celălalt lot (19,4%). În ceea ce privește comorbiditățile pulmonare, au fost identificați 7 pacienți (2,7%) cu BPOC. Toți pacienții de sex masculin. 1 pacient Gold II, 4 pacienți GOLD III și 2 pacienți Gold IV.

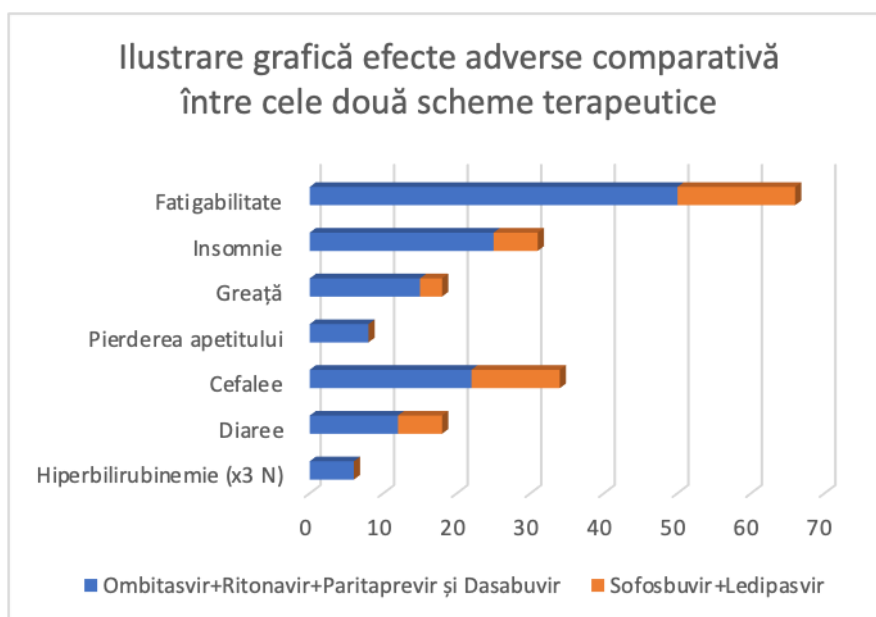
Prevalența identificată în lotul nostru este similară cu cea observată în studii la nivel global, care se situează în jurul procentului de 3 %. Este inferioară celei din studiul lui Silva, care se plasează la 7,5% în rândul pacienților viremici VHC.[208]Toți pacienții din lotul nostru sunt pacienți cu istoric de fumat: 4 pacienți fumători activi și 3 pacienți sevrați.

Proteina core a VHC potentează expresia IL8 la nivelul fibroblastului pulmonar. Pacientul cu BPOC prezintă influx neutrofilic și creșterea producției locale pulmonare de IL8, indiferent dacă pacientul este sau nu viremic VHC.

2.4.3. Efecte adverse medicație antivirală direct

Rezultate și discuții

Studiul de față a indicat siguranță și tolerabilitate excelente pentru ambele regimuri terapeutice, comparativ cu tratamentele anterioare pe baza de Interferon și Ribavirină. Datele au fost obținute prin anamneza, examen clinic, interogare telefonică a pacienților, recoltarea de probe de laborator.



Efecte adverse au fost semnalate la 138 pacienți (50,7%). Cel mai comun a fost fatigabilitatea- 50 pacienți (26,6%) în lotul tratat 3D, 16 pacienți (22,2%) în lotul tratat 2D. 25 pacienți au menționat insomnie (13,2 % în lotul 3D), 6 pacienți (8,3% în lotul 2D). 34 pacienți au acuzat cefalee-22 (11,7% în lotul 3D, 12 pacienți-16,6% în lotul 2D).

Următoarele efecte secundare ca frecvență au fost reprezentate în lotul 3D de acuze gastro-intestinale: 15 pacienți au acuzat greață, 12 pacienți- diaree, 8 pacienți au prezentat pierderea apetitului. În lotul tratat 3D, 6 au acuzat diaree (7,1% 3 pacienți (4%) au acuzat greață. Niciun pacient nu a acuzat pierderea apetitului.

Creșterea bilirubinei s-a remarcat doar în lotul tratat cu regim 3D- 6 pacienți (3,19%), fiind efect de clasă al inhibitorilor proteazici asupra transportorului polipeptidic organic al anionilor 2B1 (OATP2B1). Creșterea bilirubinei a fost însoțită de prurit și s-a remis prin asocierea acidului ursodeoxicolic la tratament. În ceea ce privește insomnia rebelă, au fost recomandate produse pe baza de pasiflora și hamei pentru controlul ei. Efectele adverse au dispărut după terminarea tratamentului antiviral. Observațiile noastre se asociază cu cele din studiul lui Abel-Moneim et al, precum și cu cele din studiul lui Sanai et al. [209,210]. Toți pacienții au prezentat complianță la tratament, nu au existat întreruperi datorate efectelor adverse.

2.4.4. Dinamica fibrozei și a principalilor parametri biochimici post tratament cu antivirale directe. Răspunsul virusologic susținut

Rezultate

În tabelul de mai jos sunt ilustrați markerii non-invazivi de apreciere a stiffness-ului hepatic folosiți în studiul nostru, însoțiți de valorile lor prag.

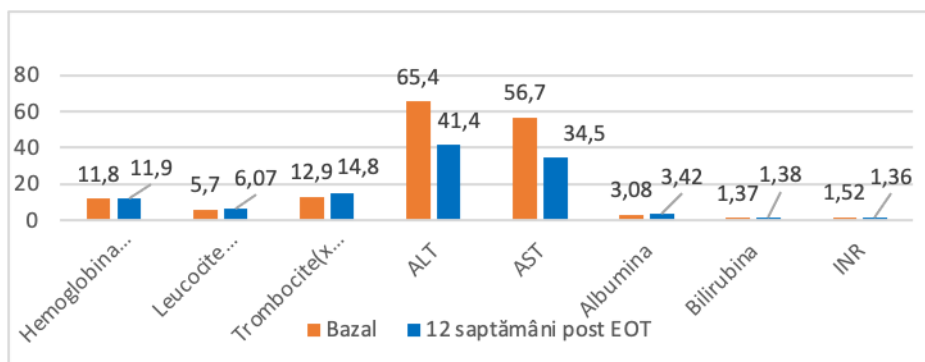
Evaluarea gradului de fibroză

Grad de fibroză	Nr. pacienți	Fibroscan	FIB4	APRI	Fibrotest
F3	95	9,5±1,8	2,42±1	1,1±0,4	0,63±0,4
F4	165	15,7±8,9	3,78±0,8	2,68±0,7	0,79±0,8

Au fost identificați un total de 260 pacienți cu fibroză hepatică avansată, 95 cu F3 și 165 pacienți cu valoare F4 a FibroMax.

Rata de răspuns este de 99,4% în cazul pacienților tratați cu Ombitasvir/Ritonavir/Paritaprevir și Dasabuvir- 187/188 pacienți. În ceea ce privește grupul tratat cu Sofosbuvir/Ledipasvir, 68 dintre cei 72 de pacienți urmăriți au atins RVS (94,4%).

Evoluția principalelor caracteristici biochimice și imunologice

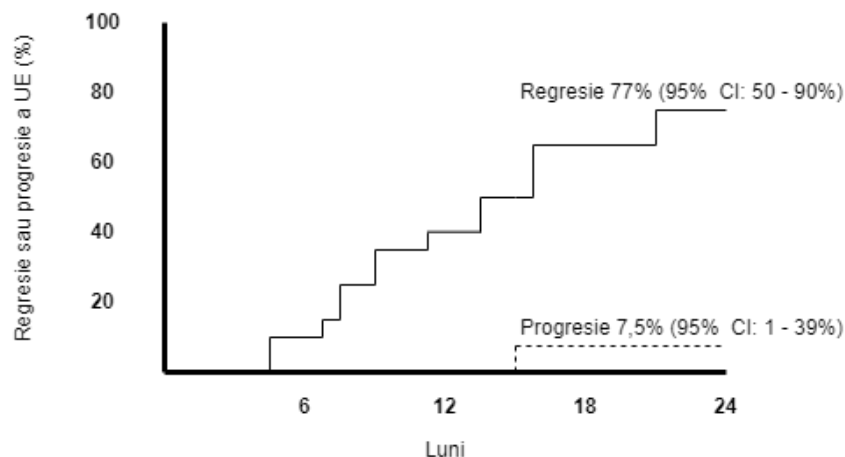


Prin comparație cu nivelul preterapeutic, au fost dovedite: reducerea până la normalizarea a nivelului transaminazelor serice, ameliorarea nivelului albuminei, scăderea bilirubinei totale și ameliorarea semnificativă a valorii trombocitelor. Valoarea medie a INR s-a redus de la 1.52 la 1.36, trăsătură cu semnificație statistică. Valorile leucocitelor și hemoglobinei s-au menținut staționare.

Evoluția Fibrotest, APRI, FIB4 inițial și la 12 luni posttratament

Variabile	Inițiere 260 pacienți	La 12 luni posttratament	P
APRI (%)			
1-2	90 (34,61 %)	82 (27,30%)	
>2	170 (65,38%)	168 (64,61%)	< 0,001
FIB4 (%)			
1,35-3,25	93 (35,76%)	75 (28,84%)	
> 3,25	167 (64,23%)	156 (60%)	<0,001
Fibrotest (%)			
0,68-0,78	95 (36,53%)	76 (29,23%)	
≥0,78	165 (63,46%)	155 (59,61%)	<0,001

În studiul nostru s-a remarcat o scădere a stiffness-ului hepatic la 12 luni post SVR, în special la pacienții cu fibroza F3.



Evoluția gradului varicelor esofagiene în funcție de SVR

De asemenea, s-a observat regresia gradului varicelor esofagiene prin scăderea către o treaptă inferioară la pacienții la care RVS a fost atins, în intervalul 12-18 luni postterapeutic. Cumulat cu corectarea nivelului trombocitelor, pot fi considerate elemente de regresie a hipertensiunii portale.

Asocierea parametrilor clinico-biologici cu lipsa regresiei fibrozei la > 12 luni post SVR

Variabile	OR	95% CI PT OR	P
prezența diabetului zaharat	2.11	1.2478-3.5103	0.01
Prezența varice esofagiene anterior tratamentului	2.31	1.4073-3.467	0.001
Albumina serică < 3g/dl	2.97	1.7099-4.5623	0.0001
Trombocite < 100.000/mmc	3.88	2.4978-5.9873	0.0001
AST/ALT < 0,8	1.71	1.1324-25798	0.03

Analiza multivariativă a relevat ca factorii care se asociază cu non-regresia fibrozei postterapeutic sunt prezența diabetului zaharat, prezența varicelor esofagiene, albuminemie sub 3 g/dl, trombocitopenia < 100.000/mmc și raportul AST/ALT < 0,8.

Discuții

Regresia fibrozei hepatice rămâne una dintre temele fierbinți de studiu și explorare pentru experții în boli hepatice în ultimele decade. Eliminarea VHC prin tratament cu molecule antivirale directe nu eradică complet riscul de apariție a hepatocarcinomului, mai ales în cazul pacienților cu fibroză hepatică avansată și ciroză hepatică. Fibroza hepatică avansată care precede perioada de tratament antiviral este unul dintre cei mai importanți factori predictorii de apariție a HCC post tratament cu antivirale directe.

Ratele de RVS în lotul nostru sunt similare cu cele din literatura de specialitate. Nu au fost observate diferențe semnificative între grupurile de vârstă.

Au fost identificați drept factori de răspuns nefavorabil la tratament: sexul masculin, statusul cirotic, nivelul scăzut al albuminei serice, nivelul seric crescut al albuminei totale, trombocitopenia, antecedentele personale patologice de hepatocarcinom.

Am identificat un număr de 5 pacienți cu eșec terapeutic, 4 dintre ei de sex masculin. Toți pacienții cirofici, neexperimentați la terapii antivirale cu molecule antivirale directe anterioare. Biologic: albumina serică ≤ 3 g/dl, BT $> 1,5$ mg/dl, trombocite $< 100.000/mm^3$. Doi dintre pacienți prezentau istoric de hepatocarcinom embolizat.

Nivelul seric al ALT, în studii populaționale s-a asociat cu creșterea progresivă a riscului de deces de cauză generală și în mod particular de cauză hepatică. Valorile persistente normale ale ALT la pacientul cu HC VHC se asociază cu grade mai reduse de fibroză pe biopsia hepatică.

În studii cross-secționale pe biopsii hepatice, nivelul ALT seric nu s-a corelat cu severitatea fibrozei, dar raportul AST/ALT a fost identificat ca factor predictiv. Un studiu mare desfășurat în Taiwan a demonstrat că creșterea ALT reprezintă un factor de risc cumulativ de hepatocarcinom de 1,7% la nivele serice ≤ 15 UI/L. Acesta a crescut la 4,2% la valori între 15-45 %UI și la 13,8% pentru valorile ALT ≥ 45 UI/L. [214].

Rezultate similare cu cele din studiul nostru privind ameliorarea parametrilor biologici au fost obținute și în studii anterioare. Ele teorie că normalizarea valorilor parametrilor biologici post tratament cu molecule antivirale directe se asociază cu restaurare activității răspunsului imun. Răspunsul imun reactivat poate să realizeze clearance-ul viral rezidual în următoarele săptămâni post tratament. Normalizarea nivelelor parametrilor biochimici, în principal al albuminei serice, vine în sprijinul teoriei conform căreia inflamația intrahepatică are rol

central în reducerea capacității de sinteză a ficatului. Așadar, blocarea inflamației poate conduce la recuperarea funcției hepatice.

Ameliorarea trombocitopeniei, ca marker indirect de hipertensiune portală la pacienții care au atins SVR sugerează posibilitatea regresiei fibrozei hepatice în timp la pacientul cu hepatita virală cronică C care reușește eradicarea virală.

Studiul nostru este în concordanță cu studii precedente real-life care au investigat terapia cu OBT/PTV/DSV și SOF/LDV la pacienții cu infecție cronică VHC și rata de SVR între 86-100%. SVR în grupul nostru de pacienți a fost mai mare comparativ cu studiul spaniol condus de Chamorro-de-Vega, unde 93,8% dintre pacienții cirofici au atins SVR.[216]

Am putut urmări ușor evoluția acestor pacienți din punct de vedere al evoluției fibrozei la 12 luni de la obținerea SVR.

Nivelele scăzute preterapeutic ale ALT și AST indică un procent redus de necroinflamație și prezența fibrozei semnificative. Deoarece un procent dintre pacienți rămân cu fibroscan > 18 Kpa, aceștia sunt expuși în continuare unui risc înalt de dezvoltare a complicațiilor. FIB4 și APRI au dovedit scăderi semnificative post tratamentul cu DAA.

Un studiu recent pe pacienți non-cirofici a raportat scăderea accelerată a APRI și FIB4 începând cu săptămâna 2 și până în săptămâna 12 posttratament.[217]. Un alt studiu a demonstrat scăderea parametrilor elastografici la 18 luni post SVR . [218]

Așadar, observația cu privire la faptul că FIB4 și APRI scad post tratament se poate susține prin reducerea inflamației cronice hepatice și se reflectă din punct de vedere biochimic prin scăderea transaminazelor.

2.4.5. Impactul tratamentului cu molecule antivirale directe asupra crioglobulinemiei mixte asociate VHC

Rezultate

Au fost incluși 24 de pacienți adulți cu CM asociată HCV, investigați în perioada 2016-2019 în care prezintă o vasculită VHC activă, definită prin leziuni vasculitice la nivel cutanat, articular, renal, nervi periferici și/sau cerebral, digestiv, pulmonar și/sau afectare cardiacă (criteriile Chapel Hill 2012). [224,225] De asemenea, au fost incluși 8 pacienți cu crioglobulinemie VHC asimptomatică. Criteriile de excludere au fost vasculita crioglobulinemică nonactivă, HIV sau infecție VHB, ciroza hepatică decompensată.

Evaluarea clinică la includerea în studiu a presupus vârsta, sexul, afectarea neurologică (periferică și/sau centrală), afectare cutanată (fenomen Raynaud, purpură, ulcere distale, necroză tegumentară), artralgi, mialgii, afectarea tranzitului intestinal, afectare renală (proteinurie, hematurie și rată de filtrare glomerulară) și semne clinice de afectare hepatică. Toți pacienții au fost evaluați la 4 săptămâni interval, până în săptămâna 24. Aprecierea activității bolii și a răspunsului terapeutic s-a făcut utilizând Birmingham vasculitis activity score. [226]

Încărcarea virală s-a determinat utilizând Abbot HCV Real Time Assay, cu o limită minimă de detecție de 12 UI/ml. Genotiparea HCV s-a efectuat utilizând secvențialitatea genei NS5b. Evaluarea de laborator a inclus hemoleucograma completă, profil biochimic seric, factor reumatoid, Ig M cantitativ, complement total și fracția C₄, crioglobuline (criocrit peste 1 % la cel puțin 2 determinări și caracterizarea crioprecipitatului prin imunofixare). Crioglobulinele au fost clasificate conform clasificăriiid Brouet [227] ca tip II în prezența Ig M monoclonal și Ig G policlonal și tip III . Fibroza hepatică a fost evaluată noninvaziv. Toți pacienții au îndeplinit criteriile de eligibilitate pentru tratamentul cu DAA: 22 pacienți cu Viekirax/Exviera și 10 pacienți cu Harvoni.

End-point-ul primar a fost remisiunea clinică completă a vasculitei la săptămâna 24. Răspunsul clinic complet a fost definit prin îmbunătățirea funcției tuturor organelor afectate inițial și absența recăderii clinice.

Îmbunătățirea cutanată și articulară a fost evaluată clinic (dispariția purperei și/sau ulcerelor; dispariția artralgiilor sau artritei). Afectarea renală a fost evaluată biologic (proteinurie sub 0,3 g/24h, dispariția hematuriei și îmbunătățirea RFG > 20 % la săptămâna 24, dacă RFG < de 60 ml/min. la inițiere). Îmbunătățirea afectării neurologice periferice a fost apreciată clinic (ameliorarea durerii și paresteziei prin scara vizuală analogică, îmbunătățirea contracției musculare și cea de afectare motorie inițială) și/sau electrofiziologică (îmbunătățirea anomaliilor electromiogrammei la săptămâna 24, comparativ cu aspectul inițial). Neuropathy total symptoms score-6 (NTSS-6) a fost aplicat pentru evaluarea simptomelor neuropatiei senzitive.

Răspunsul clinic parțial a fost definit la 24 săptămâni ca o îmbunătățire a afectării la o parte din organele afectate inițial. Cei fără răspuns clinic la 24 săptămâni au fost definiți ca eșec terapeutic.

Caracteristici bazale la includerea în studiu

Caracteristici bazale	Lot total (n=32)	Pacienți cu vasculită crioglobulinemică (n=24)	Pacienți asimptomatici cu crioglobuline circulante (n=8)	P
Vârsta Ani	58 (38-76)	57 (42-72)	64 (56-76)	0,91
Sex feminin, n (%)	19 (59,3%)	16 (66,6%)	3 (37, 5%)	0,04
Manifestări clinice, n (%)				
Purpură	22 (68,7)			
Artralgi/artrită	9 (28,1)			
Slăbiciune musculară	26 (81,2)			
Polineuropatie	18 (56,2)			
Afectare renală	5 (15,6)			
Sindrom Sicca	3 (9,3)			
Afectare abdominala	2 (6,2)			
Fenomen Raynaud	5 (15,5)			
Parametri virali				
Genotip VHC, n (%)				
1a	3 (9,3)		-	
1b	29 (90,6)		100	
2				
3				
4				
Nivel bazal ARN-VHC IU/mL	860.200 (14600-10.880.000)	910.000 (26.860-10.880.000)	210.800 (14.600-630.000)	0,02
Probe biochimice				
ALT , IU/mL	76 (41-188)	81 (40-191)	76 (41-153)	0,08
PLT x 10 ⁹ /L	178 (108-246)	127 (74-159)	151 (88-176)	0,05
Elastografie tranzitorie, kPa	14 (9,2-30)	19 (11,9-37)	12,8 (8,2-24)	0,01
Parametri imunologici				
Criocrit (%)	2,5 (1,2-5,1)	3,4 (1,7-5,9)	2,3 (0,9-3)	0,04
C4, g/L	0,07 (0,02-0,15)	0,03 (0,02-0,12)	0,10 (0,07-0,19)	0,03
CH 50, IU/mL	15 (11-29)	13 (11-29)	14 (10-25)	0,06
Factor reumatoid, IU/mL	31 (10-118)	96 (10-193)	11 (10-26)	0,01
Tratament, n (%)				

Naive	20	12	8	
Null responder	12	12	0	
Regimuri de tratament DAA folosite, n (%)				
3D	22	12	8	
HARVONI	10	10		
Folosirea Ribavirin, n (%)				
SVR 12	(30/32) 93,7%	(22/24) 91,6 %	(8/8) 100%	0,01
Terapie imunosupresoare, n (%)				
Corticosteroizi		8 (33,3)		
Corticosteroizi+ciclofosfamidă		4 (16,6)		
Plasmafereză		3 (12,5)		
Fibroză hepatică, n (%)				
F ₁	4 (12,6)	2 (8,3)	2 (25%)	
F ₂	5 (15,6)	2 (8,3)	3 (37,5%)	
F ₃	7 (21,8)	5 (20,8)	2 (25%)	
F ₄	16 (50)	15 (62,6)	1 (12,5)	

Anexa 1

Comparând cele 2 loturi se remarcă predominanța sexului feminin în totalul vasculitelor, dar și valori mai scăzute ale C₄ în acest lot (0,03 g/l VS 0,10 g/l cu p=0,05) și valori mai mari ale FR (96 u/ml VS 11 u/ml p=0,01) și criocritului (3,4 % VS 2,3 %).

Principalele manifestări clinice ale vasculitei crioglobulinemice au fost: purpura (68,7 %), artralgii/artrită (28,1 %), stare de slăbiciune (81,2 %), polineuropatie (56,2 %), afectare renală (15,6 %).

Evoluția clinică, biologică și imunologică după tratamentul antiviral

	Vasculită crioglobulinemică n=24			Pacienți asimptomatici n=8		
	Pretratamente	Post tratament	P	Pretratamente	Post tratament	P
SVR		93,7 %			100 %	
Crioglobulină (n, %)	24 (100)	11 (45,8)	0,001	8 (100)	3 (37,5)	0,001
Criocrit (%)	3,4 (1,7-5,9)	0,3 (0-1,5)	0,01	2,3 (0,9-3)	0,1 (0-1,1)	0,01
Reducerea C ₄ (n, %)	20 (83,3%)	5 (20,8 %)	0,001	6 (75 %)	3 (37,5 %)	0,001
Reducerea fracției	0,03 (0,02-	0,14 (0,09-	0,01	0,10 (0,07-0,19)	0,14 (0,07-0,20)	0,02

C ₄ g/l	0,12)	0,19)				
Reducerea activității CH 50 u/ml (n, %)	19 (79,1 %)	8 (33,3 %)	0,001	6 (75 %)	2 (25 %)	0,001
Activitate CH 50 u/ml	13 (11-29)	36 (22-51)	0,01	14 (10-25)	33 (15-47)	0,01
Factor reumatoid pozitiv (n, %)	17 (70,8 %)	11 (45,8 %)	0,001	4 (50 %)	2 (25 %)	0,01
Nivel UI/ml Factor reumatoid	96(10-193)	26 (11-89)	0,01	11 (10-26)	10 (10-14)	0,03
ALT	81 (46-191)	25 (18-30)	0,01	76 (41-153)	21 (16-28)	0,01
Trombocite x 10 ⁹ /l	127 (74-159)	149 (91-210)	0,21	151 (88-186)	152 (90-196)	0,98
GFR ml/min./1,73 m ²	93 (62-93)	94 (65-94)	0,20			
Manifestări clinice (n, %)						
Purpură	22 (68,7)	1 (4,1)	0,01			
Artralgie	9 (28,1)	1 (4,1)	0,01			
Weakness	26 (81,2)	2 (8,3)	0,01			
Polineuropatie	18 (56,2)	6 (25)	0,01			
Afectare neurală	5 (15,6)	1 (4,1)	0,01			
Hematurie	5 (15,6)	1 (4,1)	0,01			
GFR ml/min./1,73 m ²	43 (40-47)	57 (42-61)	0,02			
Proteinurie g/l	1,7 (1,1-2,1)	0,32 (0,1-1,9)	0,62			
BV AS	9 (4-18)	0 (0-5)	0,01			

Din cei 5 pacienți cu afectare renală la care s-a asociat terapie imunosupresoare și plasmă exchange (1 caz), s-a remarcat o remisiune clinică completă în 3 cazuri (60%) care au avut și SVR la 12 săptămâni, cu îmbunătățirea semnificativă a gradului de insuficiență renală (clearance creatinină > 60 ml/min.). La un pacient sindromul nefrotic și clearance-ul de creatinină nu s-au modificat semnificativ, iar la al cincilea pacient s-a remarcat ameliorarea proteinuriei (sub 1g/24 h) și a clearance-ului de creatinină (de la 34 ml/min. la 55 ml/min.)

16 din 18 pacienți cu simptome neurologice au fost evaluați electromiografic, confirmând polineuropatia periferică: 6 cu neuropatie multiplex, 7 cu polineuropatie senzitivă și 3 cu polineuropatie senzitivo-motorie.

Toți cei 5 pacienți cu afectare renală au avut biopsie renală, confirmând glomerulonefrita membrano-proliferativă, 3 dintre aceștia fiind pe tratament cu glucocorticoid plus pulsterapie lunară cu ciclofosamidă, iar ceilalți 2 doar cu tratament glucocorticoid. Plasma exchange a fost efectuată la 3 pacienți, unul cu afectare renală, iar ceilalți 2 cu neuropatie multiplex.

Toți pacienții au avut crioglobuline de tip 2 (Ig G policlonal/Ig M monoclonal). 81,2 % (26 din 32) pacienți au avut o scădere a C₄ și activității CH 50 și toți pacienții cu vasculită au avut factor reumatoid prezent.

Din punct de vedere al SVR la 12 săptămâni de la terminarea tratamentului antiviral, acesta a fost de 91,6 % (22 din 24) pacienți în grupul cu vasculită, față de 100 % în lotul asimptomatic (p=0,01).

Purpura, mialgiile, artralgiile și slăbiciunea musculară s-au remis la 91,7 % din pacienți post SVR, iar din cei 5 pacienți cu afectare renală 4 au obținut remisiune cu rezoluția sindromului nefritic și îmbunătățirea ratei de filtrare glomerulară (43 VS 57 ml/min./1,73 m²). Simptomele neurologice s-au îmbunătățit în 75 % cazuri. 3 pacienți cu sindrom sicca și 2 cu afectare intestinală au fost asimptomatici la sfârșitul perioadei de urmărire. Îmbunătățirea clinică a fost apreciată și prin scăderea BVAS_{vs3} de la o valoare medie inițială de 8 puncte(3-27) la o valoare de 3 puncte (0-11), scădere cu semnificație statistică (p<0.001).

Toți parametrii imunologici s-au îmbunătățit la 12 săptămâni de la sfârșitul tratamentului. Crioglobulinele circulante au devenit nedetectabile în 54,2 % din pacienții cu vasculită și la 62,4 % din grupul pacienților asimptomatici.

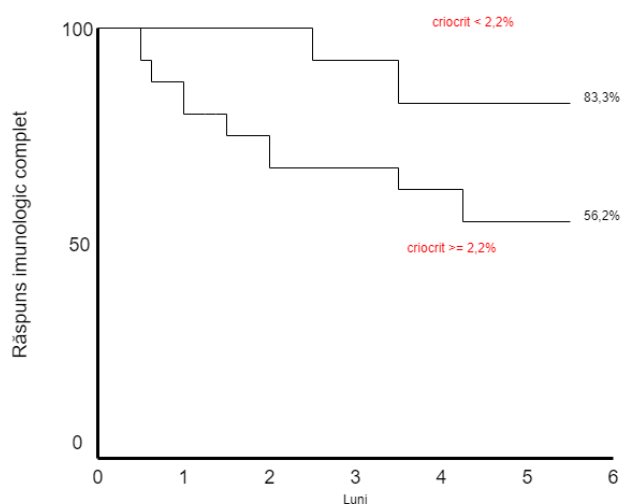
În ceea ce privește normalizarea postterapeutică a CH 50, C₄ și nivelului FR, acesta s-a produs în lotul cu vasculită în proporție de 79,2 %, 66,7 % și respectiv 54,2 %, iar în lotul asimptomatic în proporție de 64,5 %, 75 %, respectiv 75 %.

Majoritatea celor cu răspuns imunologic – 19 pacienți (79,1 %) au prezentat îmbunătățirea tabloului clinic.

Caracteristici de bază asociate cu răspuns imunologic complet

Variabilă	Analiză universală OR (95% CI)	P	Analiză multivariabilă OR (95% CI)	P
F ₁₋₂	0,8 (0,21-1,9)	0,05		
Criocrit < 2,2 %	7,2 (2,8-21)	0,01	9,4 (2,8-38)	0,002
C4 > 0,25 g/l	6,7 (2,3-24)	0,03	8,2 (2,3-31)	0,004
FR < 20 UI/l	1,14 (0,87-1,14)	0,07		
BVAS < 6	3,53 (1,18 -10,59)	0,027	4,68 (2,24-11,43)	0,003

Factorii predictivi ai răspunsului clinic și imunologic, relevați prin logistic regression analysis au fost: nivelul fibrozei, al criocritului, nivelul C4, activitate FR și BVAS v3



Răspunsul imunologic complet în funcție de valoarea criocritului

Discuții

Crioglobulinele mixte circulante sunt detectate la 40-60% din pacienții cu infecție cronică VHC, în timp ce vasculita crioglobulinemică este observată în 15% din cazuri. Prognosticul este variabil și dependent de gradul afectării renale sau de extinderea leziunilor vasculitice.[219, 220]

Pacienții cu forme ușoare sau moderate de glomerulonefrită asociată VHC (funcție renală stabilă și/sau proteinurie non-nefrotică) trebuie tratați cu molecule antivirale directe. La pacienții cu boală renală asociată VHC cu rezistență la terapia DAA trebuie asociată terapie imunosupresoare. S-a evitat utilizarea Sofosbuvirului în tratamentul pacientului cu nefropatie crioglobulinemică atunci când RFG ≤ 30 ml/min, din cauza riscului de acumulare a metabolitului activ GS-331007, care deteriorează funcția renală.

RVS este scopul principal la acești pacienți, deoarece remisiunea clinică a vasculitei se asociază strâns cu clearance-ul viral. Studiile referitoare la terapia cu antivirale directe au arătat o rată de eradicare remarcabilă, de 90% la 100% în funcție de genotipul VHC. [222]

În studiul VASCUVALDIC care a înrolat 24 pacienți cu vasculită crioglobulinemică VHC tratați cu sofosbuvir și ribavirină, răspunsul clinic complet la săptămâna 24 a fost de 87,5 %. [230]

În cazul pacienților noștri, rata de SVR a fost de 91,6 % în cazul pacienților cu vasculită crioglobulinemică și de 100 % pentru pacienții cu crioglobulinemie asimptomatică. Evoluția virusologică favorabilă a fost în paralel cu evoluția favorabilă clinică. Cei cinci pacienți cu afectare renală au fost tratați și cu imunosupresoare (corticosteroizi, ciclofosfamidă).

În aproape toate studiile, o reducere completă sau parțială a simptomatologiei clinice în timpul și după administrarea DAA s-a corelat cu obținerea SVR. Un răspuns clinic complet s-a definit ca o îmbunătățire în toate organele afectate și/sau un scor de activitate vasculitică Birmingham (versiunea 3) de 0. Cea mai bună rată de răspuns s-a demonstrat în studiul prospectiv al lui Saadoun et al [231], în care toți pacienții (nr. 41) au prezentat SVR și un răspuns clinic complet de 90% sau parțial (10%) după 12 sau 24 de săptămâni de Sofosbuvir/daclatasvir. Rezultate similare s-au raportat în studiul lui Gragnani et al [232], în care 93 % din pacienți (nr 41/44) au prezentat un răspuns complet sau parțial al vasculitei, pe fondul unui SVR de 100%. Totuși, studiul lui Sollima et al [233] a arătat că pacienții cu vasculită crioglobulinemică tratați cu DAA și care au obținut SVR pot prezenta persistența simptomatologiei sau pot recădea.

S-a dovedit ca DAA restabilește homeostazia celulelor B și T [234]. Totuși, simptomele clinice ale vasculitei crioglobulinemice se remit cu rate diferite. În studiul nostru purpura s-a redus în 62,6 % din cazuri, artrita/artralgia în 24 % și polineuropatia în 31,2 %. Modificările imunologice și în special nivelul crioglobulinelor după tratamentul antiVHC dictează

persistența activității vasculitice. În studiul nostru criocritul s-a redus de la un nivel de 3,4 (1,7-5,9) pretratament la 0,3 (0-1,5) postratament. Bonacci et al [235] a găsit că un criocrit bazal sub 2,7 % se asociază independent cu un răspuns imunologic complet, definit ca absența crioglobulinelor circulante și normalizarea nivelului de complement și/sau FR. Și în studiul nostru reducerea criocritului sub 2,2 % s-a corelat cu evoluția clinică favorabilă și normalizarea activității complementului. Normalizarea activității complementului s-a observat în 66,7 % din cazuri și s-a însoțit de normalizarea fracțiunii C₄ a complementului în 79,2 % și dispariția FR în 54,2 % din cazuri.

În studiul nostru, cinci pacienți au avut afectare glomerulară documentată histologic, în 60 % din cazuri remarcându-se remisiune clinică și îmbunătățirea semnificativă a clearance-lui de creatinină (> 60 ml/min.), asociind la terapia antivirală glucocorticoizi și ciclofosfamidă, cu menținerea rezultatelor la 12 luni postterapeutic. Acest rezultat indică faptul că inhibarea replicării virale în sine este esențială în inducerea remisiunii clinice a vasculitei crioglobulinemice.

Analiza multivariabilă a caracteristicilor de bază asociate cu răspuns imunologic complet a relevat următorii parametri: criocrit < 2,2 %, C₄> 0,25 g/l și PVAS < 6.

Efectele adverse întâlnite au fost fatigabilitate, insomnie, greață, prurit, iritabilitate la 46,8 % din pacienți. Acestea au fost de intensitate scăzută și nu au necesitat sistarea terapiei antivirale. S-au ameliorat la medicație simptomatică.

În concluzie, terapia antivirală directă interferon-free și ribavirin-free generează un răspuns virusologic în peste 95 % din cazuri la pacienții cu vasculită crioglobulinemică VHC și se asociază cu rate crescute de răspuns clinic complet, răspuns moderat imunologic și rată scăzută de efecte adverse. Studiul relevă importanța inițierii tratamentului antiviral în stadii incipiente ale infecției VHC.

2.4.6. Incidența HCC la pacienții tratați DAA

Rezultate

Toți pacienții urmăriți au avut la includerea în studiu ecografie standard și/sau ecografie cu substanță de contrast, precum și valori normale ale α FP (< 10 mg/ml). Din cei 260 de pacienți tratați și urmăriți aproximativ 30 de luni, un număr de 12 pacienți a dezvoltat HCC (4,6%, incidența 2,3/100 pacienți/an), mai mare decât cea raportată de Pons.[241]

Factori de risc ai dezvoltării hepatocarcinomului

	Pacienți fără HCC 248	Pacienți cu HCC 12		Analiză univariată HR	Analiza multivariată (95%)
Vârsta	42,7±8,8	54,6±9,3	P	1,11 (0,98-1,12)	1,09 (1,00-1,09)
F/B	171/77 (31%)	4/8 (66,6%)	p: 0,03	0,54 (0,14-2,07)	0,46 (0,10-1,87)
Diabet zaharat	35 (4,1%)	8 (66,6%)	NS	4,21 (0,53-31,78)	
ARN-VHC	997,387±317,876	1389,790±401,370	p: 0,02	0,80 (0,22-2,89)	
AgHBs+/antiHBc+	2/4	2/2	p:0,05	0,96 (0,83-1,07)	
ALT u/l	68±31	72±36	NS	1,8 (0-5,2)	
GGT u/l	79±39	116±47	p: 0,02	3,26 (2,1-6,3)	
Bilirubina mg/dl	0,9 (0,4-4,3)	15 (0,4-5,8)	p: 0,030	2,6 (1,6-4,9)	
Albumina	3,8 (2,4-4,1)	3,5 (2,4-4)	p: 0,035	0,89 (0,80-0,98)	0,92 (0,81-1,03)
Tratament cu interferon anterior	50 (20,1)	1 (83%)	p: 0,001	1,06 (0,6-1,96)	
Varice esofagiene/gastrice	141 (56,9%)	11 (91,6%)	p: 0,001	1,02 (0,1-1,9)	
Elastografie (kPa)	14,5±7,1	22,8±9,3	p: 0,001	1,04 (1,01-1,07)	1,03 (1,01-1,07)
APRI	1.23±0.7	1,8±0,9	p: 0,020	1,2 (1,23-1,84)	1,16 (1,07-1,42)

FIB 4	3,1±1,9	5,6±2,2	p: 0,029	1,7 (0,3-3,84)	2,54 (1,04-6,19)
Elastografie postterapie < 18 kPa ≥ 18 kPa	174 (70,1) 74 (29,9)	2 (16,7) 10 (88,3%)	p: 0,001	11 (0,65-4,91)	1,16 (1,02-1,31)
AFP	10,9 (5,9-28)	15,8 (7,9-36)	p: 0,03	1,02 (1,01-1,03)	1,02 (1-1,03)
Child Pugh A	214 (86,2 %)	10 (83,3%)	p: 0,23		
Meld (medie)	6 (6-9)	7 (6-10)	p: 0,12		
Albi score	-2,87	-0,92	p:0,003	1,07	2,35

Se remarcă predominanța masculină în totalul de HCC și o valoare a viremiei superioară comparativ cu lotul fără HCC ($p \leq 0.02$). Fără diferențe semnificative în ceea ce privește infecția VHB ocultă. Sindromul de citoliza și cel bilioexcretor au fost similare în ambele loturi. Valoarea medie a albuminемiei postterapeutic la pacienții fără HCC a fost de 3,8 (2,4-4,1 g/dl) vs 3,5 (2,4-4 g/dl) ($p=0.001$) la cei cu HCC.

Elastografia la 6 luni de la terminarea tratamentului a avut valori mai mari la pacienții care au dezvoltat HCC comparativ cu restul lotului ($22,8 \pm 9,3$ kPa vs $14,5 \pm 7,1$ kPa, $p=0.001$). Majoritatea pacienților care au dezvoltat HCC au avut valori peste 18 kPa. De asemenea, celelalte două teste non-invazive de evaluare a gradului de fibroza hepatică au înregistrat diferențe semnificative statistic.

La momentul diagnosticului, majoritatea pacienților au fost în stadiul precoce BCLC (66,6%), iar restul de 33,3% în stadiul intermediar.

Scorul Meld a fost 7 (5-11), iar din punct de vedere al clasei CHILD 10 pacienți au fost clasa A și 2 pacienți clasa B. Pattern-ul de recurență a fost heterogen. 9 pacienți au dezvoltat creștere intrahepatică cu profil nodular (1 singur nodul 6 pacienți, 2 pacienți câte 2 noduli și un singur pacient noduli multipli). 3 pacienți au dezvoltat HCC de tip infiltrativ. Timpul mediu de apariție al HCC a fost de 16,2 luni.

Din punct de vedere al caracteristicilor clinico-biologice, se remarcă incidența HCC predominant la sexul masculin (66,6%), o funcție de sinteză și o albuminemie afectate- 3,5

g/dl (2,4-4 g/dl) vs 3,8 g/dl (2,4-4,1), o valoare mai mare a α FP (15,8 ng/ml vs 10,9 ng/ml). Clasa Child-Pugh și scorul Meld nu au diferit între cele două loturi.

În analiza univariată, factorii de risc ai apariției HCC au fost sexul masculin, prezența HBsAg/anti HBc, nivelul bilirubinei, nivelul albuminemiei, nivelul α FP, prezența varicelor esofagiene/gastrice, tratamentul anterior cu PegIFN+ribavirina, gradul de fibroză hepatică, nivelul trombocitelor. Analiza multivariată a selectat drept factori de risc independenți pentru apariția HCC sexul masculin, albuminemia, nivelul α FP, gradul de fibroză și numărul de trombocite. Un factor predictiv important relevat de studiul nostru a fost gradul de fibroză, apreciat la 6 luni de la terminarea tratamentului prin elastografie, test APRI și test FIB4. Majoritatea pacienților care au prezentat la elastografie valori ≥ 18 kPa (83,3%) au dezvoltat HCC. La pacienții cu grad de fibroză < 18 kPa avem o reducere a riscului de HCC de 82% (HR: 0,18; 95% CI:0,07-0,61)

α FP se asociază semnificativ cu dezvoltarea HCC, cu o creștere a HR cu 20% pentru fiecare creștere de 2 ng/ml (HR:2,2, CI:1.01-1.42, p=0,036).

Datorită valorii predictive pozitive a albuminemie și bilirubinemiei, ne-am propus să calculăm scorul ALBI. [242] Scorul ALBI se calculează după următoarea formulă: $(\log_{10} \text{bilirubină } [\mu\text{mol/L}] \times 0.66) + (\text{albumină } [\text{g/L}] \times -0.0852)$ și se definește astfel: $\leq -2,6 = \text{grad 1}$, $> -2,6 \leq -1,39 = \text{grad 2}$ și $> -1,39 = \text{grad 3}$.

Discuții

Proteina core VHC joacă un rol central în subexprimarea genelor supresoare tumorale, activează oncogeneza, perturbă apoptoza. Prin formarea speciilor reactive de oxigen și modularea imună, virusul induce modificările epigenetice care generează procesul tumoral, precum hipermetilarea genelor supresoare tumorale și eliberarea propriului micro-ARN. Modificările genetice și epigenetice produse de infecția virală pot preceda SVR și persista pe o perioadă indefinită după SVR. HCC poate apărea chiar și după intervale lungi, de ani, de la atingerea RVS.[256]

Rutlege a demonstrat că riscul anual de dezvoltare a hepatocarcinomului la pacientul care a atins RVS este de 3,57%, comparativ cu cel care nu a atins RVS- de 9,8%. [238] Studiul condus de Huang a arătat un risc de HCC de 3,5 %/an la pacienții cu RVS atins și de 9,1 % la

pacienții nor-RVS. [239] Waziry a demonstrat o rată de apariție de 2,96% / an și de recurență post clearance prin DAA de 12,6%. [240]

Într-un studiu prospectiv pe pacienți infectați VHC riscul anual de apariție a HCC a fost de 0,11% la pacienții cu stiffness ≤ 10 kPa, 2,9% la pacienții cu stiffness 10-15 kPa, 83% la pacienții cu stiffness 20-25 kPa și 14,4% la pacienții cu rigiditate hepatică peste 25 kPa. [258]

Dintre scorurile non-invazive, FIB4 $\geq 3,25$ este un predictor puternic al riscului de apariție a cancerului hepatic, atât la pacientul cirotic, cât și la cel non-cirotic. Pacienții fără ciroză și cu FIB4 $\geq 3,25$ au risc anual de 1,22% de apariție a hepatocarcinomului. Pacienții cu FIB4 $\geq 3,25$ atât înainte cât și după SVR au risc foarte mare, de 2%/an de HCC. Cei cu FIB4 $\leq 3,25$ după atingerea RVS au risc mult mai scăzut. Pacienții fără ciroză și cu FIB4 $< 3,25$ au un risc de 0,2% după SVR, sugerând posibilitatea unei supravegheri mai laxe, la intervale mai mari de timp. [259]

Scoruri multivariabile pentru aprecierea riscului de cancer hepatic la pacientul tratat anti VHC cu antivirale directe au fost dezvoltate. Aceste cumulează elemente multiple: vârsta pacientului, obținerea/nu a RVS, genul, IMC, etnicitatea, genotipul viral, albumina serică, AST, ALT, PLT, INR și hemoglobina. Modelul a arătat că pacienții cu fibroză hepatică avansată care obțin SVR pot avea un risc peste 1% dacă prezintă nivel seric al albuminei și trombocitelor scăzut, raport AST/ALT crescut, sunt de sex masculin sau au vârstă mai avansată. [115]

Riscul anual al HCC la pacienții netratați cu ciroză VHC variază între 3 și 4 %, iar pentru cei cu istoric de HCC tratat prin rezecție chirurgicală sau ablație între 15-20%. Deși terapia antivirală directă pentru VHC a îmbunătățit funcția hepatică la cei cu SVR atins și supraviețuirea la cei cu ciroză și HCC, studii recente au arătat o rată a apariției de novo și a recurenței HCC crescute după terapia DAA. [243, 244, 245]

Studiul nostru relevă faptul că gradul insuficienței hepatice evaluat prin scorul ALBI și gradul de fibroză sunt factori predictivi ai riscului de HCC.

Un studiu recent al lui Villani [246] demonstrează că terapia DAA induce o reducere rapidă a TNF α , IL10 și o creștere a VEGF. În mod particular, IL10 este o molecula imunoreglatoare implicată în procesele inflamatorii din infecția cronică VHC. Pacienții cu HCC de novo/recurență după terapia DAA au nivele crescute de VEGF și angiopoietin-2 (ANGPT2).

Pacienții cu ciroză VHC și HCC de novo prezintă expresie hepatică crescută a AGPT2 înainte de tratamentul cu DAA. De asemenea, în timpul tratamentului cu DAA crește nivelul VEGF. Expresia tumorală și nontumorală a AGPT2 are o relație inversă cu viteza portală și o relație pozitivă cu gradul de fibroză.

Terapia DAA activează angiogeneza mediată de AGPT2 la pacienții cu predispoziție: pacienții cu fibroza hepatică avansată, circulație splanchnică extensivă și alterarea fluxului sanguin intrahepatic și splanchnic. Nu este surprinzător că HCC nu apare sau nu recidivează la pacienții cu varice esofagiene mici și stiffness hepatic < 16 kPa. [247]

Un alt factor important în carcinogeneza acestor pacienți este creșterea volumului grăsimii viscerale, care determină rezistență insulinică, creșterea serică a leptinei și a stresului oxidativ. [251]

În studiul lui Guardino et al., factorii predictivi ai recurenței HCC au fost ineficiența DAA, nivelul ridicat al bilirubinei, nivelul ridicat al α FP și al BMI. [252]

Rolul elastografiei în identificarea pacienților cu risc de HCC a fost identificat în studiul italian al lui Conti [253] care a relevat că o valoare de peste 21,3 kPa și un FIB > 9 se asociază cu dezvoltarea HCC.

Parametrii rezultați din studiul nostru sunt asemănători cu cei din studiul lui Pons M et al., precum și cu cei din studiul lui Charette et al. [254] Comparativ cu rezultatele obținute de Charette, unde pragul de departajare la elastografie hepatică a fost de 10kPa, în lotul nostru pragul semnificativ statistic a fost de 18kPa.

Din punct de vedere imagistic, aspectul infiltrativ s-a asociat cu o evoluție mult mai severă și cu supraviețuirea cea mai redusă. Pacienții cu HCC post terapie DAA necesită supraveghere imagistică (CT în dinamică/IRM) foarte strictă și noi protocoale terapeutice datorită aspectului mult mai agresiv.

Studiul lui Renzulli M et al. a fost efectuat pe 91 pacienți cu HCC post DAA versus lotul comparativ de 94 pacienți cu HCC fără terapie cu antivirale directe. Statusul hepatic a fost apreciat prin FIB4, clasificarea Child-Pugh și scorul Meld. Pacienții din primul lot au fost mai în vârstă, scorul FIB4 ($4,84 \pm 3,53$) a fost mai scăzut în lotul HCC după terapia cu antivirale directe. Frecvența paternelui infiltrativ, a trombozei de venă portă și metastazelor ganglionare regionale a fost semnificativ mai mare în lotul cu HCC post DAA. [256]

De asemenea, valoarea α FP a fost mult mai mare (5.085 ± 11.883 ng/ml). Bolnavii cu HCC post DAA au fost în proporție semnificativ mai mare în stadii avansate conform clasificării BCLC și cu opțiuni terapeutice limitate ($p < 0.05$).

În lotul nostru, vârsta pacienților cu HCC a fost mai avansată, dar gradul de fibroză apreciat prin FIB4 și APRI a fost semnificativ mai mare față de pacienții fără HCC. Tabloul imagistic a fost predominant uni/multinodular, dar o caracteristică a fost invazia micro vasculară în cazul a 8/12 pacienți (66,6%), la cei cu noduli cu diametrul între 10-20 mm.

BIBLIOGRAFIE

- Ioannou GN, Green PK, Beste LA, Mun EJ, Kerr KF, Berry K. Development of models estimating the risk of hepatocellular carcinoma after antiviral treatment for hepatitis C. *J Hepatol.* 2018
- Manuc M, Preda CM, Popescu CP, Baicuș C, Voiosu T, Pop CS, Gheorghe L, Sporea I, Trifan A, Tanțău M, Tanțău A, Ceaușu E, Proca D, Constantinescu I, Ruta SM, Fulger LE, Diculescu M, Oproiu A. New Epidemiologic Data Regarding Hepatitis C Virus Infection in Romania. *J Gastrointestin Liver Dis.* 2017
- White DL, Tavakoli-Tabasi S, Kuzniarek J, Pascua R, Ramsey DJ, El-Serag HB. Higher serum testosterone is associated with increased risk of advanced hepatitis C-related liver disease in males. *Hepatology.* 2012
- Sarkar M, Dodge JL, Greenblatt RM, et al. Reproductive Aging and Hepatic Fibrosis Progression in Human Immunodeficiency Virus/Hepatitis C Virus-Coinfected Women. *Clin Infect Dis.* 2017;65(10):1695-1702. doi:10.1093/cid/cix643
- Poynard T, Bedossa P, Opolon P. Natural history of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. The OBSVIRC, METAVIR, CLINIVIR, and DOSVIRC groups. *Lancet.* 1997 Mar 22
- Adinolfi LE, Zampino R, Restivo L, Lonardo A, Guerrera B, Marrone A, Nascimbeni F, Florio A, Loria P. Chronic hepatitis C virus infection and atherosclerosis: clinical impact and mechanisms. *World J Gastroenterol.* 2014
- Chew KW, Hua L, Bhattacharya D, Butt AA, Bornfleth L, Chung RT, Andersen JW, Currier JS. The effect of hepatitis C virologic clearance on cardiovascular disease biomarkers in human immunodeficiency virus/hepatitis C virus coinfection. *Open Forum Infect Dis.* 2014
- Petta S, Adinolfi LE, Fracanzani AL, Rini F, Caldarella R, Calvaruso V, Cammà C, Ciaccio M, Di Marco V, Grimaudo S, Licata A, Marrone A, Nevola R, Pipitone RM, Pinto A, Rinaldi L, Torres D, Tuttolomondo A, Valenti L, Fargion S, Craxì A. Hepatitis C virus eradication by direct-acting antiviral agents improves carotid atherosclerosis in patients with severe liver fibrosis. *J Hepatol.* 2018 Jul

- Maruyama S, Koda M, Oyake N, Sato H, Fujii Y, Horie Y, Murawaki Y. Myocardial injury in patients with chronic hepatitis C infection. *J Hepatol*. 2013 Jan
- Völzke H, Schwahn C, Wolff B, Mentel R, Robinson DM, Kleine V, Felix SB, John U. Hepatitis B and C virus infection and the risk of atherosclerosis in a general population. *Atherosclerosis*. 2004
- Younossi Z, Park H, Henry L, Adeyemi A, Stepanova M. Extrahepatic Manifestations of Hepatitis C: A Meta-analysis of Prevalence, Quality of Life, and Economic Burden. *Gastroenterology*. 2016 jun
- Adinolfi LE, Jacobson I, Bondin M, Cacoub P. Expert opinion on managing chronic HCV infection in patients with type 2 diabetes mellitus. *Antivir Ther*. 2018
- Lonardo, A.; Adinolfi, L.E.; Petta, S.; Craxì, A.; Loria, P. Hepatitis C and diabetes: The inevitable coincidence? *Expert Rev. Anti-Infect. Ther*. 2009
- Trifan A, Stratina E, Rotaru A, et al. Changes in Liver Steatosis Using Controlled Attenuation Parameter among Patients with Chronic Hepatitis C Infection Treated with Direct-Acting Antivirals Therapy Who Achieved Sustained Virological Response. *Diagnostics (Basel)*. 2022
- Navinés R, Castellví P, Moreno-España J, Gimenez D, Udina M, Cañizares S, Diez-Quevedo C, Valdés M, Solà R, Martín-Santos R. Depressive and anxiety disorders in chronic hepatitis C patients: reliability and validity of the Patient Health Questionnaire. *J Affect Disord*. 2012 May;138(3):343-51
- Silva DR, Stiff J, Cheinquer H, Knorst MM. Prevalence of hepatitis C virus infection in patients with COPD. *Epidemiol Infect*. 2010 Feb;138(2):167-73
- Abdel-Moneim A, Aboud A, Abdel-Gabbar M, Zanaty M, Ramadan M. Retreatment Efficacy of Sofosbuvir/Ombitasvir/Paritaprevir/Ritonavir + Ribavirin for Hepatitis C Virus Genotype 4 Patients. *Dig Dis Sci*. 2018 May;63(5):1341-1347
- Sanai, Faisal & Alghamdi, Abdullah & Afghani, Ahmad & Alswat, Khalid & AlZanbagi, Adnan & Alghamdi, Mosfer & AlMousa, Abdallah & Aseeri, Mohammed & Assiri, Abdullah & Babatin, Mohamed. (2017). High Efficacy of Ombitasvir/Paritaprevir/Ritonavir Plus Dasabuvir in Hepatitis C Genotypes 4 and 1-infected Patients with Severe Chronic Kidney Disease. *Liver International*. 38. 10.1111/liv.13674.

- Hui-ChenWu, Wen-JueiJeng, Mei-HungPan, Yi-Chung Hsieh, Sheng-NanLu, Chien-JenChen, Hwai-I.Yang Incidence of hepatocellular carcinoma in a community-based Taiwanese population without chronic HBV/HCV infection JHEP Reports, Volume 4, Issue 2, February 2022, 100410
- Chamorro-de-Vega E, Gimenez-Manzorro A, Rodriguez-Gonzalez CG, et al. Effectiveness and Safety of Ombitasvir-Paritaprevir/Ritonavir and Dasabuvir With or Without Ribavirin for HCV Genotype 1 Infection for 12 Weeks Under Routine Clinical Practice. *Annals of Pharmacotherapy*. 2016
- Hsu, Wei-Fan, et al. "Rapid decline of noninvasive fibrosis index values in patients with hepatitis C receiving treatment with direct-acting antiviral agents." *BMC gastroenterology* 19.1 (2019): 1-9.
- Bachofner, Jacqueline A., et al. "Direct antiviral agent treatment of chronic hepatitis C results in rapid regression of transient elastography and fibrosis markers fibrosis-4 score and aspartate aminotransferase-platelet ratio index." *Liver International* 37.3 (2017): 369-376.
- Cacoub P, Comarmond C, Domont F, Savy L, Saadoun D. Cryoglobulinemia Vasculitis. *Am J Med*. 2015 Sep;128(9):950-5
- Dammacco F, Sansonno D. Therapy for hepatitis C virus-related cryoglobulinemic vasculitis. *N Engl J Med*. 2013 Sep 12;369(11):1035-45
- Gragnani L, Visentini M, Fognani E, Urraro T, De Santis A, Petracchia L, et al. Prospective study of guideline-tailored therapy with direct-acting antivirals for hepatitis C virus-associated mixed cryoglobulinemia. *Hepatology* 2016; 64(5):1473-82
- **Andreea Frânculescu-Berte**a, Ionel Copaci, Laura Iliescu, Laurentiu Micu Evolution of HCV-Associated Cryoglobulinemic Vasculitis after Treatment with Direct-Acting Antivirals *Surgery, Gastroenterology and Oncology* Vol. 26, Nr. 4, Dec 2021
- Jennette JC, Falk RJ, Bacon PA, Basu N, Cid MC, Ferrario F, et al. 2012 Revised International Chapel Hill Consensus Conference Nomenclature of Vasculitides. *Arthritis Rheum*. 2013;65(1):1-11.
- Mukhtyar C, Lee R, Brown D, Carruthers D, Dasgupta B, Dubey S, et al. Modification and validation of the Birmingham Vasculitis Activity Score (version 3). *Ann Rheum Dis*. 2009;68(12):1827-32.

- Saadoun D, Thibault V, Si Ahmed SN, Alric L, Mallet M, Guillaud C, et al. Sofosbuvir plus ribavirin for hepatitis C virus-associated cryoglobulinaemia vasculitis: VASCUVALDIC STUDY. *Ann Rheum Dis*. 2016;75(10):1777-82
- Saadoun D, Pol S, Ferfar Y, Alric L, Hezode C, Si Ahmed SN, et al. Efficacy and Safety of Sofosbuvir plus Daclatasvir for Treatment of HCV-associated Cryoglobulinemia Vasculitis. *Gastroenterology* 2017;153(1):49-52.
- Gragnani L, Piluso A, Urraro T, Fabbrizzi A, Fognani E, Petracchia L, et al. Virological and Clinical Response to Interferon-Free Regimens in patients with HCV-Related Mixed Cryoglobulinemia: Preliminary Results of a Prospective Pilot Study. *Curr Drug Targets*, 2017;18(7): 772-85.
- Sollima S, Milazzo L, Peri AM, Torre A, Antinori S, Galli M. Persistent mixed cryoglobulinaemia vasculitis despite hepatitis C virus eradication after interferon-free antiviral therapy. *Rheumatology (Oxford)*. 2016;55(11):2084-85
- Comarmond C, Garrido M, Pol S, Desbois AC, Costopoulos M, Le Garff-Tavernier M, et al. Direct-acting antiviral therapy restores immune tolerance to patients with hepatitis C virus-induced cryoglobulinemia vasculitis. *Gastroenterology*. 2017;152(8):2052-62
- Bonacci M, Lens S, Londono MC, Mariño Z, Cid MC, Ramos-Casals M, et al. Virologic, clinical, and immune response outcomes of patients with hepatitis C virus-associated cryoglobulinemia treated with direct-acting antivirals. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2017;15(4): 575-83.
- 238. Rutledge SM, Zheng H, Li DK, Chung RT. No evidence for higher rates of hepatocellular carcinoma after direct-acting antiviral treatment: a meta-analysis. *Hepatoma Res*. 2019;5:31. doi:10.20517/2394-5079.2019.19
- Huang CF, Yu ML. Direct-acting antivirals response in hepatocellular carcinoma: Does the presence of hepatocellular carcinoma matter?. *Clin Mol Hepatol*. 2019;25(2):168-171. doi:10.3350/cmh.2018.1014
- Reem Waziry, Behzad Hajarizadeh, Jason Grebely, Janaki Amin, Matthew Law, Mark Danta, Jacob George, Gregory J. Dore, Hepatocellular carcinoma risk following direct-acting antiviral HCV therapy: A systematic review, meta-analyses, and meta-regression, *Journal of Hepatology*, Volume 67, Issue 6, 2017, Pages 1204-1212

- Pons, Mònica et al. Non-invasive prediction of liver-related events in patients with HCV-associated compensated advanced chronic liver disease after oral antivirals *Journal of Hepatology*, Volume 72, Issue 3, 472 – 480
- Johnson PJ, Berhane S, Kagebayashi C, Satomura S, Teng M, Reeves HL, O'Beirne J, Fox R, Skowronska A, Palmer D, Yeo W, Mo F, Lai P, Iñarrairaegui M, Chan SL, Sangro B, Miksad R, Tada T, Kumada T, Toyoda H. Assessment of liver function in patients with hepatocellular carcinoma: a new evidence-based approach-the ALBI grade. *J Clin Oncol*. 2015 Feb 20;33(6):550-8
- Bruno S, Di Marco V, Iavarone M, Roffi L, Boccaccio V, Crosignani A, Cabibbo G, Rossi S, Calvaruso V, Aghemo A, Giacomelli L, Craxì A, Colombo M, Maisonneuve P. Improved survival of patients with hepatocellular carcinoma and compensated hepatitis C virus-related cirrhosis who attained sustained virological response. *Liver Int*. 2017 Oct;37(10):1526-1534
- Cabibbo G, Petta S, Barbàra M, Missale G, Virdone R, Caturelli E, Piscaglia F, Morisco F, Colecchia A, Farinati F, Giannini E, Trevisani F, Craxì A, Colombo M, Cammà C; ITA.LI.CA study group. A meta-analysis of single HCV-untreated arm of studies evaluating outcomes after curative treatments of HCV-related hepatocellular carcinoma. *Liver Int*. 2017 Aug;37(8):1157-1166
- Pei-Chien TsaiChung-Feng HuangMing-Lung Yu *Journal of Hepatology*, VOLUME 66, ISSUE 2, Unexpected early tumor recurrence in patients with hepatitis C virus-related hepatocellular carcinoma undergoing interferon-free therapy: Issue of the interval between HCC treatment and antiviral therapy, P464, FEBRUARY 01, 2017
- Villani R, Facciorusso A, Bellanti F, et al. DAAs Rapidly Reduce Inflammation but Increase Serum VEGF Level: A Rationale for Tumor Risk during Anti-HCV Treatment. *PLoS One*. 2016;11(12): e0167934. Published 2016 Dec 20. doi:10.1371/journal.pone.0167934
- Faillaci F, Marzi L, Critelli R, Milosa F, Schepis F, Turola E, Andreani S, Vandelli G, Bernabucci V, Lei B, D'Ambrosio F, Bristot L, Cavalletto L, Chemello L, Sighinolfi P, Manni P, Maiorana A, Caporali C, Bianchini M, Marsico M, Turco L, de Maria N, Del Buono M, Todesca P, di Lena L, Romagnoli D, Magistri P, di Benedetto F, Bruno S, Taliani G, Giannelli G, Martinez-Chantar ML, Villa E. Liver Angiopoietin-2 Is a Key

Predictor of De Novo or Recurrent Hepatocellular Cancer After Hepatitis C Virus Direct-Acting Antivirals. *Hepatology*. 2018 Sep;68(3):1010-1024

- Imai K, Takai K, Maeda T, et al. Increased visceral fat volume raises the risk for recurrence of hepatocellular carcinoma after curative treatment. *Oncotarget*. 2018;9(18):14058-14067. Published 2018 Feb 16.
- Guardino M, Di Constanza, GG, Bruzzese D, Sesse A et al, Incidence of HCC, recurrence after DAA treatment for HCV in 2 multicentre italian cohort study, *Liver cancer int* 2020; 1:12-24
- Charette JH, Burak KW, Coffin CS, Congly SE, Lee SS, Israelson H, Williams S, Sadler M, Borman MA, Aspinall AI, Swain MG, Shaheen AA. Evaluating the role of transient elastography post chronic hepatitis C treatment to predict hepatocellular carcinoma. *J Hepatol*. 2020 Nov;73(5):1287-1289
- Paradis V, Dargere D, Bonvoust F, Rubbia-Brandt L, Bâ N, Bioulac-Sage P, Bedossa P. Clonal analysis of micronodules in virus C-induced liver cirrhosis using laser capture microdissection (LCM) and HUMARA assay. *Lab Invest*. 2000 Oct;80(10):1553-9
- Masuzaki R, Tateishi R, Yoshida H, Goto E, Sato T, Ohki T, Imamura J, Goto T, Kanai F, Kato N, Ikeda H, Shiina S, Kawabe T, Omata M. Prospective risk assessment for hepatocellular carcinoma development in patients with chronic hepatitis C by transient elastography. *Hepatology*. 2009 Jun;49(6):1954-61
- Ioannou GN, Beste LA, Green PK, Singal AG, Tapper EB, Waljee AK, Sterling RK, Feld JJ, Kaplan DE, Taddei TH, Berry K. Increased Risk for Hepatocellular Carcinoma Persists Up to 10 Years After HCV Eradication in Patients With Baseline Cirrhosis or High FIB-4 Scores. *Gastroenterology*. 2019 Nov;157(5):1264-1278

Lista cu lucrări științifice publicate

1. Evolution of HCV-associated cryoglobulinemic vasculitis after treatment with direct-acting antivirals **A. Franculescu**, I. Copaci, L. Micu, L. Iliescu; Dept of Internal Medicine, Fundeni Clinical Institute Bucharest. Surg. Gastroenterol. Oncol. 2021;26(4):268-274 DOI: 10.21614/sgo-26-4-373. CiteScore: 0.2

<https://www.sgo-iasgo.com/article/evolution-of-hcv-associated-cryoglobulinemic-vasculitis-after-treatment-with-direct-acting-antivirals>

2. Clinical relevance of probiotic on long-term maintenance therapy outcomes, I. Copaci, G. Constantinescu, L. Micu, **A. Franculescu-Berte**a, Fundeni Clinical Institute, Department of Internal Medicine; Floreasca Emergency Hospital, Department of Gastroenterology. Bucharest, Romania, FALK Symposium, october 5-6, 2018. Poster

3. Efficacy of Rifaximin vs. dietary fiber on symptoms of uncomplicated diverticular disease of the colon, Authors: Ionel Copaci (Corresponding Author), Gabriel Constantinescu, (Co-author), Mariana Mihaila (Co-author), Laurentiu Micu (Co-author), **Andreea Franculescu-Berte**a (Co-author) Surg Gastroenterol.Oncol.2019;24(5):233-240. DOI: 10.21614/sgo-24-5-233. CiteScore: 0.2

<https://www.sgo-iasgo.com/article/efficacy-of-rifaximin-vs-dietary-fiber-on-the-evolution-of-uncomplicated-colonic-diverticular-disease>

4. Improvement of liver steatosis achieved by probiotics in patients with nonalcoholic fatty liver disease; Authors: I. Copaci, **A. Franculescu**, L. Micu, G. Chiriac, M. Mihaila, E.L. Iliescu, Journal of Hepatology 68:S585 · April 2018. CiteScore: 25.08

https://www.researchgate.net/publication/324699559_Improvement_of_liver_steatosis_achieved_byprobiotics_in_patients_with_nonalcoholic_fatty_liver_disease

5. A case of esophagogastric cancer: The great masquerader, **Andreea Frânculescu-Berte**a, Ionel Copaci, Elena Laura Iliescu, Elena Simona Ioanițescu, Fundeni Clinical Institute, “Carol Davila” University of Medicine and Pharmacy, Department of Internal Medicine, Bucharest, Romania. E poster